

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Regulacja komórek macierzystych włosa w czasie jego cyklu regeneracyjnego.”

2. Czas trwania projektu: 01.04.2017 – 01.04.2022

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): komórki macierzyste, BMP, WNT,

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): A

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Komórki macierzyste włosa (hfSCs, ang. *hair follicle stem cells*), zlokalizowane w uwypukleniu każdego mieszka włosowego, zaangażowane są w proces regeneracji włosów oraz gojenia się ran, a ich nieprawidłowe funkcjonowanie może spowodować m.in. łysienie lub prowadzić do powstawania nowotworów skóry.

Skóra myszy i znajdujące się w niej mieszki włosowe ulegające samoodnawianiu, stanowią idealny model do badania mechanizmów regulacji proliferacji oraz różnicowania komórek macierzystych w ich niszy. Nasze poprzednie badania pozwoliły wykazać, że aktywność hfSC w mieszkach włosowych kontrolowana jest przez dwie współzawodniczące ścieżki sygnałowe: BMP (ang. *Bone Morphogenetic Protein*) i WNT (ang. *Wingless-type MMTV integration site family*). Nadrzędnym celem proponowanych przez nas badań jest zrozumienie w jaki sposób cykl regeneracji włosa jest regulowany przez obie te ścieżki na poziomie molekularnym. W tym celu będziemy specyficznym hamować bądź aktywować wybrane komponenty ścieżek sygnałowych BMP i WNT w skórze myszy genetycznie zmodyfikowanych. Do warunkowej kontroli ekspresji genów będzie dochodziło tylko w komórkach macierzystych włosa i komórkach warstwy podstawnej naskórka a uzyskane fenotypy będą nieszkodliwe. Aby ograniczyć stres i cierpienie zwierząt, procedury i czynności zostały zaplanowane tak, aby ich stopień dotkliwości był umiarkowany (golenie skóry grzbietu za pomocą trymera; podawanie różnych substancji w karmie lub poprzez aplikację na skórę bez konieczności

głębokiego usypiania czy iniekcji, nie dłużej jak 14 dni).

Celem naszego projektu są badania podstawowe a uzyskane przez nas wyniki mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia procesu regeneracji skóry, jak również patogenetyzacji wielu chorób skóry czy nowotworów skóry. Mogą one również mieć znaczenie dla opracowania nowych terapii z zastosowaniem komórek macierzystych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu zostaną wykorzystane myszy genetycznie zmodyfikowane, zawierające systemy do tkankowo-specyficznej, warunkowej dezaktywacji lub aktywacji wybranych genów szlaków sygnałowych BMP/WNT, jak również białka reporterowe GFP (*ang. green fluorescent protein*) lub YFP (*ang. yellow fluorescent protein*) pod kontrolą tkankowo-specyficznych promotorów K14 lub K15. Tło genetyczne myszy to FVB1/CD1 lub C57BL6/CD1/FVB1, 8 różnych linii genetycznie zmodyfikowanych. Łączna liczba planowanych myszy w dwóch zadaniach badawczych to 774 samce.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono istniejący stan wiedzy w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: MEDLINE (via Pubmed), Web of Science. Wykorzystano słowa kluczowe: BMP/WNT signaling, hair follicle stem cells and mouse model. Na podstawie informacji zawartych w istniejącej literaturze stwierdzamy, że funkcja ścieżek sygnalizacyjnych BMP i WNT w cyklu regeneracyjnym włosa została zidentyfikowana, jednakże rola poszczególne komponentów molekularnych tych ścieżek nie została dokładnie scharakteryzowana w układzie *in vivo*. *Skóra myszy i znajdujące się w niej mieszki włosowe z rezerwuarem komórek macierzystych stanowi najbardziej optymalny model do przeprowadzenia tych badań. Z powodu wysokiego stopnia złożoności budowy mieszków włosowych ssaków i warunków panujących w niszy komórek macierzystych, nie jest możliwe zastąpienie żywych organizmów hodowlą komórkową *in vitro*.*

Zasadę 3R wprowadzimy do naszego projektu w następujący sposób:

Zastąpienie: Hodowla komórek *in vitro* jest jedną z możliwości zastąpienia wykorzystania żywych zwierząt w projekcie. Z powodu stopnia złożoności budowy i warunków panujących w niszy komórek macierzystych w mieszkach włosowych, nie jest możliwe zastąpienie żywych organizmów hodowlą komórkową *in vitro*. Organizmy bezkręgowce o mniejszym stopniu czułości i świadomości także nie odzwierciedlają realnych przemian biochemicznych zachodzących w skórze ssaków. Aby ograniczyć stres i cierpienie zwierząt wykorzystanych w eksperymencie, procedury i czynności zostały dobrane tak, aby ich stopień dotkliwości był jak najmniejszy (podawanie - w karmie lub poprzez aplikację na skórę bez konieczności usypiania czy iniekcji - substancji indukujących aktywację lub dezaktywację ekspresji wybranych genów).

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Redukcja: Podjęto kilka kroków mających na celu zminimalizowanie ilości zwierząt wykorzystanych w projekcie. Hodowla będzie prowadzona przez wykwalifikowaną i doświadczoną osobę w taki sposób aby otrzymać potrzebną liczbę osobników o pożądanym genotypie w optymalny sposób. Procedurom zostaną poddane samce, samice będą wykorzystywane do rozrodu. Planujemy również pobierać tkanki oraz narządy od zwierząt użytych w eksperymencie do innych badań prowadzonych przez nasz zespół. Planowana liczba zwierząt jest wystarczająca aby dostarczyć wiarygodnych wyników, które pozwolą na rzetelną analizę statystyczną. Zmniejszenie liczby zwierząt w grupach wiąże się z ryzykiem otrzymania zbyt małej ilości materiału biologicznego tj. komórek macierzystych włosów, które stanowią zaledwie niewielki ułamek wszystkich komórek skóry, co nie pozwoliłoby na przeprowadzenie rzetelnej analizy wyników.

Doskonalenie: Wykorzystane przez nas procedury nie powodują dotkliwego bólu u myszy. Osoby biorące udział w projekcie przeszły odpowiednie szkolenie z zakresu opieki nad zwierzętami i przeprowadzania procedur, posiadają one również co najmniej dwuletni staż pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi.