

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektuBadanie wpływu oksygenazy hemowej-1 i mikro-RNA-378 na rozwój kardiomiopatii w mysim modelu dystrofii mięśniowej Duchenne'a
2. Czas trwania projektu48 miesięcy
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) ...kardiomiopatia, dystrofia mięśniowa Duchenne'a, mdx
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) A. Badania podstawowe

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.

DMD to nieuleczalna jak dotąd choroba genetyczna związana z brakiem funkcjonalnego białka dystrofiny. Postępujący zanik mięśni i niewydolność sercowo-oddechowa są przyczyną śmierci chorych w młodym wieku. Rozwój choroby wiąże się z występowaniem kardiomiopatii już na wczesnych jej etapach, stąd niezwykle istotne jest poznanie mechanizmów odpowiedzialnych za upośledzenie funkcjonowania kardiomiocytów pozbawionych dystrofiny. Zaburzenia pracy serca w DMD mogą być modulowane przez czynniki wpływające na stan zapalny, angiogenezę, zwłóknienie i metabolizm, takie jak oksygenaza hemowa-1 (HO-1, kodowana przez gen *HMOX1*) czy mikro-RNA-378 (miR-378).

W myszach *mdx*, w przeciwieństwie do osób z DMD, kardiomiopatia rozwija się dopiero w bardzo późnym wieku. W przypadku młodszych myszy możliwe jest jednak wywołanie kardiomiopatii poprzez trening fizyczny. Protokół indukcji kardiomiopatii został zoptymalizowany i zweryfikowany na myszach *mdx*. Ustalony schemat ćwiczeń został zaprojektowany tak, aby spowodować minimalne uszkodzenie serca, jednocześnie umiarkowanie zwiększając obciążenie serca w celu stopniowego postępu kardiomiopatii.

Celem projektu jest zbadanie wpływu oksygenazy hemowej-1 (HO-1, kodowana przez gen *HMOX1*) i mikro-RNA-378 (miR-378) na rozwój kardiomiopatii w mysim modelu dystrofii mięśniowej Duchenne'a, myszach *mdx*. Wyniki te przyczynią się do lepszego zrozumienia patogenezy DMD, a tym samym mogą mieć potencjalne znaczenie praktyczne.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek zwierząt - Mysz domowa (*Mus musculus*)

Liczba zwierząt - 144

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Zastosowanie zasad 3R:

Replace (zastąpienie): zaplanowane badania nie mogą zostać przeprowadzone poza żywym organizmem; W celu zbadania mechanizmów kardiomiopatii w dystrofii mięśniowej Duchenne’a (DMD) konieczne jest użycie modelu zwierzęcego. Myszy *mdx*, posiadające mutację w genie dystrofiny, są podstawowym modelem patogenezы DMD, stosowanym rutynowo w tego typu badaniach.

Reduce (ograniczenie): liczba zwierząt została ograniczona do minimalnej liczby potrzebnej do uzyskania statystycznie istotnych wyników. Planuje się wykorzystanie po 24 myszy na grupę (w przypadku grupy badawczej, poddanej treningowi na bieżni) i po 12 myszy kontrolnych na grupę— liczebność grup ustalono w oparciu o wcześniejsze doświadczenie i szacunki statystyczne.

Taka analiza i liczebność grup pozwoli na rzetelne określenie potencjalnych zmian związanych z wywołaną kardiomiopatią i umożliwi przeprowadzenie dalszej, kompleksowej analizы (analizы biochemiczne, histologiczne i immunohistochemiczne). Zaplanowano analizы na kilku poziomach – na poziomie organizmu, tkanek oraz na poziomie molekularnym. Kompleksowe podejście do badań pozwala na maksymalizację danych uzyskiwanych z każdego zwierzęcia. Łącznie do przeprowadzenia tego doświadczenia wykorzystamy 144 myszy (samców).

Refine (udoskonalenie): wykorzystywane zwierzęta są utrzymywane w warunkach SPF, w wentylowanych klatkach, a metody badawcze zastosowane w procedurach zostały wybrane tak, aby ograniczały do minimum albo eliminowały ból i cierpienie.

Materiał od zwierząt (krew obwodowa oraz narządy) będzie wykorzystany do szeregu analiz, takich jak analizы biochemiczne, analizы histologiczne i immunohistochemiczne oraz analizы ekspresji genów i białek. Tkanki będą również udostępniane innym badaczom. Badania pobranego materiału będą wykonane nowoczesnymi metodami (analizы transkryptomu metodą sekwencjonowania nowej generacji, sortowanie komórek pierwotnych, analizы cytometryczne).

Wykorzystane zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla myszy, a metody badawcze zastosowane w procedurach zostały wybrane tak, aby ograniczyć do minimum ból i stres zwierząt. Myszy będą przetrzymywane w grupach po max. 5 osobników w klatce. Zwierzęta będą miały kontakt wzrokowy, a do wszystkich klatek wprowadzone zostaną wzbogacenia w różnej postaci – np. materiał gniazdowy, drewniane klocki (wcześniej wysterylizowane) w celu urozmaicenia środowiska życia zwierząt.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☒ NIE