

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł: „**Niskocząsteczkowe modulatory epigenetyczne jako aktywatory pluripotencji dla potrzeb medycyny regeneracyjnej.**”

2. Czas trwania projektu 36 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) zawał serca/MRI/ekspresja genów/komórki macierzyste

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.

W medycynie regeneracyjnej wykorzystywane są różne rodzaje komórek macierzystych m.in. mioblasty, będące prekursorami komórek pochodzenia miogenego. Posiadają one wiele zalet, jednak głównym problemem związanym z ich zastosowaniem w regeneracji nieodwracalnie uszkodzonego miokardium jest ich niepełna synchronizacja elektrofizjologiczna jak i strukturalna z kardiomiocytami biorczymi.

Celem planowanego doświadczenia jest opracowanie wydajnej terapii komórkowej dla regeneracji pozawałowego mięśnia sercowego. Planuje się zbadanie elektrofizjologii serca po wszczepieniu: ludzkich mioblastów natywnych, mioblastów wykazujących ekspresję koneksyny 43, jak również kardiomiocytów pozyskanych z komórek iPSC, do pozawałowego mięśnia sercowego sztucznie immunokompromisowanych szczurów laboratoryjnych Wistar oraz myszy NOD-Scid.

Myszy i szczury w grupach z indukowanym zawałem oceniane będą wobec terapii genetycznie modyfikowanymi mioblastami ludzkimi, mioblastami natywnymi oraz kardiomiocytami pochodzącymi z komórek iPSC.

Planuje się wykonanie następujących badań:

- 1) Badanie echokardiograficzne serca (ECHO)
- 2) Ocena czynników diagnostycznych pozawałowego serca zawartych surowicy
- 3) Wywołanie zawału serca u zwierząt
- 4) Iniekcje intramiokardialne komórek
- 5) Obrazowanie optyczne na poziomie molekularnym:
- 6) Diagnozowanie zaburzeń rytmu w sercu za pomocą nadajników telemetrycznych implantowanych podskórnice
- 7) Obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego (MRI)
- 8) Indukcję zaburzeń rytmu w sercu za pomocą kardiostymulatora

Zastosowane nadajniki telemetryczne posłużą do sprawdzenia, czy zastosowana modyfikacja genetyczna niweluje zjawisko występowania wtórnych, dodatkowych zaburzeń rytmu w pozawałowym sercu.

Planuje się wykonywanie badań molekularnych (pomiar ekspresji na poziomie mRNA oraz na poziomie białka) na eksplantowanych sercach oraz na surowicy pozyskanej z krwi zwierząt.

Przewidywane szkody u wykorzystywanych zwierząt: Przewidywanymi szkodami jest dyskomfort podczas wykonywanych testów (anestezja, iniekcja leku) oraz ból wynikający z gojenia się rany pooperacyjnej.

Uzyskanie danych z projektu pozwoli na poszerzenie wiedzy: z zakresu regeneracji uszkodzonego mięśnia sercowego po zawale, z obrazowania molekularnego, dzięki któremu będzie możliwa obserwacja miejsca i czasu zasiedlenia komórek macierzystych w sercu.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Maksymalnie 100 myszy NOD-Scid.

Maksymalnie 160 szczurów rasy Wistar.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasada Zastąpienia: Ze względów etycznych niemożliwe jest wykonanie badań dotyczących regeneracji pozawałowego mięśnia sercowego za pomocą komórek macierzystych bez przeprowadzenia badań przedklinicznych, które wykonuje się na zwierzętach. W projekcie planuje się zbadanie regeneracji serca po zawale na modelach mysim i szczurzym, które doskonale znoszą warunki zaplanowanych doświadczeń.

Zasada Ograniczenia: W planowanych przez nas doświadczeniach liczba zwierząt została ograniczona do minimum. Dalsza minimalizacja grup spowodowałaby, iż pomiary stałyby się statystycznie mało znaczące.

Zasada Udoskonalania: Zwierzęta będą utrzymywane w pomieszczeniach spełniających wysokie standardy jakości (podział na część brudną i czystą), wszystkie procedury będą przeprowadzone w warunkach sterylnych (operacje na stole, który zaopatrzony jest w lampę UV używaną do sterylizacji, zarówno przed wykonywaniem operacji, jak i po ich zakończeniu). Przez cały czas trwania doświadczeń zwierzęta będą przetrzymywane w indywidualnie wentylowanych klatkach wzbogaconych w papierowe dodatki. Osoby mające kontakt ze zwierzętami odbyły wymagane szkolenia z zakresu pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi.

Wszystkie czynności będą wykonywane wg. zasad dobrej praktyki laboratoryjnej.

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