

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Zastosowanie mezenchymalnych komórek macierzystych we wspomaganie regeneracji mięśni szkieletowych

2. Czas trwania projektu **04.07.2018 – 04.11.2020r.**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) miogeneza, komórki macierzyste, różnicowanie, regeneracja

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.

Regeneracja mięśni szkieletowych jest złożonym procesem, podczas którego dochodzi do degeneracji uszkodzonej tkanki, a następnie jej rekonstrukcji. Za odbudowę uszkodzonej tkanki odpowiedzialne są komórki satelitowe, czyli komórki macierzyste obecne w mięśniach dorosłych organizmów. W wyniku urazu w tkance pojawiają się białka, które aktywują komórki satelitowe, a te dzielą się, różnicują i odbudowują włókna mięśniowe. Jednakże w proces regeneracji mięśni zaangażowanych jest również wiele innych typów komórek, takich jak komórki nerwowe (odbudowa połączeń nerwowo-mięśniowych), komórki stanu zapalnego (fagocytoza zniszczonych włókien), komórki śródbłonna (odtworzenie naczyń krwionośnych). Z tego powodu nie ma dostępnych alternatywnych metod badania procesu regeneracji mięśni szkieletowych. Celem naukowym badań jest opracowanie metod wspomagających regenerację

tkanki mięśniowej, która jest zaburzona w przypadku rozległych uszkodzeń, chorób mięśniowych (dystrofie), cukrzycy, czy też chorób nowotworowych. Celem merytorycznym projektu jest ocena zdolności indukowanych mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC) do wspomagania regeneracji mięśni szkieletowych. Z komórkami tymi wiąże duże nadzieje medycyna regeneracyjna, ze względu na stosunkowo łatwą metodę ich izolowania z tkanek dorosłych organizmów i hodowli in vitro.

W niniejszym projekcie stawiamy hipotezę, że indukowane MSC przeszczepione do uszkodzonych mięśni będą bardziej efektywnie uczestniczyć w rekonstrukcji tkanki, co doprowadzi do poprawy regeneracji mięśni i funkcjonalności. Założono, że komórki takie bardziej wydajnie uczestniczyłyby w naprawie uszkodzonej tkanki. Hipoteza będzie weryfikowana poprzez analizę regeneracji mięśni myszy, do których przeszczepiono komórki macierzyste.

Po transplantacji komórek macierzystych niezwykle rzadko występują powikłania u operowanych zwierząt i związane są one z trudnością w poruszaniu się. Opisane komplikacje występują sporadycznie. Korzyści z przeprowadzonych doświadczeń polegają na uzyskaniu wiedzy na temat możliwości zastosowania komórek macierzystych w terapii uszkodzeń mięśni, a także chorób mięśniowych na przykład dystrofii. Zakładamy, że przeszczepione komórki będą wydajnie uczestniczyły w naprawie mięśni. Jest to zatem etap niezbędny przy opracowywaniu potencjalnych terapii komórkowych w przypadku chorób mięśni.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W opisanym doświadczeniu zaplanowałam wykorzystanie 144 myszy szczepu NOD.Cg-Prkdc/scidIL2ry (NSG). Będą to 3-4 miesięczne samce.

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Przed zaplanowaniem doświadczenia sprawdzono aktualny stan wiedzy i możliwości zastosowania komórek macierzystych we wspomaganiu regeneracji mięśni szkieletowych. Wykorzystano bazy PubMed i GoogleScholar używając słów kluczowych: hypoxia, mesenchymal stem cells, muscle fiber, muscle regeneration, myogenesis, myogenic differentiation, Notch signaling, satellite cells, stem cells.

Regeneracja mięśni szkieletowych przebiega dzięki obecności związanych z włóknami mięśniowymi unipotentnych komórek macierzystych, nazywanych komórkami satelitowymi. W uszkodzonych mięśniach komórki satelitowe są aktywowane, to znaczy wznawiają swój cykl komórkowy pod wpływem czynników produkowanych przez komórki stanu zapalnego, komórki śródbłonna naczyń, a także uwalnianych przez uszkodzone włókna i macierz zewnątrzkomórkową. Aktywowane komórki satelitowe dzielą się i różnicują w mioblasty, które fuzją tworzą miotuby, a następnie włókna mięśniowe. W ten sposób uszkodzona tkanka zostaje zrekonstruowana. W przypadku nieprawidłowej regeneracji tkanki mięśniowej, która ma miejsce w przypadku dystrofii, rozległych uszkodzeń, cukrzycy, chorób nowotworowych, a także która towarzyszy procesowi starzenia, mięsień zastępowany jest przez tkankę łączną. Jednym ze sposobów wspomagania regeneracji mięśni jest terapia komórkowa z zastosowaniem komórek macierzystych. Do komórek takich należą między innymi mezenchymalne komórki macierzyste. Komórki te mogą być stosunkowo łatwo uzyskiwane z dorosłych organizmów i hodowane w warunkach in vitro, z ich zastosowaniem w medycynie regeneracyjnej wiązane są zatem duże nadzieje.

Zaburzenia regeneracji mięśni szkieletowych mają miejsce w przebiegu wielu chorób takich jak cukrzyca, liczne nowotwory, miopatie w tym dystrofie oraz rozległe uszkodzenia tkanki. Przeszczepianie komórek macierzystych jest jedną z potencjalnych form terapii. Mezenchymalne komórki macierzyste mogą wspomagać regenerację tkanek na dwa sposoby, po pierwsze działając parakrynnie, po drugie uczestnicząc w rekonstrukcji tkanek. Celem niniejszego projektu jest ocena możliwości zastosowania indukowanych mezenchymalnych komórek macierzystych we wspomaganiu regeneracji uszkodzonych mięśni szkieletowych. Ze względu na złożoność regeneracji tkanki mięśniowej, udziału w tym procesie komórek mięśniowych, nerwowych, stanu zapalnego, szeregu cytokin, czynników wzrostu, białek macierzy zewnątrzkomórkowej nie ma modelu in vitro pozwalającego na ocenę, czy analizowane komórki macierzyste mają zdolność do uczestniczenia w rekonstrukcji tkanki. Jest to zatem etap niezbędny przy opracowywaniu potencjalnych terapii komórkowych w przypadku szeregu chorób, w tym dystrofii mięśniowej. Zastosowana metoda uszkodzania mięśni pozwala na odtworzenie procesów towarzyszących regeneracji mięśnia m.in. uszkodzenia naczyń krwionośnych, nerwów, niedotlenienia i napływu komórek stanu zapalnego. Planowane badania wymagają więc uszkodzania mięśni oraz uśmiercania zwierząt i pobierania komórek. Nie ma alternatywnego modelu umożliwiającego badanie tego złożonego procesu. Zatem nie można zastosować metody badawczej zapewniającej osiągnięcie określonych celów bez wykorzystania zwierząt (zasada zastąpienia).

Wszystkie doświadczenia zostały zaplanowane tak aby zminimalizować liczbę wykorzystanych zwierząt. Wszystkie doświadczenia mające na celu zweryfikowanie potencjału miogenicznego komórek, metod indukcji tego różnicowania zostały prowadzone in vitro. Pozwoliło to na zminimalizowanie liczby zwierząt wykorzystanych w doświadczeniach. Zatem liczba wykorzystywanych w nich zwierząt została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia określonych celów (zasada ograniczenia).

Doświadczenia będą wykonywane przez osoby z wieloletnim doświadczeniem w pracy ze zwierzętami, które będą dbały o ich dobrostan. W trakcie zabiegu zastosowane zostaną środki znieczulające i przeciwbólowe co pozwoli na ograniczenie bólu i cierpienia zwierząt. Wykorzystywane zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku. Wszystkie planowane metody badawcze zostały wybrane tak, aby ograniczały do minimum ból, cierpienie, dystres lub możliwość trwałego uszkodzenia organizmu zwierząt (zasada udoskonalenia).

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

☐ ~~TAK – na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy~~ ☐

~~TAK – na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy~~

**X NIE**

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.