

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: „Badanie efektywności terapeutycznej hodowanych i różnicowanych na modyfikowanych podłożach grafenowych mezenchymalnych komórek macierzystych oraz pochodzących z nich pęcherzyków zewnątrzkomórkowych w mysim modelu niedokrwiennego uszkodzenia kończyny”

2.Czas trwania projektu: 12 miesięcy

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): Mezenchymalne komórki macierzyste (MSCs), pęcherzyki zewnątrzkomórkowe (EVs), redukowany tlenek grafenu, neowaskularyzacja, niedokrwienne uszkodzenie kończyny

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.

Mezenchymalne komórki macierzyste (MSCs) ze względu na swój wysoki potencjał do różnicowania są jednym z najczęściej wykorzystywanych rodzajów komórek w regeneracji tkanek. Dodatkowo, wydzielane przez nie pęcherzyki zewnątrzkomórkowe (EVs), przenoszące bioaktywne cząsteczki (białka, mRNA, miRNA), mogą wzmacniać ich aktywność parakrynną, jednocześnie stanowiąc alternatywę dla przeszczepów komórkowych. Jednym z czynników indukujących proces różnicowania jest podłoże hodowlane. Dlatego, wykorzystanie innowacyjnych podłoży opartych o grafen i jego pochodne może prowadzić do zwiększenia potencjału regeneracyjnego MSCs.

Głównym celem planowanych badań jest ocena potencjału regeneracyjnego ludzkich MSCs hodowanych oraz różnicowanych na standardowym podłożu hodowlanym (TCPS) oraz na podłożu grafenowym (rGO). Dodatkowo oceniona zostanie efektywność wydzielanych przez te komórki EVs, w regeneracji uszkodzonych tkanek. W tym celu planowane jest wykorzystanie mysiego modelu niedokrwiennego uszkodzenia kończyny.

W celu oceny stopnia ukrwienia uszkodzonych obszarów po zabiegu w 1, 7, 14, 21, 28 dniu, wykonane zostanie badanie przepływu krwi przy użyciu systemu Laser Doppler. Po zakończeniu eksperymentu, zostaną pobrane tkanki do oceny stopnia ich regeneracji poprzez utworzenie nowych naczyń krwionośnych.

Przeprowadzenie eksperymentu przyczyni się do poszerzenia wiedzy w zakresie regulacji i modulacji potencjału regeneracyjnego MSCs za pomocą nowatorskich podłoży hodowlanych opartych o rGO. Planowane doświadczenie pozwoliłoby również lepiej zrozumieć aktywność parakrynną EVs produkowanych przez MSCs oraz potencjalne możliwości jej modyfikacji, za pomocą stymulacji komórek podłożem hodowlanym. Dodatkowo, nowatorskie badania z wykorzystaniem rGO jako potencjalnego materiału indukującego procesy angiogenne może w przyszłości posłużyć do opracowania nowych protokołów przygotowania komórek dla zastosowań terapeutycznych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa, 90 sztuk.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przed zaplanowaniem doświadczenia, mającego na celu zbadanie wpływu podłoży grafenowych na potencjał proangiogeny mezenchymalnych komórek macierzystych, wykonano rozeznanie w piśmiennictwie naukowym, które wykazało, że tak innowacyjne badania nie zostały do tej pory przeprowadzone. Wykonane przez nas badania *in vitro* wykazały, że hodowla i różnicowanie ludzkich MSCs na podłożach grafenowych moduluje właściwości proangiogenne tych komórek. W związku z

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

powyższym wydaje się uzasadnione przeprowadzenie badania potencjału regeneracyjnego tych komórek i wydzielanych przez nie pęcherzyków zewnątrzkomórkowych w mysim modelu niedokrwienego uszkodzenia kończyny. Realizacja doświadczenia umożliwi poszerzenie wiedzy w tej tematyce badawczej.

W planowanym doświadczeniu uwzględniono następujące zasady:

- zastąpienia - Osiągnięcie planowanego celu naukowego jest niemożliwe bez wykorzystania zwierząt laboratoryjnych, a eksperyment został zaprojektowany zgodnie z przyjętymi standardami zweryfikowanymi na podstawie danych literaturowych.

- ograniczenia - Liczba zwierząt wykorzystywanych w eksperymencie została ograniczona do minimum niezbędnego dla wiarygodnej interpretacji wyników w celu osiągnięcia planowanego celu naukowego.

- udoskonalenia - Przebieg eksperymentu, w tym warunki utrzymania zwierząt oraz planowane procedury i metody badawcze zostały tak zaplanowane, aby ograniczyć cierpienie i dystres zwierząt. Myszy będą utrzymywane w pomieszczeniach i klatkach minimalizujących ryzyko infekcji i zapewniających optymalne warunki temperatury oraz wilgotności. Zwierzęta poddane procedurom będą poddawane znieczuleniu w celu znaczącego ograniczenia ich stresu i cierpienia. Zostaną także uśmiercone w sposób humanitarny przy użyciu metod akceptowanych przez obowiązujące przepisy prawne.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

☒ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

☐ NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.