

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: „Potencjał miogeniczny mezenchymalnych komórek macierzystych izolowanych ze szpiku kostnego.”

2.Czas trwania projektu 01.10.2016 - 30.09.2019

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) miogeneza, BMSC, 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.

Celem doświadczenia jest indukcja różnicowania miogenicznego ludzkich i świńskich mezenchymalnych komórek macierzystych izolowanych ze szpiku kostnego. W niniejszym projekcie postawiono hipotezę, że czynniki produkowane przez aktywowane w wyniku uszkodzenia mięśnia komórki satelitowe oraz uzyskane z nich mioblasty, będą indukowały miogenezę w komórkach macierzystych. Mezenchymalne komórki macierzyste w których zaindukowano różnicowanie miogeniczne będą bardziej efektywnie uczestniczyły w formowaniu miotub i włókien mięśniowych niż komórki kontrolne. Zagadnienia te są niezwykle istotne dla opracowania metod zastosowania mezenchymalnych komórek macierzystych w terapii chorób mięśniowych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W opisanym doświadczeniu zaplanowałam wykorzystanie 120 myszy szczepu C57BL/6. Będą to 3-4 miesięczne samce.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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 w tym BM-MSC mogą wspomagać regenerację tkanek na dwa sposoby, po pierwsze działając parakrynnie, po drugie uczestnicząc w rekonstrukcji tkanek. Celem niniejszego projektu jest indukcja różnicowania miogenicznego BM-MSC tak aby zwiększyć wydajność ich uczestniczenia w rekonstrukcji uszkodzonej tkanki mięśniowej.

Komórki satelitowe są to unipotentne komórki macierzyste związane z włóknami mięśniowymi i uczestniczące w ich rekonstrukcji. Podczas regeneracji mięśni szkieletowych dochodzi do aktywacji komórek satelitowych, czyli do wznowienia przez nie cyklu komórkowego. Sygnałem do rozpoczęcia podziałów są czynniki uwalniane przez komórki stanu zapalnego, uszkodzone włókna i naczynia krwionośne. Komórki satelitowe rozpoczynają proliferację, a następnie różnicowanie w kierunku mioblastów. Mioblasty takie fuzują tworząc wielojądrowe miotuby i włókna mięśniowe. Z naszego punktu widzenia niezwykle istotnym zagadnieniem jest zmiana jaka zachodzi w środowisku regenerującego się mięśnia, w wyniku której na drodze otrzymywanych ze środowiska informacji komórki satelitowe przestają się dzielić, a rozpoczynają różnicowanie miogeniczne. U myszy ma to miejsce w trzecim dniu regeneracji. Wiadomo, że mioblasty podczas regeneracji mięśni produkują IGF1 (ang. insulinlike growth factor 1), IGF2 (ang. insulin-like growth factor 2) oraz FGF (ang. fibroblast growth factor), czyli czynniki zaangażowane w różnicowanie miogeniczne. Ponadto obecne w regenerującym mięśni komórki stanu zapalnego poprzez produkowane przez siebie cytokiny i czynniki wzrostu również indukują różnicowanie i fuzje mioblastów.

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

W niniejszym projekcie chcemy sprawdzić czy, jak i jakie czynniki produkowane przez aktywowane komórki satelitowe i mioblasty wyizolowane z mięśni myszy trzeciego dnia regeneracji będą wpływały na różnicowanie mezenchymalnych komórek macierzystych uzyskanych ze szpiku kostnego.

Charakter badanego procesu, jakim jest regeneracja mięśni powoduje konieczność jego uszkodzenia. Zastosowana metoda pozwala na odtworzenie procesów towarzyszących uszkodzeniu 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 alternatywnym modelu umożliwiającego badanie tego złożonego procesu.

Wszystkie doświadczenia zostały zaplanowane tak aby zminimalizować liczbę wykorzystanych zwierząt. Na etapie oceny funkcjonalnej uzyskanych komórek badania będą prowadzone z wykorzystaniem linii komórkowej mioblastów mysich C2C12.