

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Ocena biodystrybucji mezenchymalnych oraz indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych po podaniu do płynu mózgowo-rdzeniowego szczura**
2. Czas trwania projektu **60 miesięcy**
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) **biodystrybucja, transplantacja, mezenchymalne komórki macierzyste, indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste, ośrodkowy układ nerwowy**
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.

Obecnie, gdy medycyna regeneracyjna oparta na wykorzystaniu komórek macierzystych pozyskiwanych z różnych źródeł coraz częściej jest stosowana w leczeniu ludzi, kluczowe jest dokładne poznanie sposobu rozmieszczenia (biodystrybucji) przeszczepionych komórek oraz ustalenie miejsca ich lokalizacji po przeszczepie. **Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na ocenę lokalizacji i sposobu rozmieszczenia podanych komórek, co jest kluczowe w późniejszym rozpatrywaniu bezpieczeństwa stosowania terapii komórkowej w leczeniu ludzi.**

Opracowanie metody śledzenia losów przeszczepionych komórek ma kluczowe znaczenie dla ustalenia sposobu ich rozmieszczenia oraz czasu przeżycia po transplantacji. Komórki zostaną podane do płynu mózgowo-rdzeniowego, następnie zlokalizowane po przeszczepie w różnych punktach czasowych. W celu oceny migracji i zasiedlania wybranych narządów zaplanowano badania z zastosowaniem techniki rezonansu magnetycznego (procedura 1) oraz bioluminescencji (procedura 2), polegającej na wizualizacji przeszczepionych komórek poprzez podanie substancji wzbudzającej

świecenie przeszczepionych komórek a także poprzez badania wykonane pośmiertnie, po pobraniu tkanek do analizy.

Doświadczenie zostanie przeprowadzone in vivo i będzie polegać na przeszczepianiu komórek w postaci zawiesiny (w soli fizjologicznej) do płynu mózgowo-rdzeniowego przez tzw. zbiornik wielki (*cisterna magna*) zlokalizowany w kącie utworzonym przez mózdzek i rdzeń przedłużony. Następnie zostanie określony sposób ich rozmieszczenia i obecność żywych komórek w różnym czasie od przeprowadzonego przeszczepu: bezpośrednio po podaniu komórek, po 24h, 7, 14 oraz 21 dniach.

Wszelkie doświadczenia będą wykonywane w znieczuleniu ogólnym, a przeprowadzane czynności w ramach wyszczególnionych procedur opracowano w sposób jak najmniej inwazyjny i nie powodujący długotrwałego cierpienia i dystresu zwierzęcia. Do istotnych szkód, jakie zaplanowane doświadczenia mogą spowodować u wykorzystywanych zwierząt należą: ból w miejscu wkłucia (dolna część tułowia przy podaniu dootrzewnowym, skóra w okolicach głowy przy podaniu komórek do zbiornika wielkiego, ogon przy podaniu dożylnym), odwodnienie wynikające z zastosowanej narkozy, depresja oddechowa, stres związany z przeprowadzanym eksperymentem, śmierć jako zakończenie procedury i wyłączenie zwierzęcia z doświadczenia/zakończenie doświadczenia.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu zostanie wykorzystanych 180 samców szczura Wistar Cmd:(WI)WU o masie 250-280g.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: PUBMED; Google Scholar; ScienceDirect. Wykorzystano słowa kluczowe: biodistribution/mesenchymal stem cells/induced pluripotent stem cells/CNS/stem cells transplantation/biosafety/preclinical trials Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, ustalono że wiedza w tym zakresie jest niewystarczająca do uzyskania odpowiedzi na postawione w projekcie pytanie o sposób biodystrybucji przeszczepianych komórek macierzystych pozyskiwanych z różnych źródeł. W ramach prowadzonych badań przedklinicznych, określenie biodystrybucji jest jedną z wymaganych analiz koniecznych do przeprowadzenia przed rozpoczęciem badań klinicznych z udziałem ludzi.

Zasada zastąpienia

Jedynym modelem służącym do długotrwałych obserwacji przeszczepianych komórek nadal pozostaje model zwierzęcy. Większość badań nad terapią komórkową prowadzi się obecnie na szczurach ze względu na dużą liczbę istniejących zwierzęcych modeli chorób, w szczególności dotyczących patologii

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

układu nerwowego. Nie ma możliwości całkowitego zastąpienia żywych zwierząt innym modelem badawczym, ponieważ kluczowe w projekcie jest poznanie biodystrybucji podanych komórek i śledzenie ich losów po przeszczepie. Obecnie, gdy medycyna regeneracyjna oparta na wykorzystaniu komórek macierzystych pozyskiwanych z różnych źródeł coraz częściej jest stosowana w leczeniu ludzi, istotne jest dokładne poznanie sposobu biodystrybucji przeszczepionych komórek oraz określenie ich tropizmu tkankowego. Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na ocenę migracji i sposobu rozmieszczenia podanych komórek, co jest kluczowe w późniejszym rozpatrywaniu ich biologicznego bezpieczeństwa w leczeniu ludzi.

Zasada ograniczenia

Konstrukcja doświadczenia ze starannie opracowaną liczbą grup eksperymentalnych a także dokładne opanowanie technik i metod doświadczalnych pozwala zredukować liczbę zwierząt niezbędnych do wykonania doświadczeń. Do analizy biodystrybucji z wykorzystaniem technik immunohistochemicznych zostaną wykorzystane te same zwierzęta, u których wcześniej wykonywano obrazowanie metodą MRI oraz bioluminescencji, co pozwala jednocześnie zredukować liczbę grup eksperymentalnych. Badania zostaną przeprowadzone przez osoby odpowiednio przeszkolone, mające doświadczenie w pracy ze zwierzętami oraz znające wszystkie metody, którymi należy się posługiwać przy wykonywaniu opisanych procedur i czynności, co pozwala jednocześnie zmniejszyć ryzyko popełnianego błędu.

Zasada udoskonalenia

W trakcie eksperymentu zwierzęta będą przebywały w klatkach hodowlanych z elementami wzbogacającymi środowisko, mając najbardziej optymalne warunki hodowli i stały dostęp do świeżej wody i paszy. W zaplanowanym eksperymencie uwzględniono procedury ograniczające cierpienie i stres zwierząt. Wszelkie doświadczenia będą wykonywane w znieczuleniu ogólnym, a przeprowadzane czynności w ramach wyszczególnionych procedur opracowano w sposób jak najmniej inwazyjny i nie powodujący długotrwałego cierpienia i dystresu zwierzęcia. Po najbardziej inwazyjnej z zaplanowanych czynności (podanie komórek do *cisterna magna*), co wiąże się z uszkodzeniem błony szczytowo-potylicznej zaplanowano podanie antybiotyku i środków przeciwbólowych. Skanowanie metodą rezonansu magnetycznego potrwa około 1h i wykonane zostanie w pełnej anestezji z użyciem izofluranu. Badanie techniką bioluminescencji potrwa około 30 minut i również zostanie wykonane w pełnej anestezji. Prowadzony będzie ciągły monitoring parametrów życiowych w trakcie skanowania. W przypadku wystąpienia jakichkolwiek objawów wskazujących na ból zwierzęcia, zostanie ono natychmiast wyłączone z procedury.

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.