

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: Wpływ substancji bioaktywnych zawartych w mikropęcherzykach pochodzących z mezenchymalnych komórek macierzystych na gojenie się ubytków chrząstki szklistej stawowej u owiec.

2.Czas trwania projektu: 01.10.2019 – 31.10.2022.

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): ubytki chrząstki stawowej, mezenchymalne komórki macierzyste, mikropęcherzyki, inżynieria tkankowa, proces gojenia tkanki chrzęstnej.

4.Cel projektu (art. 3 ustawy): badanie podstawowe w zakresie układu mięśniowo-szkieletowego.

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.

Projekt zakłada opracowanie i przygotowanie do wdrożenia nowatorskich produktów inżynierii tkankowej wspomagających regenerację i odtworzenie ubytków tkanki chrzęstnej zlokalizowanej na powierzchniach stawowych. Leczenie ubytków ma na celu wyeliminowanie uczucia bólu i poprawę lub powrót do pełnej funkcjonalności chorego stawu. Zastosowanie badanych produktów umożliwiłoby wspomoczenie leczenia szeroko występującej w populacji ludzkiej chorobie zwyrodnieniowej stawów (ang. *osteoarthritis* – OA, *degenerative joint diseases* – DJD).

W dostępnej literaturze brak jest danych dotyczących wykorzystania w medycynie regeneracyjnej, do leczenia ubytków chrząstki stawowej na dużym modelu zwierzęcym, wyników inżynierii tkankowej w postaci rusztowań zasiedlonych bioaktywnymi pochodnymi mezenchymalnych komórek macierzystych (ang. *mesenchymal stem cells* - MSC) – mikropęcherzyków. Mikropęcherzyki to struktury uwalniane z powierzchni komórek, zdolne do przenoszenia biologicznie aktywnej zawartości komórek rodzicielskich, w tym białek mających wpływ na regenerację tkanek jak i czynników zdolnych do wyciszenia stanu zapalnego. Mikropęcherzyki są uwalniane w czasie hodowli i ekspansji MSC i stanowią naturalną zawartość pożywki hodowlanej, z której mogą zostać wyizolowane i wykorzystane w procesach regeneracji tkanek.

Uszkodzenia chrząstki stawowej, jako tkanki o niewielkich zdolnościach regeneracyjnych, stanowią duże wyzwanie dla lekarzy. Brak ukrwienia oraz niewielka ilość chondrocytów w płynnej macierzy w stosunku do jej objętości uniemożliwia samoistną naprawę uszkodzonej powierzchni chrzęstnej. Prawidłowa odbudowa jest możliwa tylko w okresie wczesnego rozwoju organizmu, a zwyrodnieniowa choroba stawów rozwija się i postępuje wraz z wiekiem. Do powstawania uszkodzeń tkanki chrzęstnej i zwyrodnień w obrębie stawu kolanowego dochodzi najczęściej na tle urazowym lub w wyniku toczącego się na terenie stawu przewlekłego stanu zapalnego. Przeprowadzone dotychczas w tym zakresie badania, wykorzystujące techniki inżynierii tkankowej, nie dają satysfakcjonujących rezultatów co stanowi przesłankę do dalszych poszukiwań skuteczniejszych rozwiązań.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu wykorzystanych zostanie 16 zwierząt z gatunku owca domowa (*Ovis aries*) w wieku 2-4 lata.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, została sprawdzona istniejąca baza wiedzy w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PubMed, Google Scholar, ScienceDirect, Web of Science (JCR).

Do wyszukiwania zostały użyte słowa kluczowe: ubytek chrząstki stawowej, postępowanie radykalne w ubytkach chrząstki stawowej, proces gojenia tkanki chrzęstnej, mezenchymalne komórki macierzyste, mikropęcherzyki, inżynieria tkankowa.

Na podstawie przeszukanej, istniejącej literatury stwierdzono, że brak jest danych dotyczących wykorzystania w medycynie regeneracyjnej, do leczenia ubytków chrząstki stawowej na dużym modelu zwierzęcym, wyników inżynierii tkankowej w postaci rusztowań zasiedlonych bioaktywnymi pochodnymi mezenchymalnych komórek macierzystych – mikropęcherzyków.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na zaplanowanie i przeprowadzenie pierwszych prób klinicznych na pacjentach, w celu wprowadzenia nowych technik leczenia ubytków chrząstki stawowej i zwyrodnieniowej choroby stawów w medycynie człowieka.

Celem zastąpienia wybrano gatunek zwierząt pozwalający na wykorzystanie zwierząt o najniższym stopniu rozwoju ewolucyjnego. Wybór gatunku zwierzęcia podyktowany jest wielkością ubytku tkanki chrzęstnej (średnica 6mm i głębokość 8-10mm ubytku), analogiczną biomechaniką stawu kolanowego i budową histologiczną kości owcy do kości człowieka w przeciwieństwie do innych gatunków zwierząt. Pośród podobieństw wymienić można też zbliżoną grubość warstwy chrzęstnej stawu kolanowego (u owcy wynosi ona do 1,5mm), rozmiar kości owcy i dorosłego człowieka, oś kończyny, obecność więzadeł krzyżowych i niesymetrycznie ułożonych więzadeł pobocznych, łokotek stawowych czy budowy dalszej nasady kości udowej (1).

Celem ograniczenia obliczono minimalną liczebność grup konieczną do przeprowadzenia eksperymentu, przy zachowaniu statystycznej wiarygodności otrzymanych danych. Monitoring dużej ilości parametrów i postępu gojenia się tkanek u pojedynczego zwierzęcia jest w stanie dostarczyć rzetelnych i wyczerpujących informacji na temat badanych zjawisk. Sześciomiesięczny okres obserwacji podyktowany jest długą regeneracją tkanki chrzęstnej, która ma zostać oceniona.

Celem udoskonalenia ból i stres związany z przeprowadzeniem doświadczenia ograniczony zostanie przez utrzymanie zwierząt w stanie znieczulenia ogólnego podczas zabiegu. Zwierzęta będą stopniowo przyzwyczajane i przygotowywane do kontaktu z człowiekiem oraz warunki ich bytowania będą starannie dopasowane do potrzeb gatunku. Badania prowadzone będą z dbałością o minimalizację stresu u zwierząt, a stan ich zdrowia będzie regularnie kontrolowany przez opiekującego się nimi lekarza weterynarii.

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

Ze względu na badanie procesu regeneracji ubytku tkanki chrzęstnej niemożliwe jest zastosowanie zwierząt bezkręgowych oraz technik in vitro.

1. Orth P, Meyer HL, Goebel L, Eldracher M, Ong MF, Cucchiaroni M, Madry H. Improved repair of chondral and osteochondral defects in the ovine trochlea compared with the medial condyle. J Orthop Res, 2013 Nov.

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.