

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Potencjalna rola mikroRNA w migracji komórek macierzystych podczas regeneracji mięśni szkieletowych

2. Czas trwania projektu 01.10.2018 - 30.09.2020

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.

Komórki macierzyste mogą mieć potencjalne zastosowanie w terapii chorób mięśniowych. Jednakże ich zastosowanie wiąże się z różnymi ograniczeniami. Jednym z nich jest zdolność komórek macierzystych do zasiedlania uszkodzonych tkanek po przeszczepieniu. Oznacza to, że podane do krwioobiegu komórki nie zawsze wędrują do regenerującego mięśnia. Ponadto nawet podane domięśniowo komórki macierzyste nie zawsze wydajnie migrują w jego obrębie. Celem naukowym niniejszego projektu jest zwiększenie zdolności komórek macierzystych do migracji i zasiedlania uszkodzonych w wyniku urazu lub choroby mięśni. Dzięki temu przeszczepione komórki mogłyby bardziej efektywnie uczestniczyć w naprawie mięśni i poprawiać ich rekonstrukcję.

W niniejszym projekcie chcemy zastosować metodę, która pozwoli na precyzyjnie nakierowanie komórek macierzystych do regenerującej tkanki. Wytypowaliśmy cząsteczki mikroRNA, które mogą być zaangażowane w procesy mobilizacji komórek macierzystych. MikroRNA są to niewielkie cząsteczki RNA komplementarne do cząsteczek mRNA obecnych w komórce. Wiążąc się z nimi hamują ekspresję białek przez nie kodowanych. Cząsteczki mikroRNA odgrywają zatem niezwykle istotną rolę w regulacji ekspresji genów.

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 120 myszy szczepu C57BL/6Tar. Będą to 3-4 miesięczne samce.

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

Przed zaplanowaniem doświadczenia sprawdzono aktualny stan wiedzy na temat mikroRNA i możliwości zastosowania komórek macierzystych we wspomaganiu regeneracji mięśni szkieletowych. Wykorzystano bazy PubMed i GoogleScholar używając słów kluczowych: mesenchymal stem cells, microRNA, muscle fiber, muscle regeneration, myogenesis, satellite cells, stem cells.

Regeneracja mięśni szkieletowych przebiega dzięki obecności związanych z włóknami mięśniowymi unipotentnych komórek macierzystych, nazywanych komórkami satelitowymi.

---

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

W uszkodzonych mięśniach komórki satelitowe są aktywowane, to znaczy wznowiają 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 towarzyszy procesowi starzenia, mięsień zastępowany jest przez tkankę łączną i staje się niefunkcjonalny. Jednym ze sposobów wspomagania regeneracji mięśni jest terapia komórkowa z zastosowaniem komórek macierzystych. Do komórek takich należą między innymi wspomniane komórki satelitowe oraz uzyskane z nich mioblasty, a także mezenchymalne komórki macierzyste. Jednym z ważnych ograniczeń stosowania komórek macierzystych w terapii jest ich zdolność do zasiedlania uszkodzonej tkanki oraz migracji w jej obrębie.

Celem projektu jest stwierdzenie, czy potencjał regeneracyjny komórek macierzystych może zostać zwiększony poprzez zastosowanie wybranych cząsteczek mikroRNA. Cząsteczki mikroRNA wchodzi w skład kompleksów rybonukleoproteinowych, które blokują translację mRNA. Stawiamy hipotezę, iż transfekcja komórek wybranymi cząsteczkami mikroRNA zwiększy wydajność zasiedlania uszkodzonych mięśni przez przeszczepione komórki macierzyste i doprowadzi do poprawy regeneracji tkanki mięśniowej. Komórki zastosowane w doświadczeniu zostały wybrane na podstawie wieloletnich doświadczeń i danych literaturowych, jako najbardziej obiecujące w terapii chorób mięśniowych.

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, a także unipotentne komórki macierzyste mięśni mogą wspomagać regenerację tkanek na dwa sposoby, po pierwsze działając parakrynnie, po drugie uczestnicząc w rekonstrukcji tkanek. Celem niniejszego projektu jest ocena możliwości zastosowania komórek macierzystych we wspomaganiu regeneracji uszkodzonych mięśni szkieletowych oraz wpływu wybranych cząsteczek mikroRNA na przebieg tego procesu.

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, metod hodowli, sortowania komórek macierzystych oraz roli cząsteczek mikroRNA 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.