

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Opracowanie nowych strategii przyspieszających procesy wszczepiania się krwiotwórczych komórek macierzystych**

2. Czas trwania projektu 31.06.2018 – 31.07.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) krwiotwórcze komórki macierzyste, tratwy lipidowe, ksenotransplantacje, mobilizacja krwi

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.

Przeszczep krwiotwórczych komórek macierzystych/progenitorowych (KKM/P) jest szeroko stosowaną i ratującą życie procedurą kliniczną w hematologii. Jedno z największych wyzwań w transplantologii KKM/P jest związane ze zjawiskiem opóźnienia wszczepiania się KKM/P lub jego brakiem. Stanowi to szczególny problem w sytuacjach kiedy liczba KKM/P w materiale przeszczepowym jest niska (w przypadku komórek pobranych od dawców słabo mobilizujących się lub w przeszczepieniach KKM/P izolowanych z krwi pępowinowej).

Przeszczep szpiku kostnego ma na celu odbudowanie układu krwiotwórczego pacjenta, u którego uległ on uszkodzeniu na skutek procesu patologicznego. Jest to zabieg ratujący życie pacjenta. Jednak opóźnione wszczepienie się KKM, a nawet jego brak stanowi nadal bardzo ważny problem kliniczny, zwłaszcza w sytuacjach gdy liczba KKM w materiale przeszczepowym jest niska. Zaproponowane badania mają na celu opracowanie metod przyspieszających lub ułatwiających wszczepianie się KKM w środowisko szpiku kostnego biorcy i tym samym przyczynią się do poprawy wyników transplantacji krwiotwórczych.

W badaniu wykorzystane zostaną myszy: C57Bl/6, dla których będą przeszczepiane krwiotwórcze komórki macierzyste/progenitorowe z trzech różnych źródeł. Wykorzystane zostaną również szczepy NOD/Shi-scid/IL-2R γ null (NOG) i B6.129P2-Nos2tm1Lau/J, które pozbawione są funkcjonalnych limfocytów T i B oraz komórek NK(ang. Natural Killer), co znacznie obniża ich możliwości reakcji immunologicznej prowadzącej do odrzucenia przeszczepionych KKM/P.

Planowane doświadczenia opisane zostały w projekcie badawczym i uzyskały pozytywną opinię recenzentów w toku procedury przyznawania grantu OPUS 12 NCN. UMO-2016/23/B/NZ3/03157 - 2W10/3C97/17

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek	Wiek/stadium rozwoju	Liczba	Pochodzenie ¹	Nr w rejestrze hodowców/dostawców
Gatunek: <i>Mus musculus</i> Szczep: C57BL/6J	3-17 tygodni	48	Warszawski Uniwersytet Medyczny, Centralne Laboratorium Zwierząt Doświadczalnych	037
Gatunek: <i>Mus musculus</i> Szczep: NOD/Shi-scid/IL-2R γ null (NOG)	3-17 tygodni	216	AnimaLab Szymon Wyrwicki	09
Gatunek: <i>Mus musculus</i> Szczep:: B6.129P2-Nos2tm1Lau/J	3-17 tygodni	72	AnimaLab Szymon Wyrwicki	09

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA²

Model myszy zakłada wykorzystanie szczepów: C57Bl/6, NOD/Shi-scid/IL-2R γ null (NOG) i B6.129P2-Nos2tm1Lau/J. Zostały wybrane do zaplanowanego doświadczenia ze względu na pozbawienie ich funkcjonalnych limfocytów T i B oraz komórek NK(ang. Natural Killer), co znacznie obniża ich możliwości reakcji immunologicznej prowadzącej do odrzucenia i zniszczenia przez układ immunologiczny przeszczepionych KKM/P pochodzących od innych gatunków.

Zastąpienie

Przeprowadzone zostanie badanie *in vitro* z użyciem linii komórkowych, oraz badania *ex vivo* z użyciem pobranych krwiotwórczych komórek macierzystych/progenitorowych. Użyte zostaną komercyjne linie komórkowe: ostrej białaczki szpikowej i limfocytów T, zakupione w ATCC. Ustalony zostanie dokładny i

¹ Należy podać hodowcę lub dostawcę zwierząt

² Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

powtarzalny protokół, do wykorzystanego modelu doświadczalnego *in vitro* i *ex vivo*, który w przyszłości pozwolić może na zwiększeniu ilości badań prowadzonych w warunkach *in vitro*, a tym samym zmniejszenie ilości doświadczeń wymagających układu *in vivo*. Przeprowadzając badania *ex vivo* będziemy mogli wytypować najbardziej obiecujące czynniki aby, zastąpić badaniami *ex vivo*, część doświadczeń *in vivo*, aby w przyszłości ograniczyć również liczbę zwierząt użytych w doświadczeniu, niż pierwotnie zaplanowana.

Redukcja

Zgodnie z zasadą zastąpienia i ograniczenia podjęliśmy starania, aby użyta liczba zwierząt do tego doświadczenia była optymalna, korzystając z narzędzi statystycznych, aby oszacować grupy zwierząt wykorzystane do doświadczeń. Niestety z uwagi na złożoność układu jakim są nisze szpiku kostnego i komórki krwiotwórcze niemożliwe jest odtworzenie tych warunków i przeprowadzenia tego doświadczenia *in vitro*, z braku odpowiedniego modelu. Ilość zwierząt w grupach dostosowaliśmy do stosowanych w tego typu badaniach modeli statystycznych oraz do tzw. „dobrej praktyki laboratoryjnej”.

Udoskonalenie

W celu zapewnienia jak najwyższego dobrostanu zwierząt, wykonanie doświadczenia oraz opieka nad nimi zostanie zapewniona przez personel mający duże doświadczenie w pracy ze zwierzętami. Zastosowane indywidualnie wentylowane klatki o powierzchni ~500cm² zapewniają komfort przestrzenny zwierzętom. Zwierzęta utrzymywane zostaną grupowo. Przeprowadzony zostanie handling mający na celu zminimalizowanie stresu związanego z podjęciem zwierzęcia z klatki i przyzwyczajenie go do chwytu wykonywanego podczas procedury podania substancji. Nasz zespół posiada znaczące doświadczenie w pracy ze zwierzętami ze szczepem myszy C57Bl/6, oraz z myszami z niedoborami odporności w tym ze szczepem NOD/Shi-scid/IL-2R^γnull (NOG) i szczepem B6.129P2-Nos2tm1Lau/J, co potwierdzają liczne publikacje naukowe załączone w celu doświadczenia. Wszystkie procedury zostały zaplanowane na podstawie uzyskanej przez nas dotychczas wiedzy wyniesionej z eksperymentów przeprowadzonych w przeszłości, aby ryzyko niepowodzenia i konieczności powtarzania wnioskowanego doświadczenia zostało zminimalizowane.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną³

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

³ Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.