

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu pt. Zastosowanie preparatu z mikropęcherzyków (MVs) wydzielanych przez mezenchymalne komórki macierzyste pochodzące z galarety Whartona (MSCs) w kontrolowaniu alergicznego zapalenia płuc indukowanego ekstraktem roztocza kurzu domowego (HDM)
2. Czas trwania projektu 01.02.2020 r.-01.03.2021.
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): zapalenie alergiczne, astma, mezenchymalne komórki macierzyste, mikropęcherzyki wydzielnicze, remodeling, roztocze kurzu domowego.
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych).

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane e/ Zaburzenia układu oddechowego u człowieka

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.

Zapalenie alergiczne leżące u podłoża astmy stanowi istotny problem kliniczny. Należy podkreślić, że obecnie dostępne strategie terapeutyczne działają jedynie objawowo i nie usuwają przyczyny choroby. Ponadto, nieleczona lub słabo kontrolowana astma prowadzi do powstania nieodwracalnych zmian w płucach (tzw. remodeling), w znaczący sposób zaburzających ich funkcje. Dlatego, poszukuje się nowych, innowacyjnych sposobów ograniczenia zapalenia oraz remodelingu, które przynosiłyby w pełni satysfakcjonujące efekty terapeutyczne. Szczególnie obiecujące wydaje się wykorzystanie terapii komórkowych opartych o komórki macierzyste lub preparaty oparte na ich elementach. Mezenchymalne komórki macierzyste (MSCs), są uznawane za jedną z najbardziej obiecujących i bezpiecznych populacji komórkowych stosowanych klinicznie. Należy nadmienić jednak, że MSCs podobnie jak inne populacje komórkowe zdolne są do wydzielania szeregu czynników o zdolnych do ograniczania procesu zapalnego. Do czynników takich zalicza się również pęcherzyki wydzielnicze. Dlatego w celu oceny potencjału terapeutycznego pęcherzyków wydzielniczych pochodzących z MSCs, planujemy wykorzystać

model myszy zapalenia alergicznego płuc, który jest najbardziej zbliżony do astmy u ludzi. W planowanym eksperymencie badawczym, mikropęcherzyki pochodzące z MSCs będą podawane myszom z zapaleniem alergicznym o różnej charakterystyce. Proponowany przez nas model badawczy umożliwi odniesienie wyników do sytuacji klinicznej, a zatem wyciągnięcie wniosków umożliwiających rozpoczęcie przygotowań do prób klinicznych. Doświadczenie będzie przeprowadzone w sposób maksymalnie komfortowy dla zwierząt, a jedyne zagrożenia mogą wynikać z ograniczenia wydolności oddechowej w wyniku stanu zapalnego płuc, co występuje niezwykle rzadko. Zaplanowane badania pogłębią wiedzę na temat mechanizmów leżących u podłoża astmy, otworzą również nowe możliwości terapeutyczne w astmie alergicznej.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

C57BL/6cmdb, płeć żeńska, szczep wsobny, w wieku od 6 do 8 tygodni (85 myszy)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

EBSCO; PUBMED; ScienceDirect; Web of Science (JCR) oraz SCOPUS

Wykorzystałem słowa kluczowe:

Allergic inflammation/ models of asthma/ MSCs derived microvehicles / lung remodeling / lung inflammation / lung regeneration / lung immune modulation /

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam, że nadal brakuje skutecznych metod pozwalających na pozbawioną działań niepożądanych kontrolę zapalenia alergicznego u osób z astmą, w szczególności u osób z tzw. astmą neutrofilową oporną na działanie wziewnych i systemowych steroidów. Stwierdziłem również, że brak jest danych na temat wpływu mikropęcherzyków wydzielanych przez mezenchymalne komórki macierzyste na procesy remodelingu, a więc powstawania nieodwracalnych zmian w płucach zmniejszających wymianę gazową. Dlatego poszukuje się metod umożliwiających zmniejszenie stosowanych dawek steroidów oraz skuteczniejszą kontrolę zapalenia alergicznego w płucach. Dostępne dane wskazują natomiast, że komórki MSC posiadają aktywności przeciwzapalne i regeneracyjne, a pęcherzyki przez nie wydzielane mogą posiadać potencjał terapeutyczny. Dlatego wyniki uzyskane podczas realizacji przedstawionego projektu pozwolą na przedkliniczną ocenę przydatności terapeutycznej preparatów pochodzących od komórek macierzystych w kontrolowaniu zapalenia alergicznego. Pozytywny wynik zaplanowanego eksperymentu pozwoli rozpocząć badania kliniczne testowanych rozwiązań.

Bezpośrednie odniesienie do zasad 3R:

Udoskonalenie (*ang. Refinining*). Badanie jest nieinwazyjne, a podawanie ekstraktu HDM odbywać się przez nosowo pod anestezją co w znaczący sposób obniży stres zwierzęcia. W odróżnieniu od innych stosowanych modeli nie jest konieczne przeprowadzanie iniekcji a tym samym eliminuje się odczuwanie bólu u zwierząt. Wszystkie osoby uczestniczące w doświadczeniu brały udział w szkoleniu organizowanym przez PolLASA dotyczącym prowadzenia doświadczeń na zwierzętach laboratoryjnych. Każdy ma odpowiednie przygotowanie teoretyczne i praktyczne do przeprowadzenia badania. Doświadczenie będzie prowadzone w jednym z najnowocześniejszych w Europie ośrodków, spełniającym kryteria GLP (*ang. Good Laboratory Practice*). Pozwoli to na zapewnienie zwierzętom możliwie komfortowych warunków i zapewni wysoką jakość przeprowadzonych badań.

Ograniczenia (*ang. Reducing*). W naszym doświadczeniu wykorzystamy zwierzęta z gatunku C57BL/6cmdb. Będą to zwierzęta tej samej płci, będące w tym samym wieku. Niezwykle istotne jest zachowanie statusu higienicznego, a mianowicie wolny od określonych swoistych dla gatunku mikroorganizmów i pasożytów (*SPF, ang. Specific Pathogen Free*). Podawane dawki ekstraktu HDM powodują nieznaczne zaburzenia oddechowe, a ostre niewydolności oddechowe właściwie nie występują. Dzięki temu możemy ograniczyć liczbę zwierząt do absolutnego minimum potrzebnego do przeprowadzenia wszystkich niezbędnych analiz i uzyskania wiarygodnych wyników doświadczenia.

Zastąpienia (*ang. Replacing*): Doświadczenie zostało poprzedzone badaniami *in vitro* oraz jak już wspomniano powyżej analizą dostępnej literatury w temacie zastosowania mezenchymalnych komórek macierzystych oraz ich produktów w terapii zapalenia alergicznego leżącego u podłoża astmy. Zastosowanie modelu mysiego jest ostatnim etapem przed rozpoczęciem badań klinicznych. Niemożliwe jest niestety rozpoczęcie badań klinicznych bez wcześniejszego potwierdzenia skuteczności proponowanych rozwiązań w warunkach *in vivo*.