

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Indukcja endogennego G-CSF w celu mobilizacji krwiotwórczych komórek macierzystych do przeszczepienia.
2. Czas trwania projektu 1 rok 4 miesiące
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): CoPP, G-CSF, GvHD, mobilizacja, szpik
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.

Mobilizacja komórek ze szpiku kostnego do krwi jest obecnie najczęściej stosowaną strategią pozyskiwania krwiotwórczych komórek macierzystych (HSC) potrzebnych do przeszczepów terapeutycznych i zastępczych w hematopoetycznych jednostkach chorobowych.

Wcześniejsze badania z udziałem myszy wykazały, że protoporfiryna IX kobaltu (CoPP) indukuje mobilizację komórek ze szpiku kostnego do krwi obwodowej poprzez zwiększenie w niej stężenia endogennego G-CSF (czynnika wzrostu kolonii granulocytów). Udowodniono, że CoPP uruchamia mobilizację większej liczby dojrzałych granulocytów oraz komórek HSC i zapewnia szybszą rekonstytucję hematopoetyczną po przeszczepieniu do naświetlonych myszy w porównaniu do komórek mobilizowanych rekombinowanym G-CSF. Jednocześnie CoPP mobilizuje mniej limfocytów T niż G-CSF. Do tej pory nie zostało określone, czy mechanizmy mobilizacji komórek krwi przez CoPP

obserwowane u myszy mogłyby przełożyć się na takie same efekty u ludzi i zostać wykorzystane w celach terapeutycznych oraz czy ich działanie byłoby skuteczniejsze od podania rekombinowanego G-CSF. **Dlatego projekt ma na celu scharakteryzowanie klinicznie istotnych właściwości komórek zmobilizowanych przez CoPP.** Projekt zakłada sprawdzenie czy podanie CoPP humanizowanym myszom z ludzkim układem krwiotwórczym pozwoli na efektywną mobilizację ludzkich granulocytów i komórek HSC do krwi obwodowej.

W pierwszej części projektu za pomocą cytometrii przepływowej zostanie sprawdzona liczba oraz fenotyp komórek, które uległy mobilizacji. **W drugiej części projektu** planowane jest zbadanie czy mniejsza ilość limfocytów T mobilizowanych do krwi przy pomocy CoPP przełoży się na zmniejszenie reakcji GvHD (choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi).

Realizacja projektu zapewni krytyczną przedkliniczną walidację wykorzystania CoPP jako potencjalnego nowego środka do mobilizacji HSC do krwi obwodowej w celu ich późniejszego przeszczepienia.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

200 myszy domowych (*Mus musculus*)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

W przedstawionym projekcie doświadczeń uwzględniono **zasadę 3R**. Przebieg badań został ustalony w oparciu o wcześniejsze wyniki naszego zespołu dotyczące tej samej tematyki badawczej.

Zasada zastąpienia:

Podczas opracowywania planu doświadczeń dokonano przeglądu aktualnej literatury specjalistycznej w dostępnych bazach danych (baza danych PubMed oraz Google Scholar, szukane hasła: bone marrow niche, HSC mobilisation, mobilizing factor, G-CSF, CoPP, GvHD) w celu określenia dostępnych metod

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

badania aktywacji procesu mobilizacji komórek ze szpiku kostnego do krwi obwodowej. Przełamanie istniejących ograniczeń mobilizacji wymaga opracowania nowej strategii, wykorzystującej inną zasadę działania niż obecne. Jedną z sugerowanych wcześniej możliwości jest indukcja endogennego G-CSF. Przewidywany projekt zakłada przedkliniczną walidację nowej strategii mobilizacji komórek HSC do krwi obwodowej, dlatego sam model badawczy wyklucza inne metody mogące zastąpić wykorzystanie zwierzęcia kręgowego oraz wykonanie proponowanych badań w układzie *in vitro*.

Zasada ograniczenia i udoskonalenia:

Aby możliwie najwierniej odtworzyć proces ludzkiej mobilizacji w myszach, założono wykorzystanie modelu ludzkiej niszy szpikowej, odtwarzanej poprzez podskórne podanie pobranych od człowieka mezenchymalnych komórek stromalnych ze szpiku. Dobrano odpowiednie szczepy myszy humanizowanych, o najściślej obecnie zdefiniowanych fenotypach, którym można przeszczepić ludzkie komórki bez konieczności naświetlania wpływającego na funkcjonowanie niszy. Wybrano osobniki w zbliżonym wieku i masie ciała oraz tej samej płci, w ilości minimalnej pozwalającej na zapewnienie jednorodności próby uzyskanych wyników. Wszystkie doświadczenia zostały zaplanowane z dbałością o czas trwania procedur, w których uczestniczą zwierzęta oraz dostępne sposoby analizy pobieranego materiału.

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.