

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Rola żelaza w biogenezie płytek krwi

2. Czas trwania projektu: 4 miesiące

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): niedokrwistość z niedoboru żelaza, płytki krwi, szpik kostny, trombocytoza, żelazo

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.

Stosunkowo mało znanym skutkiem niedoboru żelaza jest **nadpłytkowość** (trombocytoza), czyli wzrost liczby płytek krwi (trombocytów), zaburzenie mogące prowadzić do zakrzepicy. W procesie hematopoezy (w procesie powstawania komórek krwi) w szpiku kostnym, komórki krwi (poza limfocytami) wywodzą się ze wspólnej komórki prekursorowej, która z kolei daje początek prekursorom granulocytów/monocytów oraz prekursorom megakariocytów (z których wywodzą się płytki krwi i erytrocyty). **Celem projektu** jest określenie ekspresji genów kodujących czynniki transkrypcyjne, które w warunkach niedoboru żelaza są odpowiedzialne za różnicowanie się komórek prekursorowych w kierunku megakariocytów i ich proliferacji (podziały), co następnie przyczynia się do wzrostu liczby płytek krwi w układzie krążenia.

Jedyną procedurą mogącą naruszyć dobrostan myszy, wybranych jako zwierzęta doświadczalne w planowanym projekcie, jest zastosowanie diety o niskiej zawartości żelaza (w celu wywołania niedoboru tego mikroelementu) oraz diety o zwiększonej zawartości żelaza (myszy poddane tej diecie będą stanowiły obok myszy żywionych standardowo, grupę kontrolną). Po eutanazji myszy pobierane będą próbki krwi i wątroby. Sprawdzany będzie ich status hematologiczny (wskaźniki erytrocytarne i płytkowe) oraz zawartość żelaza w wątrobie i osoczu krwi. Ponadto z kości długich będą pobierane komórki szpiku kostnego, z których następnie przy zastosowaniu specyficznych przeciwciał i specjalnej aparatury wyodrębniane będą komórki prekursorowe megakariocytów. W

komórkach tych oznaczana będzie ekspresja ok. 30 genów kodujących czynniki transkrypcyjne kluczowe dla różnicowania się komórek prekursorowych w kierunku megakariocytów. Wyniki doświadczenia powinny przyczynić się do identyfikacji czynników transkrypcyjnych kluczowych w zależnej od żelaza regulacji różnicowania się komórek prekursorowych do megakariocytów i płytek krwi.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

60 myszy domowych (+kontrola 30 myszy, nie przechodzi przez procedury).

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

Tematyka projektu dotyczy procesu hematopoezy (a ściśle różnicowania się komórek progenitorowych szpiku kostnego do megakariocytów), który jako całościowy proces nie może być odtworzony w warunkach doświadczeń komórkowych *in vitro*. Ponadto mysz jest gatunkiem o odpowiednio wysokim uorganizowaniu, którego w kontekście naszych badań, nie można zastąpić gatunkami o niższym poziomie rozwoju i zdolności odczuwania bólu.

Zastąpienie. Mysz jest podstawowym gatunkiem zwierząt doświadczalnych, szeroko wykorzystywanym w badaniach nad różnymi aspektami ogólnoustrojowej regulacji metabolizmu żelaza, w tym również w badaniach nad regulacją hematopoezy i erytropoezy, procesami ściśle związanym z dostępnością jonów żelaza. Ponadto mysz obok człowieka jest gatunkiem, w obrębie którego mechanizmy molekularne metabolizmu żelaza zostały najlepiej poznane. W związku z wieloletnim doświadczeniem pracy na mysim modelu w naszym laboratorium, dysponujemy szerokim arsenalem sprawdzonych metod niezbędnych do oceny regulacji homeostazy żelaza i jej zaburzeń u myszy. Wreszcie, mysz jest gatunkiem, na którym opracowano skuteczne metody wywoływania niedoboru i nadmiaru żelaza.

Ograniczenie. Stosunkowo duża liczba zwierząt planowana w naszym doświadczeniu (30 osobników w grupie) wynika głównie z tego, że ilość materiału doświadczalnego (liczba komórek prekursorowych megakariocytów/erytrocytów), który można uzyskać od jednego osobnika jest daleko niewystarczająca do przeprowadzenia planowanych analiz. W tej sytuacji konieczne jest pulowanie komórek progenitorowych uzyskanych od 3-4 myszy. Pulując komórki uzyskane od 3-4 myszy będziemy mogli przygotować od 7 do 10 prób biologicznych (dolny limit jest o wiele bardziej realny niż górny). Taka liczba prób jest niezbędna do statystycznego opracowania wyników uzyskanych na podstawie planowanego doświadczenia.

Udoskonalenie. Doświadczenie będzie wykonane przez **dwóch** pracowników naukowych: doświadczonego naukowca i mającego już 2-letnią praktykę w pracy na myszach jako na zwierzętach doświadczalnych doktoranta. Planowane procedury wprowadzenia myszy w niedobór i nadmiar żelaza należą do najmniej inwazyjnych spośród znanych i stosowanych metod. Nie wywołują ona u zwierząt widocznych objawów stresu i obliczone są na wywołanie nie skrajnego lecz umiarkowanego zarówno niedoboru jak i nadmiaru żelaza w organizmach zwierząt. W celu wzbogacenia środowiska w klatkach umieszczone będą tunele dla gryzoni i kamienie do ścierania zębów. Metoda eutanazji zwierząt jest metodą dopuszczalną przez przepisy Ustawy o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych i była wielokrotnie stosowana przez osoby uczestniczące w doświadczeniu.

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

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
- ☒ NIE

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.