

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu:

Rola sygnałowania purynergicznego w procesie odnowy hematologicznej po kondycjonowaniu do przeszczepu szpiku kostnego

2. Czas trwania projektu: 01.09.2019– 31.09.2022

Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) krwiotwórcze komórki macierzyste, zasiedlenie szpiku

3. 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.

Materiał stosowany w leczeniu chorób układu krwiotwórczego (ostrej białaczki limfoblastycznej, ostrej białaczki szpikowej czy zaburzenia odporności) stanowi zawiesina komórkowa pobrana od dawcy z krwi obwodowej po farmakologicznej mobilizacji. Skuteczność transplantacji zależy od liczby przeszczepionych krwiotwórczych komórek macierzystych (KKM). W związku z tym znajomość czynników i zjawisk związanych z retencją tych komórek ma kluczowe znaczenie w optymalizacji wyników klinicznych związanych z terapiami opartymi na KKM. Celem projektu jest określenie wpływu sygnałowania purynergicznego na zjawisko retencji KKM ze szczególnym uwzględnieniem odnowy hematologicznej niszy szpiku kostnego z zastosowaniem krwiotwórczych komórek macierzystych.

Dokładne poznanie procesów, czynników oraz zjawisk biorących udział w mechanizmie odnowy hematologicznej nisz szpikowych z zastosowaniem KKM z krwi obwodowej pozwoli na pełniejsze i bardziej wydajne wykorzystanie metod transplantacji KKM.

Zostanie dokonane oznaczenie parametrów hematologicznych myszy w stanie fizjologicznym. W 2-gim etapie

badania zostanie zaindukowana odnowa hematologiczna za pośrednictwem przeszczepionych krwiotwórczych komórek macierzystych u myszy poddanych kondycjonowaniu do przeszczepu z pomocą promieniowania γ . W trakcie eksperymentów zostanie pobrana krew z żyły głównej do analizy hematologicznej.

Powyższy opis obejmuje badania biologiczne o charakterze podstawowym obejmujące zagadnienia hematologiczne. Wzorując się na dostępnej literaturze oraz własnym doświadczeniu, organizm zwierząt nie reaguje negatywnie na wykorzystane w badaniu środki farmakologiczne.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu zaplanowano wykorzystanie zwierząt z gatunku *Mus musculus* w liczbie 100:

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono obecny stan wiedzy na realizowany temat w przedstawionym doświadczeniu w następujących bazach danych: Google Scholar, PUBMED, ScienceDirect, Web of Science, wykorzystując słowa kluczowe: CD73, CD39, purynergic signaling, hematopoietic stem/progenitor cells (HSPCs), hematopoietic recovery.

Model myszy zakłada wykorzystanie szczepu: C57Bl/6, był on szczepem wyjściowym dla myszy z defektem CD73 i CD39, na których przeprowadzono doświadczenia opisane w pracy „Novel evidence that extracellular nucleotides and purinergic signaling induce innate immunity-mediated mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells”.

Plan przedłożonego doświadczenia obejmuje zagadnienia związane z rozwojem wiedzy na temat mechanizmów odnowy hematologicznej szpiku kostnego z pomocą krwiotwórczych komórek macierzystych przy udziale sygnałowania purynergicznego. Badania przeprowadzone przez nasz zespół wykazały wpływ sygnałowania purynergicznego na zjawisko odnowy hematologicznej nisz szpikowych, jednak niezbędne są dalsze badania w celu uszczegółowienia uzyskanych wyników. Badając poszczególne szlaki prowadzące do odnowy hematologicznej nisz szpikowych oraz aby wskazać udział sygnałowania purynergicznego w tych procesach niezbędne są dalsze badania.

Skuteczność przeszczepu krwiotwórczych komórek macierzystych zależy od wielu parametrów. W związku z tym znajomość czynników i zjawisk związanych z procesem odnowy hematologicznej niszy szpikowej, ma kluczowe znaczenie w optymalizacji wyników klinicznych związanych z terapiami komórkowymi. Dane uzyskane w planowanym doświadczeniu dostarczą kluczowych informacji na temat roli sygnałowania purynergicznego i nukleotydów zewnątrzkomórkowych w odnowie hematologicznej szpiku kostnego z pomocą krwiotwórczych komórek macierzystych.

Metodyka doświadczenia została oparta na publikacjach traktujących o tematyce odnoszącej się do retencji,

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

mobilizacji, wszczepienia, zasiedlenia oraz odnowy hematologicznej przez KKM, znajdujących się w renomowanych czasopismach.

Zastąpienie

Modele zwierzęce myszy zostały wybrane do zaplanowanych doświadczeń ze względu na swoją użyteczność w badaniach związanych z sygnałowaniem purynergicznym. Na etapie badań podstawowych jest to najlepszy materiał do badań in vivo. Z uwagi na złożoność układu krwiotwórczego, szeregu zjawisk oraz ilości czynników mających wpływ na farmakologiczną mobilizację KKM z niszy szpikowej do krwi obwodowej, niemożliwe jest przy obecnej wiedzy i technologii przeprowadzenie analizy metodami in vitro, z udziałem linii komórkowych, hodowli tkankowych lub in vivo przy pomocy zwierząt bezkręgowych.

Ograniczenie

Korzystając z narzędzi pozwalających oszacować liczebność grupy w doświadczeniu planowane jest zbadanie łącznie 170 osobników uwzględniając przy tym dwukrotne powtórzenie eksperymentu (wymóg statystyczny) w celu wykluczenia możliwości błędu lub przypadkowego (losowego) otrzymania wyników. Jest to najmniejsza liczba zwierząt jaką możemy użyć celem prawidłowego przeprowadzenia doświadczenia.

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. Nasz zespół posiada znaczne doświadczenie w pracy ze zwierzętami, a wszystkie procedury zostały zaplanowane na podstawie uzyskanej przez nas dotychczas wiedzy wyniesionej z eksperymentów przeprowadzonych z przeszłości tak, aby ryzyko niepowodzenia i konieczności powtarzania wnioskowanego doświadczenia zostało zminimalizowane. W trakcie uśmiercania zwierząt zostanie wykorzystana ksylazyna/ketamina, aby jak najbardziej zredukować stres i ból myszy.

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.