

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: "Heterogenność i mechanizm regeneracji śródbłónka w niszy szpikowej"
2. Czas trwania projektu: 12 miesięcy
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): nisza szpikowa, śródbłonek, regeneracja, mobilizacja, fagocytoza
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.

Szpik kostny jest miejscem, w którym powstają wszystkie komórki krwi w organizmie. Za produkcję komórek krwi odpowiadają bardzo rzadkie hematopoetyczne komórki macierzyste (HSC – ang. *hematopoietic stem cells*). Do prawidłowego przebiegu procesu hematopoezy niezbędne jest specyficzne środowisko jakim jest nisza szpikowa. Wśród komórek stanowiących niszę najważniejsze, ze względu na rolę w podtrzymaniu i regulacji funkcjonowania HSC, są komórki śródbłónka naczyń krwionośnych (EC – ang. *endothelial cells*). Wydzielają one także czynniki regulujące migracje komórek hematopoetycznych ze szpiku do krwioobiegu.

Wiadomo, że populacja komórek śródbłónka jest heterogenna. Można wyróżnić dwa główne typy naczyń – większe sinusoidy i mniejsze arteriole. Podejrzewa się istnienie rzadkich komórek macierzystych EC, które mogą się dzielić i odtwarzać niszę naczyń w przypadku jej zniszczenia. Do zaburzeń w niszy dochodzi między innymi podczas stosowania standardowych procedur w hematologii (naświetlanie, chemioterapia, mobilizacja podczas przeszczepiania szpiku). Poznanie, które komórki są odpowiedzialne za odbudowę naczyń krwionośnych w szpiku kostnym ma więc kluczowe znaczenie kliniczne.

We wcześniejszych badaniach zostały zidentyfikowane nowe frakcje EC oraz poznano kilka markerów, które mogą charakteryzować komórki dające początek sinusoidom i arteriolom.

Celem projektu jest charakteryzacja jakościowa i funkcjonalna heterogennej populacji komórek śródbłonka naczyń krwionośnych w szpiku kostnym. Ponadto poznanie mechanizmów regeneracji unaczynienia w szpiku kostnym, które jest kluczowe dla procesu powstawania nowych komórek krwi dla całego organizmu, ma potencjalne znaczenie kliniczne.

W pierwszej części projektu planuje się zbadanie heterogenność śródbłonka i jego zdolność do fagocytozy oraz do tworzenia nowych naczyń krwionośnych *in vivo*.

W drugiej części projektu planuje się dokładniej scharakteryzować mechanizmy regeneracyjne naczyń krwionośnych po zniszczeniu lub zaburzeniu ich struktury w wyniku trzech standardowych procedur stosowanych klinicznie tj. po zniszczeniu szpiku promieniowaniem jonizującym (mieloablacji), chemioterapii i mobilizacji HSC.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa, 141 szt.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasada zastąpienia:

Obecnie prowadzenie badań nad niszą szpikową w warunkach *in vitro* jest mocno ograniczone. Do tej pory nie udało się odtworzyć tej skomplikowanej struktury w hodowli komórkowej. Dodatkowo proces mobilizacji szpiku oraz regeneracji niszy szpikowej możliwy jest do zaobserwowania tylko przy wykorzystaniu zwierząt kręgowych. Przedstawiony projekt został oparty o zasadę 3R w celu maksymalnego ograniczenia ilości wykorzystanych zwierząt.

Przystępując do planowania doświadczeń zapoznaliśmy się z obecnie dostępną literaturą fachową (baza danych PubMed oraz Google Scholar, szukane hasła: *bone marrow niche, regeneration, endothelial cells, phagocytosis, mobilisation*) pod kątem badań nad charakterystyką i funkcjami śródbłonek w szpiku kostnym.

Na podstawie informacji z przeszukanych baz danych stwierdzamy, że dotychczas nie prowadzono badań nad zdolnościami komórek EC w szpiku do fagocytozy ani nad regeneracją naczyń krwionośnych w podanym układzie doświadczalnym.

Zasada ograniczenia:

Kierując się zasadą 3R oraz na podstawie posiadanego doświadczeniem dobraliśmy minimalną liczbę zwierząt, która zapewni istotność statystyczną uzyskanych wyników.

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

W celu zapewnienia jednorodności próby w obrębie układu doświadczalnego oraz jej minimalizacji do eksperymentów dobrane zostaną zwierzęta w podobnym wieku, tej samej płci oraz o zbliżonej masie ciała.

Członkowie zespołu mają doświadczenie w zaawansowanych technikach sortowania rzadkich populacji i przeszczepach komórkowych. Dzięki temu mogliśmy zminimalizować liczbę zwierząt w poszczególnych grupach eksperymentalnych.

Zasada udoskonalenia:

Posiadamy wieloletnie doświadczenie w badaniach nad komórkami szpiku kostnego. Członkowie zespołu są także doświadczeni w przeszczepach komórek, podawaniu dootrzewnowego i do zatoki oczodołowej, a także naświetlaniu zwierząt, co pozwoli zminimalizować czas przeprowadzania procedur oraz stres zwierząt.

Posiadany przez nas nowoczesny sprzęt pozwala na izolację niewielkich ilości komórek z rzadkich populacji, dzięki czemu ograniczyliśmy liczbę potrzebnych zwierząt.

Wszystkie zwierzęta są hodowane w warunkach SPF (ang. Specific Pathogen Free) w klatkach indywidualnie wentylowanych co jest istotne dla zapewnienia dobrostanu zwierząt.

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.