

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „**Ocena fizjologicznej zdolności proliferacji i samo odnawiania pneumocytów II rzędu oraz oskrzelowo-pęcherzykowych komórek macierzystych w różnych stadiach wywołanego uszkodzenia płuc**”

2. Czas trwania projektu 01.10.2018 r. – 01.10.2022 r.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) regeneracja, komórki macierzyste, pneumocyty II rzędu, oskrzelowo-pęcherzykowe komórki macierzyste płuc, bleomycyna

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.

Wyniki tych badań mogłyby potwierdzić założenie, że uszkodzenie płuc jest czynnikiem stymulującym pneumocyty II rzędu oraz oskrzelowo-pęcherzykowe komórki macierzyste płuc do zwiększenia ich fizjologicznej zdolności namnażania i różnicowania się w komórki innego typu. Otrzymanie wyników potwierdzających tę hipotezę bezpośrednio przyczyni się do podjęcia próby pozaustrojowego namnażania komórek macierzystych płuc mogących w przyszłości być wykorzystywane do zwiększenia potencjału regeneracyjnego tego narządu.

Celem naszych badań jest ocena fizjologicznej zdolności przekształcania się w inne komórki i samo odnawiania pneumocytów II rzędu (AT2) oraz oskrzelowo-pęcherzykowych komórek macierzystych (BASC) powstałych w odpowiedzi na uszkodzenie płuc w różnych etapach tego uszkodzenia. Do tego celu niezbędne jest wyizolowanie

komórek AT2 oraz BASC z odpowiednio przygotowanych płuc, a następnie założenie hodowli organoidów, czyli hodowli struktur imitujących prymitywną tkankę płuc, które po 21 dniach zostaną zebrane i poddane analizie.

Zwierzęta, którym zostanie podany czynnik uszkadzający płuca, nie spowoduje cierpienia zwierząt w czasie prowadzonego eksperymentu. Czynnik uszkadzający płuca będzie powodował eliminację części komórek w płucach. Będzie to proces zajmujący ok. 2-3 tygodni. Proces ten nie będzie powodował żadnego bólu ani dyskomfortu. Pomimo tego zwierzęta będą regularnie monitorowane, aby zapewnić im maksimum dobrostanu.

Zaplanowane doświadczenie jest bardzo ważne, gdyż w sposób istotny dotyka problemu regeneracji płuc koniecznych w różnego rodzaju stanach patologicznych. AT2, jak również BASC stanowią bardzo mało liczne populacje komórek płuc (5-10% ogółu komórek płuc), które bezpośrednio odpowiadają za regenerację tego narządu. Opisywane komórki są wrażliwe na uszkodzenia, co jest powodem powolnej i często niewystarczającej regeneracji płuc. W związku z tym pojawia się konieczność opracowania skutecznej metody ich izolacji z uszkodzonych płuc, namnażania i ich różnicowania pozaustrojowego (in vitro), a następnie wszczepienia do uszkodzonego narządu.

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

Do doświadczenia zaplanowano wykorzystanie łącznie 108 myszy szczepu C57BL/6J.

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

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono obecny stan wiedzy na temat realizowany w przedstawionym doświadczeniu w następujących bazach danych: Google Scholar, PUBMED, ScienceDirect, Web of Science, wykorzystując słowa kluczowe: alveolar type 2 cells, bronchoalveolar stem cells, bleomycin, lung self-renewal. Przedłożony plan doświadczenia obejmuje problematykę fizjologicznej zdolności proliferacji i samo odnawiania pneumocytów II rzędu oraz oskrzelowo-pęcherzykowych komórek macierzystych (BASC, ang. bronchioalveolar stem cell) powstałych w odpowiedzi na uszkodzenie płuc na różnych etapach tego uszkodzenia.

Model szczepu myszy C57BL/6J został wybrany do zaplanowanego doświadczenia ze względu na swą użyteczność w badaniach związanych z zaburzeniami pracy płuc oraz rozwojem schorzeń tego narządu. Szereg publikacji wskazuje, iż model mysi jest kompatybilny z modelem ludzkim pod względem

---

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

mechanizmów rozwoju przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (COPD).

Zaplanowane doświadczenie zakłada również użycia hodowli organoidów in vitro i ustalenie dokładnego/powtarzalnego protokołu, który w przyszłości pozwolić może na zwiększeniu ilości badań prowadzonych w warunkach in vitro, a tym samym zmniejszenie ilości doświadczeń wymagających układu in vivo.

Zgodnie z zasadą zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia podjęliśmy starania, aby użyta liczba zwierząt do tego doświadczenia była optymalna. Niestety z uwagi na złożoność układu jakim jest środowisko płuc, niemożliwe jest odtworzenie tych warunków i przeprowadzenia tego doświadczenia in vitro. Ilość zwierząt w grupach dostosowaliśmy do stosowanych w tego typu badaniach modeli statystycznych oraz do tzw. „dobrej praktyki laboratoryjnej”.

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 ~500cm<sup>2</sup> zapewniają komfort przestrzenny zwierzętom.

W doświadczeniu planowane jest zbadanie łącznie 108 osobników uwzględniając przy tym trzykrotne powtórzenie eksperymentu (dobry zwyczaj naukowy) w celu wykluczenia możliwości błędu lub przypadkowego (losowego) otrzymania wyników.

Nasz zespół posiada znaczące doświadczenie w pracy ze zwierzętami, włączając w to szczep myszy C57BL/6J, 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.

#### 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.