

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: "Zbadanie wpływu mikropęcherzyków z komórek macierzystych iPS na efektywność hematopoetyczną *in vivo* ludzkich komórek CD34+ izolowanych z krwi pępowinowej"

2. Czas trwania projektu 01.10.2016-01.10.2017

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): rekonstrukcja szpiku, komórki macierzyste krwiotwórcze krwi pępowinowej, hematopoeza, indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (iPS), mikropęcherzyki zewnątrzkomórkowe (EVs)

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.

Celem doświadczenia będzie analiza wpływu mikropęcherzyków zewnątrzkomórkowych (ang. *extracellular vesicles*; EVs) wydzielanych przez ludzkie indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (ang. *human induced pluripotent stem cells*; hiPS) na efektywność terapeutyczną *in vivo* ludzkich komórek macierzystych hematopoetycznych (KMH) izolowanych z krwi pępowinowej, posiadających ekspresję markera CD34+.

Planuje się procedurę przeszczepu KMH uprzednio namnożonych w hodowli *in vitro* i inkubowanych

bez (komórki kontrolne) lub w obecności mikropęcherzyków. Tak przygotowane komórki zostaną podane dożylnie (do naczyń zatoki oczodołowej) u naświetlonych subletalnie myszy szczepu NOD/SCID. W określonych punktach czasowych planuje się pobieranie tkanek (krew obwodowa, szpik kostny, śledziona) z myszy z każdej z grup, w celu określenia wpływu podania komórek CD34+ po ich inkubacji z hiPS-EVs na kinetykę i efektywność zasiedlania przez nie nisz hematopoetycznych oraz rekonstrukcji układu krwionośnego.

Przeprowadzenie eksperymentu objętego niniejszym wnioskiem pozwoli na poszerzenie wiedzy w zakresie aktywności parakrynej hiPS-EVs oraz ich potencjalnego wpływu na zwiększenie potencjału hematopoetycznego komórek z krwi pępowinowej. Badania te są nowatorskie i istotne nie tylko dla rozwoju nauki w obrębie biologii komórki, ale przede wszystkim dla możliwości aplikacyjnego zastosowania komórek macierzystych krwi pępowinowej, jako atrakcyjnej alternatywy dla bardziej inwazyjnych przeszczepów szpiku kostnego, w szczególności w układzie allogenicznym.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa (*Mus musculus*) szczepu NOD/SCID, samice, 8-o tygodniowe, 158 sztuk.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

☐_X_EBSCO; ☐_X_PUBMED; ☐_X_Google Scholar; ☐_X_AGRICOLA; ☒_X_ScienceDirect; ☐_X_Web of Science (JCR);

Wykorzystano słowa kluczowe:

bone marrow reconstitution/ extracellular vesicles/ induced pluripotent stem cells/ hematopoiesis/ NOD/SCID mice

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

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdza się że:

zgodnie z naszym stanem wiedzy do tej pory nie przeprowadzono analogicznego eksperymentu mającego na celu analizę wpływu hiPS-EVs na potencjał funkcjonalny hematopoetycznych komórek macierzystych izolowanych z krwi pępowinowej.

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że:

mikropęcherzyki izolowane z komórek iPS mogą wykazywać potencjał do wpływania na właściwości funkcjonalne komórek, jednak ich efekt wymaga potwierdzenia w mysim modelu *in vivo*.

B. Brak jest danych dotyczących:

wpływu mikropęcherzyków z ludzkich komórek iPS na potencjał hematopoetyczny komórek z krwi pępowinowej w modelach zwierzęcych *in vivo*.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

poszerzenie wiedzy w zakresie aktywności parakrynej hiPS-EVs i ich wpływu na zwiększenie potencjału terapeutycznego komórek z krwi pępowinowej.

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku:

biologii komórek macierzystych hematopoetycznych, a także aktywności parakrynej komórek iPS oraz ich mikropęcherzyków w kontekście zwiększenia właściwości funkcjonalnych komórek izolowanych z krwi pępowinowej.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na

możliwości aplikacyjnego zastosowania hiPS-EVs do zwiększenia możliwości wykorzystania krwi pępowinowej, jako atrakcyjnej alternatywy dla inwazyjnych przeszczepów szpiku kostnego.

W planowanym doświadczeniu uwzględniono następujące zasady:

- zastąpienia- Osiągnięcie planowanego celu naukowego jest niemożliwe bez wykorzystania zwierząt laboratoryjnych, a eksperyment został zaprojektowany zgodnie z przyjętymi standardami

zweryfikowanymi na podstawie danych literaturowych.

- ograniczenia- Liczba zwierząt wykorzystywanych w eksperymencie została ograniczona do minimum niezbędnego dla wiarygodnej interpretacji wyników w celu osiągnięcia planowanego celu naukowego.

- udoskonalenia- Przebieg eksperymentu, w tym warunki utrzymania zwierząt oraz planowane procedury i metody badawcze zostały tak zaplanowane, aby ograniczyć cierpienie i dystres zwierząt. Myszy będą utrzymywane w pomieszczeniach i klatkach minimalizujących ryzyko infekcji i zapewniających optymalne warunki temperatury oraz wilgotności. Zwierzęta poddane procedurom będą poddawane znieczuleniu w celu znaczącego ograniczenia ich stresu i cierpienia. Zostaną także uśmiercone w sposób humanitarny z zastosowaniem odpowiednich środków farmakologicznych.