

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Optymalizacja dawki i czasu podawania oraz ocena bezpieczeństwa stosowania CoPP.

2. Czas trwania projektu: 1 rok

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): granulocyty, HSC, mobilizacja, G-CSF, CoPP

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.

W normalnych warunkach komórki krwi powstają z krwiotwórczych komórek macierzystych (HSC) w szpiku kostnym i są stopniowo uwalniane do krwi obwodowej. Natomiast, w przypadkach stresowych, takich jak zapalenie, dochodzi do mobilizacji, czyli gwałtownego wyrzutu komórek ze szpiku do krwi. Mobilizacja może być także indukowana farmakologicznie, co znajduje zastosowanie w terapii chorób nowotworowych: żeby pozyskać komórki macierzyste do przeszczepienia (jako alternatywa dla biopsji szpiku kostnego) oraz do zwiększenia liczby granulocytów u pacjentów po chemioterapii. Standardowym lekiem do mobilizacji jest rekombinowane białko G-CSF (czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów) - białko produkowane w bakteriach. Niestety w 5-30% przypadków lek ten okazuje się nieskuteczny. Dlatego celem projektu jest opracowanie nowej strategii mobilizacji, która mogłaby pomóc takim pacjentom.

Wcześniejsze badania wykazały, że podanie myszom protoporfiryny kobaltu (CoPP) indukuje zwiększenie stężenia endogennego G-CSFu i skutecznie mobilizuje komórki ze szpiku do krwi, nie powodując jednocześnie żadnych skutków ubocznych u zwierząt.

Z literatury wiadomo, że efekt podania rekombinowanego leku różni się od efektu działania endogennego czynnika, między innymi ze względu na inny czas półtrwania białka. Dlatego w zaproponowanych doświadczeniach planowane jest sprawdzenie, w jakim czasie po podaniu CoPP następuje największy wzrost ilości krwiotwórczych komórek macierzystych oraz granulocytów we krwi, a także jak długo obserwowany efekt się utrzymuje.

Wykonanie opisanych doświadczeń pozwoli na opracowanie schematów podawania CoPP zapewniających najbardziej efektywną mobilizację granulocytów i krwiotwórczych komórek macierzystych.

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

Mysz domowa, 220 osobników.

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

Mając na uwadze konieczność ograniczania liczby oraz ochrony wykorzystywanych w doświadczeniach zwierząt w przedstawionym projekcie doświadczeń uwzględniono zasadę 3R.

Zasada zastąpienia:

Podczas opracowywania planu doświadczeń dokonano przeglądu aktualnej literatury specjalistycznej w dostępnych bazach danych (baza danych PubMed oraz Google Scholar, szukane hasła: bone marrow niche, HSC mobilisation, mobilizing factor, G-CSF, CoPP) w celu określenia dostępnych metod badania aktywacji procesu mobilizacji komórek ze szpiku kostnego do krwi obwodowej. Środki wykorzystywane do indukcji mobilizacji komórek znajdujących się w szpiku kostnym ciągle posiadają istotne ograniczenia. Obecnie testowanych jest w próbach klinicznych kilka nowych czynników do

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

mobilizacji, co potwierdza zapotrzebowanie na nowe rozwiązania. Przełamanie istniejących ograniczeń mobilizacji wymaga opracowania nowej strategii, wykorzystującej inną zasadę działania niż obecne. Jedną z sugerowanych wcześniej możliwości jest indukcja endogennego G-CSF. Przewidywany projekt zakłada przedkliniczną walidację nowej strategii mobilizacji komórek HSC do krwi obwodowej, dlatego sam model badawczy wyklucza inne metody mogące zastąpić wykorzystanie zwierzęcia kręgowego oraz wykonanie proponowanych badań w układzie *in vitro*.

#### Zasada ograniczenia:

Podejmując próby ograniczenia liczby zwierząt wykorzystywanych do doświadczeń dobrano liczebność w grupach doświadczalnych pozwalającą na dostateczne zapewnienie istotności statystycznej uzyskanych wyników przy ograniczonej liczbie dostępnych podejść, dlatego dobrano najściślej obecnie zdefiniowane markery powierzchniowe używane do identyfikacji mysich granulocytów i komórek HSC. Przebieg badań został ustalony w oparciu o wcześniejsze wyniki dotyczące tej samej tematyki badawczej. Kierując się dobrem zwierząt wykorzystywanych w badaniach laboratoryjnych wybrano osobniki w zbliżonym wieku i masie ciała oraz tej samej płci, w ilości minimalnej pozwalającej na zapewnienie jednorodności próby uzyskanych wyników. Dodatkowo zdecydowano się ograniczyć liczbę zwierząt w grupach kontrolnych.

#### Zasada udoskonalenia:

Wszystkie doświadczenia zostały zaplanowane z dbałością o czas trwania procedur, w których uczestniczą zwierzęta oraz dostępne sposoby analizy pobieranego materiału. Zwierzętarnia jest przystosowana do hodowli myszy transgenicznych oraz z niedoborem odporności (zwierzętarnia działająca w systemie SPF, z indywidualnie wentylowanymi klatkami). Zwierzęta będą przebywały w klatkach w liczbie max. 5 myszy/klatkę, z umożliwiającym kontaktem wzrokowym i węchowym oraz ze stałym dostępem do wody i pokarmu. Zwierzęta będą miały zapewniony, zgodnie z wytycznymi Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE oraz nowej Ustawy z dn. 15 stycznia 2015 r, wysoki standard życia, odpowiednie warunki bytowe i urozmaicone środowisko (gryzaki, materiał gniazdowy). Pokoje są w pełni przystosowane do przeprowadzania wszystkich czynności związanych z opieką nad zwierzętami oraz eksperymentami w sterylnych warunkach. Obiekt spełnia wszystkie wymogi ustawowe i jest zarejestrowany do utrzymania i hodowli zwierząt laboratoryjnych.

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.