

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Aktywność proliferacyjna komórek śródbłónka w niszy szpiku kostnego
2. Czas trwania projektu: 11 miesięcy
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): arteriole, endotelium, proliferacja, sinusoidy, szpik
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.

Nisza szpiku kostnego stanowi otoczenie niezbędne do prawidłowego funkcjonowania hematopoetycznych komórek macierzystych (HSC) i jest utworzone przez macierz zewnątrzkomórkową (ECM) zawierającą głównie kolagen oraz elementy komórkowe.

Populacja komórek w szpiku kostnym jest heterogenna. Szpik kostny zawiera gęstą sieć nerwowo-naczyniową, która jest utkana przez nerwy współczulne. Dominującym typem układu naczyniowego szpiku kostnego są duże ($> 50\mu\text{m}$ średnicy), rozgałęzione i fenestrowane sinusoidy o cienkiej ścianie, która składa się z pojedynczej warstwy komórek śródbłónka (EC). Fenestrowana natura EC umożliwia wymianę komórkową i molekularną między szpikiem a krwią. Drugim pod względem dominacji typem unaczynienia w szpiku kostnym są arteriole (niewielkie naczynia zbudowane z EC tworzące długie nierozgałęzione struktury), jednak nie wiadomo, czy wśród nich jest specyficzna, ściśle zdefiniowana

populacja oddziałująca z HSC. Istotny wpływ na zaburzenie tych oddziaływań oraz komunikacji międzykomórkowej w niszy może mieć jej zniszczenie. Dzieje się tak między innymi podczas stosowania standardowych procedur w hematologii (naświetlanie, chemioterapia, mobilizacja). Mając to na uwadze podejrzewa się istnienie szczególnej populacji wśród EC zdolnej do podjęcia podziałów i regeneracji naczyń. Inną możliwością jest nabycie tej zdolności przez różne typy komórek endotelialnych (plastyczność). Poznanie, które komórki są odpowiedzialne za odbudowę naczyń krwionośnych w szpiku kostnym ma więc kluczowe znaczenie kliniczne.

Celem projektu jest identyfikacja komórek śródbłónka naczyń krwionośnych w niszy szpikowej, które są aktywne proliferacyjnie i przez to zdolne do odtworzenia unaczynienia niszy szpiku kostnego po uszkodzeniu.

Projekt pozwoli potwierdzić, które komórki są odpowiedzialne za odbudowę naczyń krwionośnych w niszy. Wyniki doświadczeń mogą więc mieć potencjalne znaczenie kliniczne w rozwoju terapii przeciwnowotworowych oraz przyspieszeniu rekonwalescencji pacjenta dzięki stosowaniu terapii ukierunkowanych na stymulację naturalnych procesów naprawczych w niszy.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa (*Mus musculus*) liczba myszy 40

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Podczas opracowywania planu doświadczeń dokonano przeglądu aktualnej literatury specjalistycznej.

Zasada zastąpienia:

Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy nie jest możliwe wykonanie proponowanych badań w układzie in vitro ani na zwierzętach bezkręgowych. Zgromadzone podczas opracowań eksperymentów dane naukowe ze wskazanych źródeł potwierdzają brak prób określenia roli komórek śródbłónka w

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

regeneracji systemuaskularyzacji szpiku kostnego. Na podstawie analizy dostępnych wyników specjalistycznych oraz metodologii stosowanej w badaniach mikrośrodowiska jakim jest szpik kostny stwierdza się brak innych metod badawczych mogących zastąpić wykorzystanie zwierzęcia kręgowego w projekcie dotyczącym badania proliferacji komórek śródbłónka w niszy szpikowej z porównywalną efektywnością.

Zasada ograniczenia:

Mając na uwadze cel eksperymentu dobrano odpowiednie szczepy myszy z uwzględnieniem homogenności układu doświadczalnego, a więc zbliżonych wiekiem, masą ciała oraz płcią pojedynczych osobników, pozwalającą na uzyskanie założonego progu istotności statystycznej. Przebieg doświadczeń został opracowany w oparciu o wcześniejsze wyniki zespołu oraz próby z zastosowaniem analogicznych analiz i procedur z możliwie najmniejszą liczbą myszy. Zaproponowana liczba myszy zapewnia niezbędną liczbę powtórzeń konieczną do zapewnienia rozkładu normalnego obliczeń statystycznych przy obserwowanej znacznej wartości wariancji.

Zasada udoskonalenia:

W trakcie planowania procedur postanowiono wdrożyć metodę znakowania komórek w systemie Click-iT pozwalającą na optymalizację i wydajniejsze rozpoznawanie markerów komórkowych w porównaniu do klasycznych metod opartych na przeciwciałach. Technologia Click-iT umożliwi uzyskanie zadowalających wyników przy ograniczonej liczbie prób i mniejszej ilości materiału, a tym samym zwierząt laboratoryjnych (**zasada udoskonalenia i ograniczenia**). Nowoczesne zaplecze laboratoryjne oraz starannie dobrana metodologia mają za zadanie skrócić czas trwania poszczególnych etapów doświadczalnych z wykorzystaniem myszy i ograniczyć dystres odczuwany przez zwierzęta. Pomieszczenia służące do hodowli zostały wyposażone w klatki indywidualnie wentylowane oraz z dbałością o utrzymanie należytego komfortu grupy badawczej poprzez dostosowanie do hodowli w standardzie SPF (ang. Specific Pathogen Free).

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.

☒ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

☐ NIE