

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: *Rola kaspazy-4/5 i nie-kanonicznego inflamasomu w modelu sepsy i zapalenia płuc w nowym modelu myszy humanizowanych.*

2. Czas trwania projektu: *17 miesięcy.*

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): sepsa, zakażenie, mysz humanizowana, inflamasom

Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): *B. Badania translacyjne lub stosowane*

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 jest zbadanie roli jednego ze szlaków aktywacji komórek odpornościowych w złożonym, dwuetapowym modelu ciężkich zakażeń. Sepsa jest jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie, a jej leczenie wymaga często intensywnej terapii (w tym wentylacji mechanicznej). Ciężkie zakażenie wywołujące sepsę wpływa na układ odpornościowy, zwiększając podatność na wtórne infekcje, a procedury takie jak wentylacja mechaniczna dodatkowo upośledzają odporność organizmu. Z tych powodów, częstą przyczyną zgonów chorych z sepsą są wtórne zakażenia, do których dochodzi w trakcie hospitalizacji. Jak dotąd jedyną metodą leczenia sepsy i zakażeń jest podaż antybiotyków, jednak w obliczu rozwoju antybiotykooporności niezwykle potrzebne jest opracowanie innych metod leczenia, nakierowanych na modulację układu odpornościowego.

W naszym zespole od dawna prowadzimy zarówno badania podstawowe jak i kliniczne dotyczące ciężkich zakażeń gromadząc wiedzę niezbędną do planowania nowatorskich badań. Proponowane badanie dotyczy określenia roli ważnego szlaku wewnątrzkomórkowego w przebiegu złożonego mysiego modelu zakażenia jamy brzusznej, a następnie wentylacji mechanicznej i zapalenia płuc. Chcąc uzyskać wyniki istotne dla postępowania klinicznego badania muszą być prowadzone w organizmie żywym, ponieważ sepsa jest wynikiem nieprawidłowych interakcji pomiędzy wieloma narządami i układami. Ponieważ badane przez nas białka są inne u człowieka, a inne u myszy, w eksperymentach wykorzystamy myszy z niedoborem odporności, którym przeszczepiane będą ludzkie komórki krwiotwórcze. Dzięki temu, będziemy mieć unikalną możliwość zbadania ludzkich komórek odpornościowych w kontekście całego organizmu poddanego złożonej sytuacji klinicznej. W zaplanowanych doświadczeniach po operacyjnie wywołanym zakażeniu jamy brzusznej, a następnie bakteryjnym zapaleniu płuc wykonywana będzie wentylacja mechaniczna. Przed rozpoczęciem zabiegów zwierzęta otrzymają silne środki przeciwbólowe, które będą podawane przez cały czas trwania doświadczenia. Chociaż zwierzęta narażone będą na objawy zakażenia, będą otrzymywały leczenie podobne jak pacjenci z sepsą (opioidy, antybiotyki, płyn). W planowanym modelu śmiertelność nie powinna przekroczyć 10%, a dzięki częstej ocenie klinicznej zwierząt będziemy unikać agonii zwierząt, poprzez szybkie i humanitarne uśmiercenie ciężko chorych osobników. Szkodą dla zwierząt będzie śmierć na koniec eksperymentów. Jest to nowatorskie podejście w skali światowej nauki i umożliwi poznanie nowych mechanizmów odporności przeciwzakaźnej.

Spodziewamy się, że wyniki naszych badań pozwolą opracować nową terapię obniżającą śmiertelność w ciężkich zakażeniach.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek: mysz domowa

Liczba: 176 zwierząt

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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

Opracowując projekt sprawdziliśmy piśmiennictwo dotyczące planowanego eksperymentu w bazach: Pubmed, Web of Science, ScienceDirect, Google, Google Scholar. Jako słowa kluczowe wykorzystaliśmy „*sepsis, abdominal sepsis, septic mouse model, inflammasome, pneumonia, CLP, cecal ligation puncture, mechanical ventilation, humanized mice*”. Na podstawie przeczytanego piśmiennictwa stwierdzamy, że w literaturze światowej brak jest badań, które opisywałyby model „podwójnego uderzenia” w myszach humanizowanych, umożliwiającą analizę przebiegu i powikłań sepsy w klinice ludzkiej. W literaturze światowej nie znaleźliśmy też badań potwierdzających udział nie-kanonicznego inflamasomu w aktywacji i hamowania procesu odpornościowego w sepsie.

W naszym projekcie zgodnie z zasadą Refinement (zmniejszyć cierpienie, zapewnić dobrostan) zapewnimy myszom przebywanie w trakcie doświadczenia maksymalnie po 5 osobników w klatce ze wzbogaconym środowiskiem oraz zapewniamy terapię przeciwbólową, antybiotykoterapię i płynoterapię. Podobną terapię otrzymują chorzy leczeni na oddziałach intensywnej opieki. Opracowany przez nas model infekcji wprowadzający postępowanie podobne do tego jakie prowadzone jest w praktyce klinicznej dąży do ograniczenia cierpienia zwierząt. Osoby uczestniczące w doświadczeniu stale podnoszą swoje kompetencje w ramach samokształcenia, uczestnictwa w konferencjach Pollasa i projektach naukowych dotyczących badania sepsy

Zgodnie z zasadą Reducement (zredukować) zmniejszyliśmy liczbę badanych osobników do 8 jednej płci w grupie co zapewni nam możliwość rzetelnej analizy uzyskanych wyników.

Zgodnie z zasadą Replacement (zastąpić) wykonaliśmy przed planowaniem badań *in vivo* wykonaliśmy szereg badań *in vitro* i *in vivo* w modelu myszy z prawidłowym układem odpornościowym wykazaliśmy aktywację inflamasomu w komórkach hematopoetycznych pod wpływem bakterii *A. baumannii*, dlatego zaproponowane doświadczenia mają realne uzasadnienie i stanowią kontynuację prowadzonych prac. Nie możemy wykluczyć kolejnego doświadczenia z udziałem zwierząt laboratoryjnych przede wszystkim dlatego, że w eksperymentach *in vitro* i *ex vivo* poprzedzających proponowane w niniejszym wniosku badania, nie jesteśmy w stanie odtworzyć wszystkich zależności i czynników mających wpływ na badane procesy.

Nagromadzony wcześniej materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że planowane przez nas badania pozwolą na uzyskanie wyników, które dadzą podstawy do wprowadzenia nowych terapii immunomodulujących do badań klinicznych.

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.