

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Proteom makrofagów po ekspozycji na bakterie *P. aeruginosa* i *S. aureus* wyizolowane od pacjentów z mukowiscydozą

2. Czas trwania projektu 7 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) mukowiscydoza, biofilm, proteom, makrofag, pamięć immunologiczna

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.

Mukowiscydoza jest chorobą, w której obecność tworzących biofilm mikroorganizmów przyczynia się do niekontrolowanej zapalnej odpowiedzi układu odpornościowego – w konsekwencji komórki takie jak neutrofile i makrofagi powodują wyniszczenie tkanek. Istnieją dowody na to, że współistniejące zakażenia różnymi gatunkami drobnoustrojów korelują z ciężką postacią choroby, ale nieznane są mechanizmy, za pomocą których społeczności mikroorganizmów wpływają na profil białkowy i wydzielniczy komórek układu immunologicznego. Niniejszy projekt pozwoli na poszerzenie stanu wiedzy w tym zakresie i odpowiedź na pytania: jak środowisko biofilmu wpływa na fenotyp makrofagów oraz czy hiperzapalny profil sekrecji tych komórek może zostać skorygowany? Ostatnie

zagadnienie opiera się na stosunkowo niedawno odkrytemu zjawisku pamięci odporności wrodzonej – komórki takie jak makrofagi mogą zostać „wytrenowane”, aby lepiej radzić sobie z zakażeniami. Proponowane badania pozwolą na sprawdzenie, które czynniki ulegają zwiększonej ekspresji pod wpływem określonych komponentów biofilmu oraz skorelowanie ich z typowymi profilami sekrecji M1 i M2.

Do przeprowadzenia badań niezbędne jest wykorzystanie modelu zwierzęcego opartego o dootrzewnowe podanie roztworu tioglikolanu – jest to standardowa i dobrze opisana procedura o umiarkowanej dotkliwości pozwalająca na uzyskanie z wysoką wydajnością dużej ilości komórek układu odpornościowego o dużej plastyczności. Komórki zostaną następnie poddane działaniu zabitych komórek bakterii i grzybów wyizolowanych od chorych na mukowiscydozę, składnikami ścian komórkowych tych mikroorganizmów albo mieszanek powyższych komponentów. Oceniany będzie: 1) poziom wybranych cząsteczek sygnałowych (cytokin) 2) poziom białek wewnątrzkomórkowych – poprzez analizę proteomiczną.

Realizacja powyższych zadań przyczyni się do poszerzenia stanu wiedzy na temat wpływu mikrobiomu na układ odpornościowy w mukowiscydozie oraz może przyczynić się do opracowania nowych strategii terapeutycznych z wykorzystaniem treningu makrofagów.

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

Mysz domowa – 74 sztuki

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

Przygotowując projekt badawczy, przeprowadzono analizę danych literaturowych w zakresie objętym wnioskiem badawczym. Istnieją powiązania pomiędzy ciężkością choroby w przypadku mukowiscydozy, a występowaniem produkujących biofilm szczepów, zwłaszcza z gatunku *Pseudomonas aeruginosa*. Powiązано także występowanie mieszanych biofilmów z gorszą prognozą u chorych na mukowiscydozę, przeprowadzono także eksperymenty pokazujące różnice w transkryptomie

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

komórek układu odpornościowego pod wpływem niektórych mieszanych biofilmów. Brak jednak w literaturze danych na temat zmian proteomu i sekretomu makrofagów w zależności od działania pojedynczych komponentów mikrobiologicznych oraz ich kombinacji. Proponowany projekt pozwoli na uzupełnienie stanu wiedzy w tym zakresie i może w konsekwencji przyczynić się do opracowania w przyszłości nowych strategii terapeutycznych opartych na treningu makrofagów.

#### Zasada zastąpienia:

Nie jest możliwe zastosowanie alternatywnych modeli in vitro do zbadania fenotypu makrofagów. Plastyczność fenotypowa linii makrofagowych jest ograniczona, a użycie modelu zwierzęcego jest niezbędne do odpowiedzi na zadane pytania badawcze. Konieczne jest użycie zwierząt o układzie odpornościowym zbliżonym do ludzkiego, mysz domowa spełnia zaś to kryterium. Wykorzystanie modelu z dootrzewnowym podaniem tioglikolanu opiera się na procedurze o możliwie niskiej dotkliwości pozwalającej uzyskać komórki układu odpornościowego, które można poddawać następnie treningowi w warunkach in vitro.

#### Zasada ograniczenia:

W projekcie zaplanowano wykorzystanie możliwie najmniejszej liczby zwierząt. Liczba grup eksperymentalnych, liczba zwierząt na doświadczenie oraz liczba powtórzeń została ograniczona do minimum niezbędnego do uzyskania wiarygodnych wyników i została oparta zarówno na podstawie wcześniejszych doświadczeń jak i na podstawie analizy danych literaturowych.

#### Zasada udoskonalenia:

Zwierzętom zostaną zapewnione odpowiednie warunki bytowe, karmione będą odpowiednimi certyfikowanymi paszami bytowymi, a ich środowisko bytowe będzie wzbogacone. Dobrostan zwierząt będzie monitorowany przez opiekuna i eksperymentatora, a stan zdrowia kontrolowany przez lekarza weterynarii. Wybrane modele badawcze cechują się umiarkowaną dotkliwością, a dyskomfort i stres zwierząt będzie ograniczany do minimum poprzez zastosowanie lekkiej narkozy przed dootrzewnowym podaniem roztworu tioglikolanu. Wszystkie procedury przeprowadzane będą przez odpowiednio wykwalifikowany personel o odpowiedniej wiedzy i doświadczeniu w pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi.

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.