

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Wpływ białek szoku termicznego (HSP) na rozwój nabytego pęcherzowego oddzielenia się naskórka oraz łuszczycy w mysich modelach eksperymentalnych**

2. Czas trwania projektu 5 lat

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) **białka HSP, model EBA, model łuszczycowy, immunizacja.**

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **A i B**

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.

Choroby autoimmunizacyjne charakteryzują się utratą tolerancji immunologicznej na tkanki własne prowadząc do nadmiernej odpowiedzi immunologicznej i chronicznego procesu zapalnego. Mimo, że osiągnięto znaczne postępy w identyfikacji kluczowych mechanizmów zaangażowanych w rozwój wielu chorób autoimmunizacyjnych, terapia tej grupy schorzeń pozostaje wciąż wyzwaniem dla naukowców oraz lekarzy i w większości przypadków nadal obejmuje standardowe leczenie immunosupresyjne z wykorzystaniem kortykosteroidów i leków cytostatycznych. Rosnące zainteresowanie wśród naukowców w kontekście terapii tej grupy schorzeń (m.in. reumatoidalnego zapalenia stawów, RZS) skoncentrowało się na immunosupresyjnych (przeciwzapalnych) właściwościach białek szoku termicznego (ang. *heat shock proteins*, HSP) oraz przeciwciał skierowanych przeciwko tej grupie białek (anty-HSP). Celem niniejszego projektu jest zbadanie właściwości białek HSP oraz przeciwciał skierowanych przeciwko białkom HSP (anty-HSP) w kontekście terapii organo-

specyficznych chorób autoimmunizacyjnych, z wykorzystaniem dwóch eksperymentalnych mysich modeli skórnych chorób zapalnych, tj. nabytego pęcherzowego oddzielenia się naskórka (łac. *epidermolysis bullosa acquisita*, EBA) i modelu łuszczycowego. EBA oraz w pewnych sytuacjach łuszczyca u ludzi należy do tzw. chorób uciążliwych. Pacjenci z EBA, ze względu na oddzielający się naskórek od skóry właściwej, niezwykle cierpią, a ich terapia jest bardzo trudna i wciąż mało skuteczna. Niestety, indukcja modelu EBA jak również łuszczyca u myszy prowadzi do podrażnienia skóry i w związku z tym do częstego drapania się zwierząt i pojawienia się ran oraz strupów na ciele. Indukcja powyższych chorób u myszy może prowadzić do umiarkowanego dyskomfortu u zwierząt. Mimo to, powyższe objawy są stosunkowo dobrze znoszone przez zwierzęta i nie wymagają stosowania znieczulania. Siedzimy, że nasze obserwacje ugotują drogę do zastosowania terapii z wykorzystaniem białek HSP/anty-HSP u pacjentów z chorobami autoimmunizacyjno-zapalnymi skóry i ewentualnie innymi zaburzeniami ze strony układu immunologicznego.

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

Myszy **BALB/c** (n = **264**, 6-10 tygodniowe samice) będą pochodziły z Trójmiejskiej Akademickiej Zwierzętarńi Doświadczalnej (Centrum Badawczo-Usługowe, Gdański Uniwersytet Medyczny).

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

Zasada 3R została uwzględniona w oparciu o zalecenia wydawane przez European Animal Research Association (EARA), a także na podstawie danych z literatury, odpowiednich dla tego typu badań.

Podczas przygotowywania niniejszego projektu przeszukano między innymi bazy danych: PubMed, Google Scholar, Research Gate i Science Direct w zakresie tematyki objętej wnioskiem badawczym. Wykorzystano słowa kluczowe w j. ang.: białka HSP, model EBA, model łuszczycowy, immunizacja.

REDUCTION: Planuje się zastosować najmniejszą możliwą liczebność zwierząt zapewniającą minimalną ilość wyników wymaganą do przeprowadzenia wiarygodnej analizy statystycznej. Liczbę zwierząt oszacowano w sposób maksymalnie redukujący ich ilość do wymaganego statystycznie minimum dla każdej procedur. Ponadto, w doświadczeniu zamierza się pobrać jak największą ilość narządów i tkanek (krew obwodową, śledzionę oraz

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

fragmenty skóry) w celu wykonania oznaczeń kompleksowych. W planowanych badaniach stosowane będą nowoczesne metody badawcze w jednostce wyposażonej w odpowiednią infrastrukturę.

REFINEMENT: Aby ograniczyć dystres zwierząt podczas wykonywania poszczególnych procedur uwzględnia się staranne przeprowadzenie 14-dniowego *handlinu*, mającego na celu przyzwyczajenie zwierząt do osoby eksperymentatora oraz oswojenie z procedurą. Czas trwania poszczególnych etapów doświadczenia został skrócony do niezbędnego minimum. Dodatkowo, w celu ograniczenia dyskomfortu zwierząt podczas uśmiercania, bezpośrednio przed przzerwaniem rdzenia kręgowego zwierzęcia, mysz zostanie dodatkowo znieczulona za pomocą narkozy: 87.5 mg/kg Ketamina + 12.5 mg/kg Ksylazyna.

REPLACEMENT: Niniejszy projekt zakłada kompleksową ocenę efektów działania anti-HSP/HSP u zwierząt z EBA lub łuszczycą na poziomie objawów skórnych (lokalnych) oraz obwodowych (układ immunologiczny). Nasze wstępne badania wykazały, że obecność białek HSP lub mysich przeciwciał anti-HSP w hodowli mysich komórek układu immunologicznego prowadzi do ekspansji limfocytów T regulatorowych (Treg) lub stymulacji wydzielania przeciwzapalnej interleukiny 10 (IL-10) (Tukaj, 2017, dane niepublikowane). Brak jest alternatywnych metod badawczych, które umożliwiłyby charakterystykę ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej typowej dla EBA i łuszczycy w modelu komórkowym lub tkankowym. W badaniach in vitro nie jest możliwe pełne odzwierciedlenie rzeczywistych interakcji wybranych parametrów immunologicznych zaangażowanych w rozwój EBA lub łuszczycy z anti-HSP/HSP.