

## NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Wpływ beta-laktoglobuliny mleka krowiego i owalbuminy jaja kurzego na aktywność komórek regulatorowych T i komórek dendrytycznych**
2. Czas trwania projektu 3 lata
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) **allergia, mleko, komórki dendrytyczne i regulatorowe**
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **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

Celem planowanego doświadczenia jest zbadanie mechanizmu oddziaływania alergenów pokarmowych na komórki dendrytyczne i komórki regulatorowe T. Obie populacje są kluczowe w indukcji odpowiedzi immunologicznej do alergenów, szczególnie w indukcji tolerancji pokarmowej. Doświadczenie zakłada użycie 140 myszy szczepu wsobnego Balb/C, który jest dobrze opisanym modelem do badań immunologicznych. Myszy Balb/C łatwo indukują dużą ilość specyficznych do alergenu przeciwciał w tym również IgE – głównego wskaźnika IgE zależnej alergii pokarmowej. Badania zakładają wstępną ocenę immunogenności 7 niezależnych alergenów pokarmowych: standard b-laktoglobuliny, owalbuminy, mieszanina alfa-kazeiny i b-laktoglobuliny, mięso kurczaka, jajko, mleko, jogurt. Długoletnie badania, poparte przeglądem literatury, pozwalają nam zminimalizować grupy badawcze tego etapu do 5 sztuk (zasada 3R), by wyodrębnić dwa najbardziej immunogenne białka. W kolejnym

etapie indukujemy komórki dendrytyczne i regulatorowe, które po wysortowaniu z populacji limfocytów, zostaną przetransferowane do nieszczepionych myszy Balb/C. Myszy te otrzymywać będą dożołądkowo antygen. Porównanie odpowiedzi immunologicznej myszy przed i po transferze komórek pozwoli określić rolę komórek dendrytycznych i regulatorowych w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej. Będzie to krok w kierunku poznania możliwości indukcji tolerancji pokarmowej. Zastosowane procedury minimalizują stres i dyskomfort zwierząt. Eksperyment zakończony jest uśmierceniem zwierząt i pozyskaniem tkanek do dalszych eksperymentów oraz do dodatkowych badań wstępnych.

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.

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

**P1**- Etap 1, 40 szt. myszy szczepu wsobnego Balb/C, samice 4-6 tyg

**P2** – Etap 2, 80szt. myszy szczepu wsobnego Balb/C, samice 10-12 tygodni

**P3** – Etap 3, 20 szt. myszy szczepu wsobnego Balb/C, samice 8-10 tyg

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

**Zasada ograniczenia** — liczbę zwierząt zaplanowaną do doświadczenia ograniczono do minimum na tyle by mieć podstawę do weryfikacji postawionych hipotez oraz przeprowadzenia analiz statystycznych. Zasady dobrej praktyki laboratoryjnej oraz wcześniej opublikowane nasze wyniki uzyskane zarówno na modelu myszy Balb/C jak i C57 BL/6J wykazały, iż dwukrotnie powtórzony eksperyment biologiczny na grupie osobników liczącej 5 sztuk, pozwala na osiągnięcie istotności statystycznej w analizach ilościowych charakteryzujących zarówno odpowiedź humoralną (specyficzne przeciwciała) jak i odpowiedź immunologiczną na poziomie komórkowym (profil komórek T, cytokiny, zdolność komórek do podziału pod wpływem alergenów). Analizy z zastosowaniem testów: ANOVA z wykorzystaniem post- testów Tukey'a wykazały istotności na

poziomie  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ . W pierwszym etapie doświadczenia bazując na dotychczasowych doświadczeniach, możliwe będzie porównanie 7 alergenów, tworząc grupy po 5 sztuk na jeden alergen. Przeprowadzenie zaplanowanych analiz indywidualnie z każdej myszy pozwoli uzyskać odpowiednie dane do analizy statystycznej.

**Zasada zastąpienia** — przeprowadzone i opublikowane badania wykazały, iż szczep myszy Balb/C jest najlepszym i zatwierdzonym modelem badań o charakterze immunologicznym.

**Zasada udoskonalenia** – wszystkie zastosowane metody radykalnie minimalizują ból, cierpienie i stres jakich mogą doświadczać zwierzęta, i równie znacząco poprawiają ich dobrostan

Tkanki nie wykorzystane w planowanych projekcie (jelito grube i ślepe) będą elementem dodatkowych badań prowadzonych w Zakładzie Immunologii i Mikrobiologii Żywności (wpływ podawanych białek na mikroflorę jelita grubego oraz lokalną odpowiedź immunologiczną).

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną

- • TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- • TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- • NIE