

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Badanie wpływu *Pseudomonas aeruginosa* na funkcje komórek odpowiedzi wrodzonej w środowisku mukowiscydozy.**

2. Czas trwania projektu **36 miesięcy**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) mukowiscydoza, *Pseudomonas aeruginosa*, neutrofile, makrofagi

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

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 głównym projektu jest określenie wpływu środowiska mukowiscydozy na zmianę funkcji mysich neutrofili i makrofagów oraz określenie ich fenotypu w obecności bakterii *Pseudomonas aeruginosa* (PAR5) – głównego patogenu towarzyszącego mukowiscydozie. Imitacją środowiska mukowiscydozy będzie użycie tzw. sztucznej płwociny (artificial sputum medium-ASM). Badania będą uzupełnieniem prowadzonego jednocześnie projektu finansowanego przez NCN, w którym podjęta zostanie nowatorska próba indukcji pamięci makrofagów (niedawno odkryta właściwość makrofagów, do tej pory przypisywana tylko limfocytom) w leczeniu przewlekłego „neutrofilowego” zapalenia z towarzyszącym biofilmem bakteryjnym. Spodziewanym efektem obu projektów będzie poszerzenie wiedzy dotyczącej alternatywnych strategii leczenia tego typu schorzeń. Bezpośrednim efektem przedstawionego projektu

jest odpowiedź na pytanie czy i jak środowisko mukowiscydozy (w obecności takich patogenów jak *P. aeruginosa*) wpływa na fenotyp i aktywność wydzielniczą (sekretem) komórek odpowiedzi wrodzonej. W pierwszym etapie badań zwierzęta będą dawcami wymienionych komórek układu immunologicznego. W drugim etapie zwierzęta posłużą do badania *in vivo* modelu oceny zmiany fenotypu komórek układu immunologicznego pod wpływem bakterii w środowisku mukowiscydozy w komorach powietrznych na grzbiecie zwierzęcia. W obu przypadkach procedury są umiarkowane i będą przeprowadzane w lekkiej narkozie wziewnej, co w znaczący sposób złagodzi stres i odczuwanie ewentualnego dyskomfortu wywołanego ukłuciem igłą.

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

Do wybranych doświadczeń planujemy użyć myszy domowej szczepu C57BL/6 w ilości 264 sztuki, co podyktowane jest koniecznością wykonania merytorycznie poprawnych eksperymentów, zawierających grupy kontrolne, do których będzie można statystycznie porównać grupy obejmujące badane czynniki. W innym przypadku takie wyniki nie mogłyby zostać opublikowane.

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

### **Zasada zastąpienia:**

Aby oceniać zjawiska zachodzące w przebiegu odpowiedzi immunologicznej, a szczególności odpowiedzi wrodzonej niezbędne jest zastosowanie modeli zwierzęcych o zbliżonym układzie immunologicznym do człowieka, a takim zwierzętami są mysz. Nie istnieją także stabilne linie komórkowe neutrofili, a praca z takimi komórkami jest jedną ze składowych planowanych badań, gdyż część zwierząt będzie dawcami tego typu komórek układu immunologicznego. Użycie zaproponowanego mysiego modelu jest konieczne, ponieważ, na podstawie wiedzy dostępnej w bazach danych (PUBMED), stwierdzamy, że wciąż nie istnieją alternatywne modele pozwalające wiarygodnie odpowiedzieć na zadane pytanie badawcze. W przypadku badań nad wpływem środowiska mukowiscydozy na zmianę funkcji neutrofili i makrofagów oraz określenie ich fenotypu w obecności

---

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

bakterii testy *in vitro* są niewystarczające i nie ma możliwości zastąpienia zwierząt kręgowych innym modelem badawczym. Mysi model polegający na indukowaniu miejscowego stanu zapalnego w komorach powietrznych, jest najlepszym i o małej dotkliwości, modelem odzwierciedlającym interakcję pomiędzy układem immunologicznym, a bakteriami. Tym samym, badania które zamierzamy przeprowadzić umożliwią najbardziej dokładną ocenę wpływu bakterii na zmianę fenotypu komórek odpowiedzi wrodzonej.

#### **Zasada ograniczenia:**

Przygotowując projekt badawczy, została sprawdzona istniejąca wiedza w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazie danych: PUBMED. Wykorzystano słowa kluczowe: *Pseudomonas aeruginosa*, biofilm, neutrofile, makrofagi, polaryzacja komórek, trening makrofagów, mukowiscydoza, *Staphylococcus aureus*. Wnikliwe sprawdzenie wiedzy w danym temacie pozwoliło na ograniczenie liczby zwierząt do niezbędnego minimum. Do merytorycznie poprawnego przeprowadzenia eksperymentów oraz obliczeń statystycznych otrzymanych wyników niezbędne jest włączenie do badań *in vivo* grup kontrolnych, w innym przypadku takie wyniki nie mogłyby zostać opublikowane. Liczba powtórzeń eksperymentów także zostanie zmniejszona do minimum potrzebnego do prawidłowych obliczeń statystycznych.

#### **Zasada udoskonalenia:**

Wykorzystywane zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku, przy zastosowaniu odpowiedniej diety (certyfikowane pasze bytowe) i wzbogaceniu środowiska. Stały kontakt i pomoc ze strony lekarza weterynarii oraz codzienny monitoring ze strony opiekuna i eksperymentatora pozwoli na zapewnienie odpowiedniego dobrostanu zwierząt. Zwierzęta będą przebywały w pomieszczeniach innych niż pomieszczenia przeznaczone do wykonywania czynności takich jak szczepienie, eksperyment, uśmiercanie, co znacznie ograniczy ich stres i dyskomfort. Podawane zwierzętom roztwory będą miały temperaturę zbliżoną do temperatury myszy, co zapewni uniknięcie szoku temperaturowego oraz uczucia dyskomfortu. Podawane zwierzętom roztwory będą przygotowywane w warunkach jałowych. Odpowiednio dobrane grupy kontrolne zapewnią wiarygodność otrzymanych wyników. Aby nie narażać zwierząt na nadmierny stres i ból do badań wybrano modele badawcze, których dotkliwość jest umiarkowana, ponadto będą one przeprowadzane w lekkiej narkozie, co dodatkowo złagodzi stres. Wszystkie procedury będą przeprowadzane przez osoby

wykwalifikowane, posiadające odpowiednią wiedzę i doświadczenie w pracy ze zwierzętami.

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.