

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: *Wpływ ekspresji MCPIP-1 na regulację funkcji biologicznych i czasu życia neutrofili.*
2. Czas trwania projektu: 2 lata
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) neutrofile, apoptoza, MCPIP-1, stan zapalny
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.

Neutrofile są dominującą populacją ludzkich leukocytów, a ich czas życia oraz funkcje muszą podlegać ścisłej kontroli ze względu na deponowane w ich wnętrzu toksyczne czynniki bakteriobójcze. Zaburzony ich naciek, aktywacja, przebieg programowanej śmierci komórkowej granulocytów i ich późniejsza eliminacja przez profesjonalne fagocyty tkankowe przyczynia się do rozwoju stanów patologicznych, takich jak: przewlekła obturacyjna choroba płuc, reumatoidalne zapalenie stawów, czy zapalenie przyzębia. Zatem dokładne poznanie mechanizmów kontroli funkcji biologicznych tych komórek jest istotne klinicznie. Wyniki ostatnich badań przeprowadzonych na ludzkich granulocytach dowiodły, że białko MCPIP-1 odgrywa rolę w biologii neutrofili, w tym w regulacji procesu ich chemotaksji, czy śmierci komórkowej. Aby potwierdzić dane uzyskane *in vitro* planowane jest wykonanie eksperymentów angażujących zwierzęta charakteryzujące się wyciszeniem MCPIP-1 w fagocytach, które porównane zostaną do zwierząt typu dzikiego. U badanych zwierząt scharakteryzowany zostanie rozwój stanu zapalnego otrzewnej, w którym dominują neutrofile. Ocenione zostaną zarówno

fizjologiczne, podstawowe funkcje tych komórek, jak i mikrośrodowisko stanu zapalnego otrzewnej, w tym uwolnione do otrzewnej mediatory zapalenia. Dodatkowo, ze szpiku kostnego wyizolowane zostaną nieaktywne neutrofile, które również zostaną poddane analizie funkcjonalnej. Realizacja powyższych zadań poszerzy dotychczasową wiedzę na temat molekularnych mechanizmów działania neutrofili zwłaszcza w stanach zapalnych i pozwoli na zaprojektowanie skutecznych metod terapeutycznych w leczeniu schorzeń o takiej etiologii.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa, 24 sztuki

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Zasada zastąpienia

Przygotowując opisane wcześniej procedury, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w piśmiennictwie naukowym. Wykazano, że brak jest danych literaturowych, w szczególności w kontekście badań *in vivo* na temat wpływu badanego białka MCPIP-1 na proces regulacji funkcji neutrofili. Jednak dotychczasowe, niepublikowane wyniki uzyskane na neutrofilach ludzkich, pochodzących z krwi obwodowej zdrowych dawców, wskazują na znaczenie białka MCPIP-1 w regulacji funkcji biologicznych i przeżywalności granulocytów. Wyniki choć obiecujące, są jednak niewystarczające do jednoznacznej oceny roli badanego białka w regulacji funkcji neutrofili. Stąd, w projekcie planowane jest wykorzystanie zwierząt z selektywnym wyciszeniem białka MCPIP-1 w fagocytach. Uzyskane wyniki muszą zostać porównane do zwierząt typu dzikiego. Proponowane badania nie mogą zostać zastąpione badaniami *in vitro*, ponieważ w regulacji działania neutrofili istotne jest mikrośrodowisko stanu zapalnego. Ponadto, ze względu na czas życia tych komórek modyfikacje genetyczne są ograniczone.

Zasada ograniczenia

Liczba zwierząt i liczebność grup uwzględniona w poszczególnych procedurach została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia istotnie statystycznych wyników. Oszacowano ją na podstawie danych literaturowych. Wykonanie procedury dwukrotnie, umożliwi uzyskanie decydujących wyników.

Zasada udoskonalenia

Wszystkie zwierzęta będą miały zapewnioną przestrzeń życiową o wystarczającym poziomie zróżnicowania.

Dodatkowo, odpowiednie warunki bytowania zwierząt będą zapewnione dzięki odpowiednio przeszkolonemu personelowi zwierzętarni. Stan zdrowia zwierząt w trakcie trwania procedur będzie monitorowany, a w razie wystąpienia objawów komplikacji zdrowotnych, zwierzęta zostaną poddane natychmiastowej eutanazji. Zastosowana metoda pozwala na otrzymanie dużej liczby neutrofilów, które są w pełni dojrzałe i aktywne. Uzyskane granulocyty zostaną porównane pod względem funkcji życiowych do neutrofilów niedojrzałych, wyizolowanych z kości długich myszy. Oprócz tego zostanie porównana liczba komórek zrekrutowana do miejsca rozwoju stanu zapalnego oraz poziom mediatorów stanu zapalnego pomiędzy badanymi grupami zwierząt. Przeprowadzona ocena wyjaśni, czy brak MCP-1 w fagocytach warunkuje jedynie reaktywność granulocytów, czy prowadzi także do zmian systemowych, które zmieniając mikrośrodowisko stanu zapalnego wpływają pośrednio na funkcje neutrofilów.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną¹

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

☒ NIE

¹ Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.