

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Wpływ peptydów eksponowanych na powierzchni bakteriofagów na ich farmakokinetykę

2. Czas trwania projektu 01.02.2017 - 31.12.2019

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) bakteriofagi, peptydy kierujące, farmakokinetyka, bariera krew-mózg, układ pokarmowy

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.

Celem projektu jest określenie wpływu peptydów o udowodnionej zdolności do migracji z przewodu pokarmowego oraz pokonywania bariery krew-mózg na rozprzestrzenianie wirusów bakteryjnych (bakteriofagów) w organizmie.

Korzyści dla rozwoju nauki:

Terapia bakteriofagowa stanowi ważną alternatywę dla antybiotyków w leczeniu zakażeń bakteryjnych. Ma to duże znaczenie w obliczu narastającego problemu lekooporności i jest uzasadnieniem kierunku badawczego w proponowanym projekcie. Jednym z wyzwań jakie napotyka terapia fagowa jest uzyskanie odpowiednio wysokiego miana faga w zainfekowanych narządach. Peptydy kierunkowe stosowane są do

naprowadzania leków m.in. w terapii przeciwnowotworowej, jednak nie podjęto jeszcze prób wykorzystania ich w terapii antybakteryjnej. Niniejszy projekt zakłada wykorzystanie bakteriofagów (zwalczających infekcje bakteryjne) oraz selektywnych peptydów (posiadających zdolność pokonywania barier biologicznych) do skonstruowania fagów sprzężonych z peptydami w celu zwiększenia ich zdolności do penetracji w organizmie ssaczym. Ułatwiona migracja w organizmie skutkuje większą liczbą cząstek fagowych w miejscu infekcji, a w konsekwencji **większą efektywnością terapii**.

Na podstawie doniesień literaturowych wytypowane zostały peptydy o udowodnionej zdolności do penetracji z przewodu pokarmowego do krwi oraz przez barierę krew-mózg. Przy użyciu metody niewymagającej modyfikacji genomów bakteriofagowych zostały skonstruowane fagi eksponujące te peptydy na swojej powierzchni. Niniejsze badania mają zweryfikować ich zdolność do efektywnej migracji w organizmie ssaczym.

Przewidywane szkody u zwierząt:

Doświadczenie obejmuje podawanie myszom preparatów zawierających bakteriofagi (dożylnie oraz w wodzie pitnej) oraz pobieranie krwi z żyły ogonowej. W celu ograniczenia odczuwania bólu przy pobieraniu krwi zostaną zastosowane środki przeciwbólowe (miejscowo na ogon lidokaina). Wszystkie czynności zostały zaplanowane zgodnie z zasadami zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

147 myszy – samice BALB/c

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PUBMED, Google Scholar, ScienceDirect.

Wykorzystałam słowa kluczowe:

phages / bacteriophages / homing peptides / targeting peptides / circulation / blood-brain barrier / gastrointestinal mucosal barrier.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Prowadzone są liczne badania dotyczące wykorzystania peptydów do polepszenia transportu m.in. leków (Laakkonen i Vuorinen 2010 doi: 10.1039/c0ib00013b; Gautam et al. 2014 doi: 10.2174/0929867321666140217122100). Pomimo wykorzystania bakteriofagów filamentowych do typowania takich peptydów (Svensen et al. 2012 doi: 10.1016/j.tips.2012.02.002), brak jest doniesień na temat możliwości zwiększenia skuteczności terapii fagowej przy użyciu tych samych peptydów.

Z dotychczasowych badań wynika, że bakteriofagi tylko w niewielkim stopniu przedostają się z przewodu pokarmowego do krwi (Bruttin i Brüssow 2005 doi:10.1128/AAC.49.7.2874-2878.2005, Majewska et al. 2015 doi:10.3390/v7082845). Bariera krew-mózg natomiast w znacznym stopniu ogranicza dostęp do ośrodkowego układu nerwowego cząsteczkom w tym lekom. Przy jednoczesnej rosnącej antybiotykoodporności bakterii, skuteczne leczenie infekcji bakteryjnych stanowi ogromne wyzwanie (Nau et al. 2010 doi: 10.1128/CMR.00007-10).

Zasada zastąpienia – postawiony problem badawczy wymaga przeprowadzenia badań na modelu ssaczym. Nie ma możliwości badania cyrkulacji bakteriofagów na liniach komórkowych/tkankowych czy na zwierzętach o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego. Projekt został zaplanowany w oparciu o dotychczasowe badania cyrkulacji bakteriofagów w organizmie mysim przeprowadzone przez nasz zespół (Hodyra-Stefaniak et al. 2015 doi: 10.1038/srep14802) oraz dostępną literaturę dotyczącą badania peptydów penetrujących z przewodu pokarmowego do krwi, a także penetrujących przez barierę krew-mózg (Duerr et al. 2004 doi: 10.1016/j.jviromet.2003.11.012, Kang et al. 2008 doi: 10.1016/j.jbiotec.2008.01.021, Li et al. 2011 doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.03.031, Li et al. 2012 doi: 10.1007/s00726-011-0979-y).

Zasada ograniczenia – w oparciu o dotychczasowe doświadczenia została określona minimalna liczba osobników w każdej grupie przy typowym rozkładzie wyników, która zapewni znamienność statystyczną. Dodatkowo odpowiednie dobranie metod statystycznych pozwoliło na zredukowanie liczby myszy wykorzystanych w doświadczeniach. Ponadto wprowadzenie eksperymentu pilotażowego pozwoli na wyznaczenie czasu potrzebnego bakteriofagom na penetrację przez barierę krew-mózg, co umożliwi zredukowanie liczby myszy w procedurze.

Zasada udoskonalenia – wszystkie czynności zostały tak zaplanowane, aby maksymalnie zniwelować ból i stres zwierząt. Podczas pobierania krwi z żyły ogonowej ogon zostanie miejscowo znieczulony lidokainą, aby zniwelować odczuwanie bólu.