

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „***Rola białka MCPIP-1 w regulacji wrażliwości/tolerancji na endotoksynę bakteryjną (LPS)***”

2. Czas trwania projektu 2 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów)

tolerancja na endotoksynę, LPS, MCPIP-1, model myszy

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.

Lipopolisacharyd, endotoksyna (LPS) jest silnym induktorem reakcji układu immunologicznego, która jest niezbędna do skutecznej eliminacji bakterii gram ujemnych z organizmu gospodarza. Niestety nadmierne pobudzenie reakcji zapalnej może prowadzić do stanu septycznego, który może skończyć się śmiercią (West i Heagy, 2002). Wykazano, że istnieje mechanizm zabezpieczający przed nadmierną reaktywnością układu immunologicznego na LPS, a jest on wywołany wcześniejszą ekspozycją organizmu na niskie dawki endotoksyny. W ten sposób wysokie dawki LPS nie wywołują tak drastycznych uszkodzeń, a zjawisko to nazwano tolerancją na endotoksynę (ang. *endotoxin tolerance*). Podobnie jak sepsa, tak i tolerancja na LPS są procesami, których **molekularne podstawy nie zostały w pełni poznane**. W związku z powyższym **celem tego doświadczenia są badania podstawowe, które potwierdzą dane doświadczalne uzyskane w badaniach *in vitro*, wskazujące na istotną rolę białka MCPIP-1 w procesie wrażliwości/tolerancji na LPS**. Do badań wykorzystamy zwierzęta pozbawione ekspresji białka MCPIP-1 selektywnie w fagocytach (MCPIP1-Flox-M-lys-CRE - oznaczone w tekście jako k/o). Kontrolę będą stanowiły zwierzęta pozbawione kasety CRE (MCPIP1-Flox - oznaczone jako WT). W pierwszym etapie badań porównamy podatność zwierząt posiadających białko MCPIP-1 i tych pozbawionych jego obecności na działanie endotoksyny. W drugiej części eksperymentu sprawdzimy, czy białko MCPIP-1 odgrywa rolę w indukcji niewrażliwości na LPS wywołaną poprzedzającą dawką tego samego antygeny, czyli LPS. Ocenimy kliniczne parametry zdrowia zwierząt oraz zmiany na poziomie molekularnym. Badania te, pozwolą zidentyfikować rolę MCPIP-1 w reakcji organizmu na LPS i uzupełnić obraz zmian molekularnych determinujących podatność osobniczą na ten antygen.

West, M.A., and Heagy, W. (2002). Endotoxin tolerance: A review. Crit. Care Med. 30, S64–S73.

Koziel, J. et al. (2014). Citrullination alters immunomodulatory function of LL-37 essential for prevention of endotoxin-induced sepsis. J. Immunol. 192(11):5363-72.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Myszy MCPIP1-Flox (WT)
Myszy MCPIP1-Flox-M-lys-CRE (MCPIP-1 k/o)

144 sztuki

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Replacement/Zastąpienie

Przygotowując opisane wcześniej procedury, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych, m.in. EBSCO; PUBMED; Google Scholar; AGRICOLA; ScienceDirect; Web of Science (JCR) wykorzystując słowa kluczowe: endotoxin tolerance / induction of LPS tolerance / endotoxin tolerance MCPIP-1 / induction of LPS tolerance MCPIP-1 / endotoxin tolerance murine MCPIP-1.

Wprowadzenie do badań nad wrażliwością na LPS, bądź indukcją procesu tolerancji na ten antygen, modelu zwierzęcego jest niezbędne w celu ostatecznej weryfikacji roli poszczególnych komponentów molekularnych. Nie jest możliwe zastąpienie zwierząt laboratoryjnych przez inne alternatywne metody w tym projekcie, przykładowo badania *in vitro*. Badania *in vitro* mogą stanowić jedynie przesłankę do prowadzenia prac na zwierzętach, a w przypadku pozytywnych wyników badań *in vivo* mogą posłużyć do szczegółowej analizy np. przekazu sygnału komórkowego.

Reduction/ Zmniejszenie

Wszystkie myszy wykorzystane w tym projekcie pochodzą z chowu wsobnego, który w znaczący sposób zmniejsza ryzyko różnic osobniczych w eksperymencie. To powoduje, że wykorzystanie 10 myszy (k/o MCPIP-1) oraz 6 myszy (WT) jest wystarczające do przeprowadzenia doświadczenia. We wniosku w grupach doświadczalnych w każdej procedurze uwzględniono odpowiednio 30 myszy k/o MCPIP-1 oraz 18 myszy WT ze względu na chęć wykonania doświadczenia trzykrotnie, co pozwoli na uzyskanie wiarygodnych wyników badań *in vivo*. Wysoka liczba zwierząt typu MCPIP-1 k/o (10 zwierząt na grupę) jest niezbędna ze względu na udokumentowaną (w badaniach pilotowych charakteryzujących model zwierzęcy) zmienność spadku ekspresji MCPIP-1, którą determinuje ekspresja genu Cre (zwierzęta wykorzystywane w badaniach to heterozygoty Cre).

Refinement/Złagodzenie

Myszy będą utrzymywane po 5 osobników w klatkach w pełni wyposażonych w jedzenie i wodę. Wszystkie zwierzęta będą miały zapewnioną przestrzeń życiową o wystarczającym poziomie zróżnicowania. Dodatkowo, odpowiednie warunki bytowania zwierząt będą zapewnione dzięki odpowiednio przeszkolonemu personelowi zwierzętarni. Ponieważ planowana procedura zaliczana jest do kategorii dotkliwych, stąd planujemy stały (co 2 godziny) monitoring stanu zwierząt przez doświadczony personel. W razie wystąpienia objawów skrajnego wyczerpania, zwierzęta zostaną poddane natychmiastowej anestezji, jak opisano wcześniej (procedura 1, czynność 3).