

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „***Rola peptydu DAL-PEG-DK5 w zapobieganiu sepsy wywołanej endotoksyną bakteryjną (LPS)***”

2. Czas trwania projektu **1,5 roku**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5) **sepsa, LPS, DAL-PEG-DK5, 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 (LPS) jest silnym induktorem zapalenia, który stymuluje układ odpornościowy do produkcji cytokin prozapalnych, proteaz, eikozanoidów oraz reaktywnych form tlenu i azotu. Nadmierne pobudzenie reakcji zapalnej może prowadzić do sepsy, czyli tzw. szoku endotoksynowego. Sepsa charakteryzuje się gorączką, zaburzeniem pracy serca, ostrą niewydolnością oddechową, dysfunkcją wielu organów, a często kończy się śmiercią. Istnieje dobrze poznany i szeroko stosowany model sepsy otrzewnowej u zwierząt uczulonych D-galaktozaminą. Model ten zakłada uwrażliwienie zwierząt na toksyczne działanie endotoksyny poprzez podanie i.p. D-galaktozaminy (2-amino-2-deoxy-D-galaktozy). Opisany model zwierzęcy jest idealny do testowania związków znoszących działanie LPS, bowiem umożliwia zredukowanie stężenia podawanego i.p. LPS nawet o 3 rzędy wielkości, a tym samym umożliwia obniżenie dawki stosowanych związków blokujących działanie LPS. Badany peptyd jest koniugatem peptydu o działaniu antibakteryjnym (DK5) z peptydem wpływającym na regenerację tkanek (DAL). Badania *in vitro* dowiodły, że peptyd ma bardzo silne działanie antyzapalne związane z blokowaniem indukcji sygnału przez receptor TLR4 i CD14. Do badań wykorzystamy zwierzęta C57BL/6. Eksperyment podzielono na trzy części: (1) „Model oceny wpływu peptydu DAL-PEG-DK5 przez dootrzewnowe

jego podanie” (2) „Model neutralizacji LPS przez peptyd DAL-PEG-DK5 u myszy uczulonych D-galaktozaminą – ocena żywotności zwierząt” (3) „Model neutralizacji LPS przez peptyd DAL-PEG-DK5 u myszy uczulonych D-galaktozaminą – monitoring parametrów stanu zapalnego”. W pierwszym przypadku sprawdzimy wpływ peptydu na stan zdrowia zwierząt. Procedura 2 ma na celu ocenę wpływu DAL-PEG-DK5 na rozwój stanu septycznego wywołanego podaniem LPS wraz z D-galaktozaminą. W trzeciej części eksperymentu zostanie przeprowadzone badanie, pozwalające na ocenę antyzapalnego wpływu peptydu w stosowanym modelu sepsy.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Myszy C57BL/6

108 sztuk

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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: D-galactosamine – sensitized mouse model / the lethal effect of LPS/ D-galactosamine lethality model / prevention of endotoxin-induced sepsis / endotoxin DAL-PEG-DK5 / sepsis DAL-PEG-DK5.

Niniejszy model jest jednym z możliwych modeli *in vivo* stosowanych w badaniu sepsy. Inne modele bazują na iniekcji bakterii *E. coli* bądź na operacyjnej perforacji jelita zwierząt celem uwolnienia jego zawartości do otrzewnej. Ze względu na fakt posiadania bogatej wiedzy na temat mechanizmu działania badanego peptydu (dane własne nie publikowane), który opiera się na neutralizacji LPS uważamy, że zaproponowany model jako najwłaściwszy. Dzięki jego zastosowaniu ocenimy jednoznacznie terapeutyczną rolę badanego peptydu DAL-PEG-DK5.

Reduction / Zmniejszenie

Wszystkie myszy wykorzystane w tym projekcie pochodzić będą z chowu wsobnego, który w znaczący sposób zmniejsza ryzyko różnic osobniczych w eksperymencie. We wniosku w grupach doświadczalnych w każdej procedurze uwzględniono 36 sztuk zwierząt (po 6 sztuk na grupę) ze względu na chęć wykonania doświadczenia dwukrotnie.

Refinement / Złagodzenie

Myszy będą utrzymywane po 5 osobników w klatkach w pełni wyposażonych w jedzenie i wodę – stały dostęp do

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

wody i paszy. 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 godzinę w ciągu pierwszych 12 godzin od iniekcji) monitoring stanu zwierząt przez doświadczony personel. W razie wystąpienia objawów skrajnego wyczerpania, zwierzęta zostaną poddane natychmiastowej anestezji, jak opisano wcześniej (procedura 1, czynność 3).