

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Rola dopełniacza w odpowiedzi immunologicznej wywołanej podaniem bakteriofaga T4 lub HAP1 w modelu mysim

2. Czas trwania projektu 9.05.2018-31.08.2019

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) bakteriofagi, myszy, układ dopełniacza

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.

Narastający problem bakteryjnych zakażeń lekoopornych sprawia, że poszukiwanie alternatywnych strategii terapeutycznych jest koniecznością. Terapia bakteriofagowa może stanowić alternatywne rozwiązanie w walce z infekcjami bakteryjnymi. Rozwój terapii fagowej będzie uzależniony od zrozumienia ich interakcji z organizmami ssaków. Obecnie dane na ten temat są zdecydowanie niewystarczające. Dotychczasowe badania pokazały, że bakteriofagi wywołują odpowiedź immunologiczną, w tym aktywację dopełniacza u ssaków (Hodyra-Stefaniak K. i wsp., Sci Rep. 2015).

Badania zmierzają do wyjaśnienia, czy i w jaki sposób układ dopełniacza bierze udział w odpowiedzi immunologicznej na bakteriofagi, czy bakteriofagi różnią się między sobą wrażliwością na działanie dopełniacza i jakie białka fagowe decydują o tych różnicach. Badania zostaną prowadzone na myszach pozbawionych składnika C3 dopełniacza oraz myszach kontrolnych, u których dopełniacz funkcjonuje normalnie. Mysiom obu szczepów zostanie podany fag T4 lub HAP1. Fagi te są bardzo blisko spokrewnione i różnią się tylko obecnością (T4) i brakiem (HAP1) zewnętrznego białka strukturalnego o nieustalonej jak dotąd funkcji: Hoc. Hipoteza badawcza naszego eksperymentu jest następująca: białko Hoc chroni bakteriofaga przed niszczącym działaniem dopełniacza. Hipoteza ta jest już wstępnie uzasadniona obserwacjami *ex vivo*, w których bakteriofag T4 był mniej podatny na inaktywację przez układ dopełniacza niż HAP1. Jeśli zaobserwujemy różnice w cyrkulacji tych dwóch fagów u myszy

zwykłych, przy jednoczesnym braku różnic u myszy pozbawionych funkcjonalnego dopełniacza, to hipoteza zostanie udowodniona.

Doświadczenie obejmuje podawanie myszom preparatów zawierających bakteriofagi (dootrzewnowo) 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

24 myszy C57BL/6J oraz 24 myszy B6;129S4-C3tm1Crr/J

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: bacteriophage, complement, mouse.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na poszerzenie istniejącej wiedzy na temat oddziaływań bakteriofagów z układem odpornościowym ssaków, w zakresie, który dotąd nie była wcale zbadany. Postawiony problem badawczy nie był badany w modelach laboratoryjnych, co pozwoliłoby na ustalenie, czy odpowiedź immunologiczna na bakteriofagi z udziałem układu dopełniacza zależy od składu białkowego kapsydu faga. Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na poszerzenie istniejącej wiedzy na temat oddziaływań bakteriofagów z układem odpornościowym ssaków w zakresie, który był dotąd bardzo słabo zbadany.

Zasada zastąpienia – postawiony problem badawczy wymaga przeprowadzenia badań na modelu ssaczym. Nie ma możliwości badania reakcji układu dopełniacza na liniach komórkowych/tkankowych lub na zwierzętach o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego.

Zasada ograniczenia – nie można odnaleźć w literaturze fachowej danych pozwalających ustalić liczbę zwierząt potrzebnych w eksperymencie, ale na podstawie wcześniejszych wyników uzyskanych dla myszy C57Bl oraz testów statystycznych oszacowano minimalną liczbę zwierząt, która zapewni znamienność statystyczną. W celu ograniczenia liczby myszy stosowanych w proponowanym eksperymencie zdecydowano na podstawie wcześniejszych wyników otrzymanych dla myszy C57Bl nie stosować dodatkowych grup kontrolnych: myszy B6;129S4-C3tm1Crr/J oraz myszy C57Bl nie

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

poddanych działaniu fagów ponieważ wcześniejsze wyniki pokazały, że u myszy, którym nie podano fagów nie można ani ich wykryć metodami laboratoryjnymi ani wykryć przeciwciał skierowanych przeciwko fagom. Zamiast zastosowania dodatkowych myszy kontrolnych zostanie zastosowany dodatkowy pobór krwi przed właściwym eksperymentem po to, aby stwierdzić brak wcześniejszej ekspozycji myszy użytych w eksperymencie na działanie fagów ze środowiska (oznaczenie ilości fagów metodą RTD oraz przeciwciał skierowanych przeciwko fagom klasy IgG oraz IgM). Będzie to stanowiło dodatkową kontrolę wewnętrzną w eksperymencie wykonaną przed właściwym eksperymentem.

Zasada udoskonalenia – wszystkie czynności zostały tak zaplanowane, aby maksymalnie zniwelować ból i stres zwierząt. Podczas pobierania krwi z żyły ogonowej (czynność nr 2) ogon zostanie miejscowo znieczulony lidokainą, aby zniwelować odczuwanie bólu. Co więcej, aby zminimalizować dyskomfort zwierząt związany z częstym pobieraniem krwi z żyły ogonowej koniecznym w tym doświadczeniu, zwierzętom przy każdym pobraniu krwi nie będzie nacinany ogon. Ogon zostanie nacięty raz a później będziemy tylko delikatnie usuwali skrzep przy pomocy jałowego PBS. Zwierzęta będą obserwowane przez cały czas doświadczenia i w razie wystąpienia bólu będą im podawane środki przeciwbólowe.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☒ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.