

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Wpływ larw stadium L4 nicienia *Heligmosomoides polygyrus* na mechanizm hamowania odpowiedzi immunologicznej z udziałem komórek dendrytycznych u myszy z zaindukowanym *colitis***

2. Czas trwania projektu 01.05.2018-30.04.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) komórki dendrytyczne, *Heligmosomoides polygyrus*, *colitis*

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) A. badania podstawowe.

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.

Nicienie pasożytnicze wykazują właściwości immunomodulacyjne, które mogą zostać wykorzystane w leczeniu chorób autoimmunizacyjnych. Wiele badań potwierdza skuteczność terapii w nieswoistym zapaleniu jelit (ang. Inflammatory bowel disease, IBD), w tym *colitis* (wrzodziejące zapalenie jelita grubego) za pomocą nicieni jelitowych. Jednak mechanizmy wzbudzone przez nicienie, które wywołują efekt terapeutyczny nie są znane. Przeprowadzone przez nas badania wykazały, że zarażenie *Heligmosomoides polygyrus*, pasożyta jelitowego, u myszy BALB/c z zaindukowanym *colitis* znacznie ogranicza stan zapalny w jelicie grubym. Wykazano, że zmiany w poziomie cytokin w jelicie myszy z *colitis* sprzyjały inwazji larw nicienia: były one większe a samce przeżyły dłużej. Kluczową rolę w rozwoju chorób zapalnych pełnią komórki dendrytyczne, które poprzez aktywację limfocytów T wzbudzają reakcję obronną lub tolerancję na rozpoznany antygen. W trakcie prowadzonych przez nas

badan̄ zaobserwowaliŝmy, ŝe nicienie wyizolowane z myszy z zaindukowanym colitis wykazuj̄ odmienny wp̄ływ na aktywnoŝ kom̄erek dendrytycznych niŝ pasoŝyty z zaraŝenia myszy zdrowych. Aspekt ten wymaga szczeḡłowego scharakteryzowania na poziomie fenotypu i proteomu wspomnianych kom̄erek. Dodatkowo potencjał immunoregulacyjny limfocyt̄ T nabywaj̄cych kompetencje po aktywacji przez kom̄orki dendrytyczne hodowanych w obecnoŝi nicienia wymaga scharakteryzowania.

Celem projektu jest charakterystyka fenotypu i proteomu niedojrzałych kom̄erek dendrytycznych linii JAWSII aktywowanych samicami i samcami larw stadium L4 *H. polygyrus* oraz ich wp̄ływ na aktywnoŝ limfocyt̄ T in vitro i in vivo u myszy z zaindukowanym *colitis*. Przeprowadzenie opisanych analiz pozwoli na dokł̄adne poznanie mechanizm̄ zwīzanych z immunosupresj̄ wykazywan̄ przez larwy L4 ze ŝrodowiska colitis, przyczyni sī do wskazania czynnik̄ immunomodulacyjnych o charakterze terapeutycznym w leczeniu chor̄b autoimmunizacyjnych i alergii oraz przybliŝy perspektyw̄ opracowania terapii z wykorzystaniem kom̄erek dendrytycznych w terapii tych chor̄b.

Badania b̄d̄ prowadzone na modelu colitis – wrzodziej̄cego zapalenia jelita grubego u myszy. W ramach analizy fenotypowej i proteomicznej kom̄erek dendrytycznych z linii JAWSII pod wp̄ływem nicienia *H. polygyrus*, do hodowli kom̄rkowej zostan̄ dodane ŝywe pasoŝyty wyizolowane w 6 dniu zaraŝenia myszy z zaindukowanym colitis oraz myszy kontrolnych BALB/c.

W celu utrzymania pasaŝu nicienia *H. polygyrus* myszy szczepu C57Bl/6 i BALB/c zostan̄ zaraŝone i b̄d̄ stanowiły ŝr̄dło larw inwazyjnych do powt̄rznego zaraŝenia zwierz̄t pasaŝowych i wykorzystywanych w eksperymencie.

W celu analizy aktywnoŝi limfocyt̄ T pod wp̄ływem kom̄erek dendrytycznych stymulowanych nicieniami myszom szczepu C57Bl/6 i BALB/c zostan̄ podane kom̄orki JAWSII hodowane w obecnoŝi ŝywych nicieni.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZ̄T PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŝWIADCZENIU

W badaniu planowane jest wykorzystanie 248 samc̄w i 24 samic myszy laboratoryjnej szczepu BALB/c oraz 128 samc̄w i 48 samic szczepu C57BL/6, w wieku 8 tygodni.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzono, że brak jest danych literaturowych dotyczących wpływu płci nicieni ze środowiska wrzodziejące zapalenie jelita grubego na dojrzewanie komórek dendrytycznych.

Zastąpienie: W proponowanym doświadczeniu wykorzystanie zwierząt w celu pozyskania komórek dendrytycznych zostanie zastąpione użyciem linii komórkowej JAWSII o fenotypie niedojrzałym wyizolowane ze szpiku kostnego myszy p53/_/ C57BL/6. W przypadku konieczności pozyskania żywych larw L4 nicienia jelitowego myszy *Heligmosomoides polygyrus* niezbędne jest wykorzystanie zwierząt, ze względu na brak alternatywnej metody badawczej.

Ograniczenie: W doświadczeniach zaplanowano minimalną liczbę zwierząt niezbędną do przeprowadzenia eksperymentu.

Doskonalenie: Myszy będą utrzymywane w warunkach zapewniających dobrostan zwierząt. Zaplanowane procedury o kategorii dotkliwe zaprojektowano tak, by możliwie maksymalnie ograniczyć ból, cierpienie i stres zwierząt. W przypadku zaobserwowania zbyt intensywnego rozwinięcia się wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u zwierząt, zaplanowano wczesne i humanitarne zakończenie procedur. Wszystkie procedury zostaną przeprowadzone przez kompetentny personel z doświadczeniem w pracy ze zwierzętami.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

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

☐ NIE

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

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