

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu „Wykorzystanie nanocząstek srebra oraz złota jako potencjalnych adiuwantów szczepionkowych”

Czas trwania projektu .. 01.06. 2018 – 30.05.2019.....

Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) nanocząstki, złoto, srebro, adiuwant.....

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 zbadanie właściwości adiuwantowych nanocząstek srebra i złota o różnym rozmiarze (10, 30, 60 nm) w odniesieniu do poszczepiennej odpowiedzi odpornościowej na wirusa opryszczki typu 1 i 2. Adiuwant to substancja powodująca wzmocnienie poszczepiennej odpowiedzi odpornościowej na podany antygen. Adiuwanty stosowane są zarówno w badaniach naukowych, jak i w medycynie, na przykład w celu zwiększenia skuteczności szczepionek. Nanocząstki to struktury zbudowane z różnych materiałów charakteryzujące się rozmiarami z zakresu 1-100 nm. Metaliczne nanocząstki (srebra, złota, niklu) próbowano dotychczas połączyć z antygenami różnych mikroorganizmów i wykazano ich skuteczność we wzbudzaniu różnych aspektów odpowiedzi immunologicznej (odpowieść komórkowa i humoralna). Ich działanie wiąże się głównie ze stymulacją lokalnego nacieku komórek zapalnych, zaś jego rozwój sprzyja wytworzeniu się specyficznej odpowiedzi immunologicznej. Niewiele jednak wiadomo, jaki jest wpływ nanocząstek srebra i złota na kształtowanie się odpowiedzi poszczepiennej w odniesieniu do słabo immunizującego antygenu wirusowego jakim jest antygen wirusa opryszczki. Wirus opryszczki typu 1 powoduje nawracające zakażenia błony śluzowej jamy ustnej, oczu, twarzy oraz ośrodkowego układu nerwowego, podczas gdy wirus opryszczki typu 2 powoduje zakażenia okolic moczowo-płciowych. Do chwili obecnej nie udało się stworzyć szczepionki chroniącej przed nawrotami opryszczki, m.in. ze względu na niską aktywację układu odpornościowego w odpowiedzi na nawracające zakażenie.

Projekt obejmuje jedną procedurę polegającą na dwukrotnym podaniu inaktywowanych antygenów wirusa opryszczki typu 1 lub 2 w obecności nanocząstek srebra lub złota o wielkości 10, 30 i 60 nm (dwukrotna immunizacja). Immunizowane zwierzęta zostaną wykorzystane jako źródło narządów oraz krwi do badań in vitro.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W procedurze doświadczalnej polegającej na dwukrotnej immunizacji badanymi preparatami będzie wykorzystanych łącznie 63 myszy szczepu C57BL6 z 7 osobnikami dla każdego z 6 testowanych preparatów.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Zasada zastąpienia

W celu uwzględnienia w doświadczeniu zasady 3R, posłużono się modelem linii komórkowej mysich komórek dendrytycznych JAWS II celem określenia wpływu nanocząstek srebra i złota na aktywność komórek dendrytycznych, stanowiących pierwszy element w rozwoju odpowiedzi odpornościowej w organizmie. Badania wykazały, że komórki dendrytyczne aktywnie pobierają nanocząstki srebra i złota, a wraz z nimi znaczne ilości antygenów wirusowych, większe niż bez obecności nanocząstek. Podobnie inne badania przeprowadzone na modelu linii mysich makrofagów RAW 264.7 wykazały silną aktywację komórek makrofagów pod wpływem nanocząstek srebra i złota, co w sytuacji in vivo może prowadzić do aktywacji lokalnego układu odpornościowego, a tym samym wykształcenia skutecznej odpowiedzi odpornościowej.

Wstępne badania pozwoliły ograniczyć liczbę potencjalnych testowanych adiuwantów do 6 (trzy rozmiary nanocząstek srebra lub złota) najsilniej aktywujących komórki dendrytyczne z ponad 20 testowanych wyjściowo. Pozwoliło to na zmniejszenie liczby wykorzystanych zwierząt z ponad 140 do 63 myszy.

Wcześniejsze badania in vitro przy użyciu pokazały, że komórki dendrytyczne ulegają silnej aktywacji w obecności nanocząstek srebra lub złota oraz antygeny wirusa opryszczki typu 2. W złożonym układzie, jakim jest organizm komórki dendrytyczne stanowią tzw. komórki prezentujące antygen limfocytom pomocniczym, a dopiero te limfocyty aktywują dalsze składowe odpowiedzi immunologicznej – limfocyty B i limfocyty cytotoksyczne.

Skomplikowane procesy w obrębie układu odpornościowego również nie mają swojego zamiennika in vitro. Istniejące limfoidalne linie komórkowe składają się tylko z jednego rodzaju komórek, których właściwości nie w pełni odpowiadają właściwościom komórek in vivo. Niemożliwe jest również w chwili obecnej precyzyjne odtworzenie wszystkich rodzajów oddziaływań tych komórek pomiędzy sobą.

Wiadomo również, że dla każdego drobnoustroju proces wytwarzania się odpowiedzi odpornościowej może mieć odmienny przebieg.

Zasada ograniczenia

Wniosek opisuje doświadczenia zaplanowane do przeprowadzenia w ciągu 12 miesięcy i dotyczy zbadania potencjalnych właściwości adiuwantowych nanocząstek srebra i złota w odniesieniu do słabo immunogennych antygenów wirusa opryszczki typu 1 i 2. Ilość eksperymentów oraz zwierząt została tak zaplanowana, aby prawidłowa analiza statystyczna była możliwa. Przyjmuje się, że moc testu powinna być przynajmniej na poziomie 0,8, a częstość popełnienia błędu odrzucenia hipotezy zerowej α nie większa niż 0,05. Standardowo grupy badawcze będą liczyć 7 osobników.

Korzystając z kalkulatora dostępnego online (<http://biomath.info/power/index.htm> dla „Two-sample t test”), w wersji dostępnej 09.04.2018 r. i wykorzystując wyniki badań pilotażowych otrzymanych wcześniej dla nanocząstek modyfikowanych kwasem taninowym można obliczyć liczbę myszy w grupie,

aby utrzymać wymaganą moc testu i parametr α . Dla podanych wartości różnica wartości średnich wynosi 8 i sugerowana ilość osobników w grupie to 6.

Zasada udoskonalenia

Wszelkie niezbędne starania będą poczynione, aby utrzymać dobrostan zwierząt laboratoryjnych na odpowiednim poziomie. Wykorzystywane zwierzęta będą utrzymywane po 5 osobników w indywidualnie wentylowanych klatkach. Ograniczone do minimum będą cierpienie i dystres. Procedura iniekcji będzie wykonywana w jak najszybszy sposób. Procedury będą wykonywane przez przeszkolony personel z wieloletnim doświadczeniem.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną

TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy



NIE