

Celem projektu jest zbadanie roli aktywacji białkowego kompleksu inflamasomu w odpowiedzi na zapalenie płuc wywołane przez bakterię *Acinetobacter baumannii*, wtórne do zapalenie otrzewnej. Formowanie kompleksu inflamasomu stanowi bardzo silny i wczesny mechanizm odpowiedzi komórek organizmu na infekcje. W jego wyniku produkowana jest silnie aktywna interleukina-1 $\beta$  i często dochodzi do śmierci komórki. Nasza hipoteza zakłada, że nadmierna aktywacja inflamasomu w odpowiedzi na wtórną infekcję wywołaną przez *A. baumannii* upośledza prawidłową odpowiedź na zakażenie. Zakażenia wielolekoopornymi szczepami *A. baumannii* stały się niezwykle poważnym problemem klinicznym w oddziałach intensywnej terapii (OIT) na całym świecie. *A. baumannii* sporadycznie wywołuje infekcje u osób zdrowych. W OIT bakteria ta najczęściej wywołuje zapalenia płuc u chorych z zaburzeniami odporności wywołanymi sepsą, u których zachodzi konieczność prowadzenia wentylacji mechanicznej. Infekcja *A. baumannii* jest czynnikiem istotnie zwiększającym ryzyko zgonu takich chorych. Wobec narastającej oporności bakterii na antybiotyki, szansą dla chorych mogą stać się terapie modulujące odpowiedź układu odpornościowego. Opracowanie i wdrożenie takich terapii wymaga jednak poznania mechanizmów immunopatogenezy danego zakażenia w warunkach możliwie zbliżonych do tych, jakim poddani są chorzy w oddziałach intensywnej terapii. Dlatego w planowanym projekcie, stworzony zostanie model oparty na myszach z ludzkimi komórkami odpornościowymi. Myszy takie nazywane są myszami humanizowanymi. W naszych dotychczasowych badaniach opracowaliśmy metodę humanizacji myszy z niedoborem odporności poprzez przeszczep ludzkich macierzystych komórek hematopoetycznych. U tak przygotowanych myszy wykonywaliśmy septyczne zapalenie otrzewnej przez podwiązanie i przekłucie kątnicy (*cecum ligation and puncture, CLP*). Dzięki temu, możliwe było zbadanie wpływu sepsy na ludzkie komórki krwiotwórcze w szpiku kostnym. W naszym projekcie planujemy stworzenie modelu myszy humanizowanych wykorzystując zwierzęta z ekspresją ludzkiego czynnika wzrostu komórek macierzystych, dzięki czemu rozwój ludzkich komórek immunokompetentnych będzie pełniejszy. U zwierząt tych wykonana będzie operacja CLP z wdrożeniem leczenia przeciwbólowego i antybiotykoterapii. Następnie wywoływane będzie w trakcie wentylacji mechanicznej zapalenie płuc przez dotchawicze podanie zawiesiny *A. baumannii*. Stosując wczesne biomarkery oceniające ryzyko zgonu zwierzęcia, myszy będą przydzielane do grup o wysokim lub niskim ryzyku zgonu. Następnie, w pełnym znieczuleniu zwierzęta będą uśmiercane i analizowane będą ludzkie komórki mieloidalne, odzyskane z płuc i szpiku kostnego myszy. Badana będzie ekspresja genów związanych ze szlakiem inflamasomu (metodą Real-Time PCR) oraz aktywacja inflamasomów na poziomie białkowym metodami mikroskopowymi. Porównanie wyników pomiędzy grupami o niskim i wysokim ryzyku zgonu pozwoli zidentyfikować szkodliwe lub ochronne efekty aktywacji inflamasomu. W celu potwierdzenia istotnej funkcji inflamasomu wskazanego w powyższym doświadczeniu, wykonane będą badania z wyciszeniem ekspresji genu dla określonego typu inflamasomu. Do zrealizowania tego celu wykorzystana będzie technologia siRNA przystosowana do wyciszenia genów *in vivo*. Skuteczność wyciszenia genów potwierdzona będzie metodą Real-Time PCR. Punktami końcowymi tego doświadczenia będzie ocena ilości żywych bakterii w płucach zakażonych myszy oraz stopienia uszkodzenia płuc 24h po zakażeniu *A. baumannii*.

Stosując unikalny model zbliżony do warunków klinicznych, oparty na myszach humanizowanych mamy nadzieję wskazać nowe cele dla terapii immunomodulacyjnych w ciężkich zakażeniach wywołanych przez *A. baumannii*. Opracowanie tak złożonego modelu, będzie mogło również służyć w przyszłości za platformę do prób przedklinicznych nowych leków immunomodulujących.