

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Toksyczność i aktywność kopolimeru blokowego PEG-PMAPTAC w modelu mysim”

2. Czas trwania projektu 24 miesiące

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) kopolimer blokowy, wirus HSV1, toksyczność

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) B

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.

Zakażenia wirusem herpes simplex (HSV) należą do jednych z najczęściej występujących i charakteryzują się dużą różnorodnością objawów klinicznych. Mogą występować w postaci zmian pęcherzykowych na skórze, zapalenia jamy ustnej, siatkówki, rogówki, opon mózgowo-rdzeniowych, mózgu i narządów rodnych.

W ramach przeprowadzonej pracy badawczej udało się zidentyfikować kopolimery blokowe PEG-PMAPTAC jako bardzo silne inhibitory zakażenia wirusami HSV-1 oraz HSV-2. Przeprowadzone badania *in vitro*, dowiodły, że kopolimery blokowe PEG-PMAPTAC o różnym stosunku liczby merów hamują wejście wirusa do komórki gospodarza poprzez uniemożliwienie interakcji wirusa z jednym z jego receptorów wejścia. W efekcie zahamowania internalizacji wirusa jego replikacja nie zachodzi, a rozwój infekcji nie następuje. W niniejszym badaniu planowana jest weryfikacja uzyskanych wyników w modelu *in vivo*, co umożliwi prace nad potencjalnym produktem leczniczym.

W badaniu planowane jest wykorzystanie kopolimeru blokowego PEG<sub>46</sub>-PMAPTAC<sub>52</sub> (46 merów PEG, 52 mery PMAPTAC) który w badaniach *in vitro* wykazywał najlepsze właściwości przeciwwirusowe i niską cytotoksyczność. Jako kontrola pozytywna wykorzystany zostanie acyklowir, lek przeciwwirusowy hamujący replikację wirusów opryszczki typu 1 i 2 (HSV).

W proponowanym projekcie badawczym planujemy wykorzystać 6 tygodniowe samice myszy szczepu Balb/c w liczbie 120 sztuk.

Badanie zostanie podzielone na 2 części. Celem części pierwszej będzie ustalenie nietoksycznej dawki kopolimeru blokowego PEG<sub>46</sub>-PMAPTAC<sub>52</sub>, 6 tygodniowe samice myszy szczepu Balb/c zostaną poddane goleniu sierści skóry (obszar 3 cm<sup>2</sup>) na bocznej grzbietowej stronie, w lewym odcinku piersiowym, a następnie w tym samym miejscu zostaną zadrapanie igłą. Miejsce zadrapania zostanie wystawione przez okres 7 dni na działanie kopolimeru blokowego PEG<sub>46</sub>-PMAPTAC<sub>52</sub> w różnych czterech dawkach. Dawka kopolimeru blokowego PEG<sub>46</sub>-PMAPTAC<sub>52</sub> wybrana w tej części będzie wykorzystywana w części drugiej badania. Dodatkowo planowana jest kontrola negatywna (traktowanie solą fizjologiczną) oraz kontrola zerowa (myszy nie będą poddawane żadnym procedurom).

W drugim etapie badania przeprowadzona zostanie analiza aktywności przeciwwirusowej PEG<sub>46</sub>-PMAPTAC<sub>52</sub>. We wszystkich grupach wykorzystane zostaną samice myszy szczepu Balb/c w wieku 6 tygodni, które zostaną poddane goleniu sierści skóry na bocznej grzbietowej stronie w odcinku lędźwiowym, a następnie zostaną zadrapanie igłą w miejscu ogolonym. Na zadrapaną i ogoloną skórę myszy nałożony zostanie w zależności od grupy eksperymentalnej i kontrolnej: acyklowir, mock, sól fizjologiczna bądź kopolimer blokowy.

Planowane są następujące grupy:

- 1) Kontrola zerowa. Myszy niczym nie traktowane
- 2) Kontrola negatywna
- 3) Kontrola mock
- 4) Grupa kontrolna (acyklowir)
- 5) Kontrola pozytywna (HSV1)
- 6) Grupa badana (kopolimer blokowy)

Od momentu rozpoczęcia doświadczenia, codziennie myszy będą obserwowane, ważone i dokonywany zostanie pomiar rany za pomocą suwmiarki. Po upływie 7 dni od rozpoczęcia doświadczenia myszy zostaną poddane wziewnej eutanazji za pomocą CO<sub>2</sub>, a następnie dyslokacji kręgów szyjnych. Z organizmów martwych zwierząt zostanie pobrana część skóry (obszar-1 cm<sup>2</sup>), krew oraz organy (wątroba, nerki, śledziona) w celu analizy histopatologicznej i wirusologicznej. W przypadku cierpienia zwierząt, bądź spadku ich masy ciała o 20 % w stosunku do masy wyjściowej dokonana zostanie wcześniejsza eutanazja zwierząt za pomocą CO<sub>2</sub> i dyslokacji kręgów szyjnych.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu planuje się wykorzystanie 120 myszy szczepu Balb/c, 6 tygodniowych samic.

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

### 1) Zasada Zastąpienia :

W myśl zasady redukcji, w doświadczeniu zredukowano liczbę zwierząt do wymaganego statystycznie minimum 5 zwierząt w grupie. Liczbę tę oszacowano stosując narzędzia statystyczne do oceny

---

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

liczebności grup badawczych. Według dostępnej obecnie wiedzy niemożliwe jest wykorzystanie w tym celu zwierząt o niższym stopniu rozwoju. Aby osiągnąć skuteczność badań muszą być one przeprowadzone i sprawdzone na modelu zwierzęcym. Zastosowanie zwierząt w planowanym doświadczeniu pozwoli na poznanie działania badanych substancji na cały organizm i będące podstawą jego funkcjonowania tkanki, a także wzajemne interakcje między nimi. Jest to niemożliwe przy zastosowaniu procedur *in vitro*, czy *in silico*. Planowane badania należą do badań podstawowych mających na celu poznanie działania badanych związków i nie ma możliwości zastąpienia zwierząt metodami alternatywnymi.

## 2) Zasada Ograniczenia:

W planowaniu doświadczenia uwzględniono liczebność grup umożliwiającą uzyskanie satysfakcjonujących wyników z niskim odchyleniem standardowym. Ponadto część wyników będzie pozyskana z poprzednio realizowanych w jednostce doświadczeń, dotyczących modelu zakażenia wirusem HSV1, co powoduje zwiększenie liczebności grupy kontrolnej bez konieczności wykorzystania dodatkowej liczby zwierząt w procedurach. Wykorzystanie do badania zwierząt laboratoryjnych jakimi są myszy staje się nieodzownym elementem doświadczenia, ponieważ przeprowadzenie doświadczenia w oparciu o linie komórkowe, hodowle tkankowe czy też inny materiał badawczy – w tym wypadku jest niemożliwe do zrealizowania. Myszy są jednym z modeli najbardziej zbliżonych pod względem fizjologicznym do modelu funkcjonowania organizmu człowieka, co ma duże znaczenie w obliczu kolejnych klinicznych etapów opisywanego doświadczenia. Ponadto w przeciwieństwie do hodowli tkankowych, czy innych metod *in vitro* imitujących warunki naturalne, myszy umożliwiają ocenę efektów wymienionych procedur w warunkach najbardziej zbliżonych do tych, które mają miejsce u ludzi - wyniki doświadczenia są wtedy bardziej wiarygodne.

## 3) Zasada Udoskonalenia

W badaniach z udziałem myszy uwzględniono wszelkie warunki bytowe oraz dobrostan zwierząt, w tym elementy wzbogacające środowisko bytowania zwierząt (gryzaki, materiał do budowy gniazd i legowisk). Myszy będą przebywały w klatkach zbiorowych, indywidualnie wentylowanych, na regałach IVC. Zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku, z nieograniczonym dostępem do wody i pożywienia, niezmiennym cyklem dostępności światła (12h/12h), w stałej temperaturze 21°C oraz przy wilgotności powietrza 55%. Doświadczenie zaplanowano w sposób maksymalnie redukujący cierpienie zwierząt. Przed rozpoczęciem doświadczeń myszy będą oswajane z eksperymentatorem oraz przyzwyczajane do technik eksperymentalnych. Eksperymentatorzy posiadają wieloletnie doświadczenie w pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi, dzięki temu wybrane metody przeprowadzenia eksperymentu pozwalają zminimalizować i złagodzić ból i cierpienie oraz postępować ze zwierzętami tak by zapewnić im jak najlepszy standard życia. Po zakończeniu doświadczenia myszy będą uśmiercane zgodnie z opisanymi wytycznymi, w celu pobrania wybranych narządów i tkanek do dalszej analizy.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

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

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.

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

☒ NIE