

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. **TYTUŁ PROJEKTU:** Ocena przeciwwirusowego działania polimerów NSPAH na wirus grypy w modelu mysim
2. **CZAS TRWANIA PROJEKTU:** 6 miesięcy
3. **SŁOWA KLUCZOWE** (maksymalnie 5 słów): wirus, grypa, NSPAH, polimer, inhibitor.
4. **CEL PROJEKTU** (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): F
~~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

Celem niniejszego projektu jest ocena skuteczności *in vivo* opracowanego przez nas preparatu przeciwwirusowego NSPAH.

NSPAH jest polimerem, N-sulfonowaną polialliloaminą, która została stworzona we współpracy pomiędzy zespołem [REDACTED]

Przeprowadzone badania jasno wykazały, że otrzymana substancja jest w stanie hamować zakażenie wywołwane przez wirus grypy *in vitro*. Analizy dotyczące toksycznego wpływu na komórki wykazały, że polimer ten jest praktycznie nieszkodliwy. Co ciekawe, NSPAH jest aktywny względem wszystkich sprawdzonych szczepów wirusa grypy (wirusy grypy A H3N2 i H1N1, jak również wirusa grypy typu B). Dalsze prace pozwoliły stwierdzić, że NSPAH hamuje również replikację innych wirusów układu oddechowego, takich jak ludzki metapneumowirus oraz ludzki rinowirus.

Badania nad NSPAH przeprowadzono z wykorzystaniem modelu *in vitro* (komórki MDCK), jednak aby potwierdzić skuteczność produktu wykorzystano również hodowle *ex vivo* ludzkiego nabłonka oddechowego (HAE; humanairwayepithelium). Hodowle tkankowe HAE powstają na bazie komórek pierwotnych izolowanych z tkanek ludzkich. Komórki te po izolacji i namnożeniu wykorzystywane są jako baza do stworzenia w pełni zróżnicowanego, wielowarstwowego, urzęsionego nabłonka oddechowego na interfejsie pożywki i powietrza. Powstała tkanka pozwala na odtworzenie procesów fizjologicznych oraz warunków biochemicznych w układzie oddechowym i umożliwia np. weryfikację wpływu surfaktantu oraz czynników wydzielanych do światła dróg oddechowych na stabilność i skuteczność substancji badanej.

W wykorzystaniu hodowli HAE zweryfikowano skuteczność NSPAH w zapobieganiu zakażeniom wirusem grypy. Przeprowadzone do chwili obecnej badania zostały przez nas całościowo opisane w pracy Novel Polyanions Inhibiting Replication of Influenza Viruses (Antimicrob Agents Chemother. 2016 Mar 25;60(4):1955-66). Są one również podstawą trzech krajowych zgłoszeń patentowych (P. 409 016, P. 409 015, P. 413 055) oraz zgłoszenia międzynarodowego PCT/PL2013/00064 (WO2016016820).

W kolejnym etapie badań pragniemy zweryfikować skuteczność produktu w warunkach *in vivo*, co

podniesie jego wartość i pozwoli przejść do fazy komercjalizacji. Skuteczność NSPAH oraz bezpieczeństwo stosowania produktu zostaną poddane ocenie w modelu mysim zakażenia wirusem grypy w odniesieniu do zatwierdzonego do stosowania u ludzi w leczeniu zakażeń wirusem grypy oseltamiwiru. Ocenie poddany zostanie wpływ NSPAH na replikację wirusa grypy w organizmie myszy, ale również stan zwierząt i zmiany morfologii i składu krwi. Produkt będzie podawany zwierzętom dotchawicznie.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU samce myszy Balb/c - liczba zwierząt: 55

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Wnioskodawca posiada znaczną wiedzę i własne doświadczenie dotyczące opisywanej problematyki. W czasie planowania eksperymentu, dokonano przeglądu literatury dotyczącej tematyki przeciwwirusowego działania polimerów NSPAH na wirus grypy.

W poszukiwaniach wykorzystano następujące kluczowe słowa:

- wirus, grypa, NSPAH, polimer, myszy Balb/c,

Uwzględniając **zasadę zastąpienia** zdecydowano o wykorzystaniu myszy Balb/c w planowanych badaniach, jako najlepszego i najbardziej wiarygodnego zwierzęcego modelu. Według dostępnej obecnie wiedzy niemożliwe jest wykorzystanie w tym celu zwierząt o niższym stopniu rozwoju. Po przeprowadzeniu szeregu doświadczeń *in vitro* oraz *ex vivo* istnieje konieczność sprawdzenia ich efektów na modelu zwierzęcym. W projekcie uwzględniono najmniejszą możliwą liczbę zwierząt w doświadczeniu (5 sztuk zwierząt w grupie doświadczalnej) która gwarantuje osiągnięcie przewidzianych celów. (**zasada ograniczenia**). Oczywiście jest, że badania przeprowadzone na tak małej grupie zwierząt będą miały ograniczoną wartość, jednak pozwolą ocenić zasadność przeprowadzania szerzej zakrojonych badań oraz wejścia w fazę badań przedklinicznych.

W myśl zasady **udoskonalenia**, personel zwierzętarni zapewnia warunki życia zwierząt oraz ich obsługę na najwyższym poziomie. Co więcej, warunki doświadczenia dotyczące objętości podawanych substancji oraz środków znieczulających i przeciwbólowych są zgodne z wytycznymi dla danego gatunku zwierząt. Stosowanie ogólnych środków znieczulających pozwala na poprawę dobrostanu zwierząt w trakcie procedur badawczych. Ostatecznie, w myśl zasady udoskonalenia, prawidłowo zaplanowano uśmiercanie zwierząt.