

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Zastosowanie terapii komórkowej w leczeniu nawracającej choroby obturacyjnej płuc koni (RAO).”

2. Czas trwania projektu 03.06.2019r-02.06.2024r.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) RAO, monocyty, zapalenie, odpowiedź leukocytna

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.

Nawracająca choroba obturacyjna płuc koni (RAO) jest powszechnie występującą, przewlekłą chorobą zapalną dróg oddechowych. Celem badania jest ocena wpływu dotchawiczego podania stymulowanych monocytów uzyskanych z krwi obwodowej koni na rodzaj odpowiedzi komórek układu białokrwinkowego, jako możliwego modulatora odpowiedzi zapalnej w przebiegu RAO u koni. Czynnikiem używanym do wspomnianej stymulacji będą preparaty krwiopochodne izolowane z neutrofili badanych zwierząt oraz preparat otrzymany z błon zewnętrznych bakterii gram ujemnych (OMP). Badanie będzie przeprowadzone na grupie 50 koni w zbliżonym wieku, w jednakowych porach roku i przebywających w zbliżonych warunkach atmosferycznych, aby zredukować do minimum wpływ warunków środowiskowych na wyniki badania. W ramach procedury od wszystkich zwierząt zostanie pobrana krew obwodowa w celu pozyskania preparatów krwiopochodnych z neutrofili tj. koncentrat mikropęcherzyków błonowych (MV) i ekstrakt przeciwdrobnoustrojowy (AMP) oraz w celu wyizolowania monocytów, które następnie zostaną zastymulowane wyżej

wspomnianymi izolatami. Następną czynnością będzie pobranie popłuczyn z drzewa tchawiczoskrzelowego (BAL) od koni ze stwierdzoną RAO o umiarkowanym stopniu zaawansowania choroby (36 koni) i 6 koni zdrowych. Po zakończeniu procedury diagnostycznej i badawczej kolejną czynnością będzie niezwłoczne, jednorazowe dotchawicze podanie preparatów w następujący sposób: jednej grupie zwierząt chorych (6 koni) podany zostanie wyłącznie płyn fizjologiczny, jednej grupie (6 koni) koncentrat mikropęcherzyków błonowych, pozostałe konie otrzymają: monocyty niestymulowane (6 koni) oraz monocyty stymulowane trzema różnymi czynnikami: preparatem z błon zewnętrznych bakterii gram ujemnych (OMP) (6 koni), ekstraktem przeciwdrobnoustrojowym (AMP) (6 koni), mikropęcherzykami błonowymi MV (6 koni). W grupie kontrolnej 6 koniom zdrowym zostanie podany płyn fizjologiczny, a 8 koni zostanie pozostawionych bez interwencji. Wykonane czynności posłużą do oceny następujących wskaźników: morfologii krwi, aktywności obwodowych neutrofili, wydzielania neutrofilowych mikropęcherzyków błonowych (MV) w przebiegu RAO w porównaniu do koni zdrowych. Badanie będzie początkowym etapem prac nad stworzeniem nowego leku, który w przeciwieństwie do stosowanych obecnie leków sterydowych, nie tylko przyczyni się do zmniejszenia objawów, ale również będzie miał działanie przyczynowe na układ odpornościowy i przyczyni się do ustępowania zmian w obrębie układu oddechowego, co zdecydowanie poprawi jakość życia koniom chorym na RAO.

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

50 koni użytkowanych wierzchowo, w zbliżonym wieku, masa ciała 300-800 kg

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

Przygotowując projekt badawczy sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych:

PUBMED, AGRICOLA, Science Direct, Web of Science (JCR), ISCT

Wykorzystałam słowa kluczowe:

RAO, cell therapy, monocytes, neutrophil

Na podstawie informacji znalezionych w istniejącej literaturze stwierdzam, że nie został opracowany wiarygodny model pozwalający ocenić reakcje miejscową i ogólnoustrojową w RAO po podaniu stymulowanych monocytów.

W przygotowaniu projektu badań uwzględniono zasady zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia:

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

### Zasada zastąpienia - REPLACEMENT

Badania hematologiczne są standardową procedurą w diagnostyce i ocenie efektów leczenia, nie można go zastąpić innym badaniem. Ze względu na specyficzność gatunkową występowania RAO nie można zastąpić konia innym gatunkiem, ani innym modelem niższego kręgowca. Nie ma możliwości wykonania tego typu badań na hodowlach komórkowych ani tkankowych.

### Zasada ograniczenia - REDUCTION

Przyjęto minimalną liczbę zwierząt, konieczną do uzyskania porównywalnych wyników możliwych do analizy statystycznej (analizy wariancji ANOVA), zarówno w badaniach laboratoryjnych, jak i obrazowych. Duża liczba zaplanowanych do wykorzystania zwierząt wynika ze szczegółowego planu eksperymentu, zakładającego dużą liczbę grup badawczych oraz odpowiadającą im liczbę zwierząt kontrolnych podzielonych na dwie podgrupy. Doświadczenie będzie obejmować następujące grupy: grupa badawcza (6 koni)-dotchawicze podanie płynu fizjologicznego, grupa badawcza (6 koni)-dotchawicze podanie zawiesiny MV, grupa badawcza (6 koni)-dotchawicze podanie monocytów niestymulowanych, grupa badawcza (6 koni)- dotchawicze podanie OMP, grupa badawcza (6 koni)-dotchawicze podanie monocytów stymulowanych AMP, grupa badawcza (6 koni)- dotchawicze podanie monocytów stymulowanych MV, grupa kontrolna (6 koni)- dotchawicze podanie koniom zdrowym płynu fizjologicznego, grupa kontrolna (8 koni) –tylko pobieranie krwi. Grupy badawcze składają się z 6 osobników każda, jako minimalna liczba zwierząt do celów analizy statystycznej.

### Zasada udoskonalania - REFINEMENT

Planowany eksperyment został opracowany w oparciu o obserwacje kliniczne oraz literaturę naukową, opisującą zastosowanie elementów układu białokrwinkowego w terapii komórkowej astmy. Jednakże procedurę udoskonalono pod kątem przydatności do zabiegu transplantacyjnego odpowiednio zmodyfikowanych monocytów, aby zwiększyć zakres skuteczności leczenia. Ułatwi to również porównywanie wyników badań z innymi ośrodkami, a w konsekwencji pozwoli na udoskonalenie procedur w badaniach na zwierzętach. Uzyskane wyniki wartości biomarkerów będą stanowiły podstawę monitorowania procesu leczenia u ludzi i zwierząt, co pozwoli ograniczyć stosowanie technik inwazyjnych w trakcie terapii. Badanie poprzedzi siedmiodniowy okres habituacji, aby przyzwyczaiły się do osób przeprowadzających eksperyment. Konie przed rozpoczęciem postępowania będą uspokojone w obecności właściciela przez delikatne głaskanie boku szyi i przemawianie monotonnym uspokajającym głosem. Autorzy dołożyli maksimum starań, opracowując technikę transplantacji monocytów oraz instrumentarium pozwalające na szybki i możliwie atraumatyczny dla zwierząt zabieg, w celu ograniczenia ich dyskomfortu związanego z badaniem.

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

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

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

☒ NIE

---

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