

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: *Opracowanie skutecznej profilaktyki i leczenia endometriozy – model eksperymentalny*
2. Czas trwania projektu: 25 września 2017 - 28 września 2018
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): endometrioza, RUCA-1, berberyna, model eksperymentalny - szczury
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.

Celem proponowanego projektu będzie ocena wpływu modulacji odpowiedzi immunologicznej przy pomocy swoistego immunomodulatora – szczepionka RUCA-1 na profilaktykę i leczenie endometriozy, a także wpływu wyciągu z *Chelidoniummajus* (zawierającego berberynę) na jej rozwój.

Aktualnie dostępne leczenie farmakologiczne nie przewiduje pełnego i trwałego efektu w leczeniu endometriozy, a związane z nimi skutki uboczne mają znaczny wpływ na pogorszenie jakości życia leczonych pacjentek. Z tego powodu, jest ciągle poszukiwanie nowych form leczenia endometriozy i propozycja autorów projektu w kierunku wykorzystania odpowiedzi immunologicznej przy pomocy zaproponowanego swoistego immunomodulatora jakim jest szczepionka RUCA-1, a także berberyna, które to w badaniach wstępnych wykazały pozytywną odpowiedź.

Jednak dotychczasowe badania na temat wpływu modulacji odpowiedzi immunologicznej przy pomocy

swoistego immunomodulatora - szczepionka RUCA-1, na profilaktykę i leczenie endometriozy, a także wpływu berberyny na jej rozwój nie zostały w pełni wyjaśnione, stąd istnieje konieczność kontynuacji badań.

Endometrioza należy do najpoważniejszych problemów współczesnej ginekologii. Pomimo szybkiego rozwoju wiedzy na temat tego schorzenia nadal nie wyjaśniono w pełni jego etiologii, co powoduje brak skutecznej terapii, a także profilaktyki. Diagnostyka endometriozy polega na obrazowaniu laparoskopowym z potwierdzeniem histopatologicznym. Uznane leczenie endometriozy polega na usunięciu chirurgicznym wszystkich widocznych w polu operacyjnym ognisk endometriozy oraz terapii farmakologicznej. Niestety, w okresie 5 lat dochodzi do około 30-40% nawrotów. W sytuacji występowania endometriozy u około 10-20% kobiet w wieku rozrodczym jest to ogromny problem medyczny, jak również społeczny. Efekt społeczny schorzenia wynika z jego objawów, tj. ograniczenia płodności oraz dolegliwości bólowych.

Dlatego zaproponowany projekt jest tak ważny, nie tylko medycznie, ale i społecznie i ekonomicznie w kontekście zdrowia publicznego polskiego (i nie tylko) społeczeństwa, a przede wszystkim kobiet.

Schemat planowanego eksperymentu zakłada utworzenie 8 grup po 8 szczurów:

- I. Zwierzęta szczepione profilaktycznie podskórnie szczepionką RUCA-1 na 2 tygodnie przed wywołaniem endometriozy - profilaktyka (Procedura I)
- II. Zwierzęta szczepione profilaktycznie podskórnie szczepionką RUCA-1 i podanie zwierzętom sondą dożołądkowoberberyny na 2 tygodnie przed wywołaniem endometriozy - profilaktyka (Procedura II)
- III. Zwierzęta, którym zostanie podana sondą dożołądkowoberberyna na 2 tygodnie przed wywołaniem endometriozy - profilaktyka (Procedura III)
- IV. Zwierzęta leczone po 3 miesiącach od wywołania endometriozy poprzez usunięcie chirurgiczne ognisk endometriozy – leczenie (Procedura IV)
- V. Zwierzęta leczone po 3 miesiącach od wywołania endometriozy poprzez podanie podskórne szczepionki RUCA-1 - leczenie (Procedura V)
- VI. Zwierzęta leczone po 3 miesiącach od wywołania endometriozy poprzez podanie podskórne szczepionki RUCA-1 i dożołądkowoberberyny - leczenie (Procedura VI)
- VII. Zwierzęta leczone po 3 miesiącach od wywołania endometriozy poprzez podanie zwierzętom sondą dożołądkowoberberyny - leczenie (Procedura VII)
- VIII Grupa kontrolna – operacja pozorowana – kontrola zabiegu (Procedura VIII)

Przy wykonywaniu badań na zwierzętach zawsze stosowana będzie tzw. zasada 3R (Replacement, Reduction, Refinement), która ma na celu ochronę zwierząt – pełne uzasadnienie zasady 3R – punkt 5 i 8.

Cel eksperymentu został zakwalifikowany zgodnie z ustawą art. 3 – jako; Cel badań – Badania podstawowe; Rodzaje badań – Układ moczowo-płciowy i rozrodczy.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek	Wiek/stadium rozwoju	Liczba
Białe szczury szczepu Wistar	3-miesięczne; samice	64

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
- Google Scholar
- Web of Science (JCR)
- Scopus.

Wykorzystałam słowa kluczowe:

szczury/endometrioza/RUCA-1/berberyna/*Chelidoniummajus*/profilaktyka/leczenie

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

brak jest danych dotyczących skutecznej profilaktyki i leczenia endometriozy zaproponowanymi przeze mnie preparatami – RUCA-1 i berberyna.

- Nagromadzony materiał badawczy pozwoli na ocenę wpływu modulacji odpowiedzi immunologicznej przy pomocy swoistego immunomodulatora na profilaktykę i leczenie endometriozy (RUCA-1), a także wpływu berberyny na zahamowanie rozwoju.
- W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych dotyczących profilaktyki i leczenia endometriozy przy pomocy szczepionki RUCA-1 i berberyny.

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

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na podjęcie dalszych kroków w kierunku zaproponowania skutecznej terapii, a także profilaktyki endometriozy, która należy do jednych z najpoważniejszych problemów współczesnej ginekologii.

**A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku zastosowania preparatów**

W sytuacji występowania endometriozy u około 10-20% kobiet w wieku rozrodczym jest to ogromny problem medyczny, jak również społeczny. Efekt społeczny schorzenia wynika z jego objawów, tj. ograniczenia płodności oraz dolegliwości związanych z komfortem życia. Dlatego zaproponowany projekt jest tak ważny, nie tylko medycznie, ale i społecznie w kontekście zdrowia kobiet.

**B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na przyszłościowym wprowadzeniu preparatów/leków na rynek**

Kolejnymi etapami badań będą przygotowania preparatów do rejestracji, po badaniach przedklinicznych zostaną w dalszym etapie wykonane badania kliniczne.

Przy wykonywaniu wszystkich procedur na zwierzętach zawsze stosujemy zasadę 3R (Replacement, Reduction, Refinement), która ma na celu ochronę zwierząt. Szczurzy model badawczy jest niezbędny do oceny wybranych preparatów w odniesieniu do określonego stopnia rozwoju ewolucyjnego. Ograniczamy liczbę wykorzystywanych zwierząt, na których konieczne jest przeprowadzenie badania do minimum, aby uzyskać wiarygodne wyniki. Zastosowane zostaną najnowsze metody statystyczne opracowania wyników dla minimalnej liczby próbek. Procedury i zaplanowane w nich czynności zostały tak opracowane, aby całkowicie wyeliminować cierpienie zwierząt w doświadczeniach. W przypadku wystąpienia dystresu u zwierząt lub ewentualnego bólu po zabiegu zostanie podana buprenorfina jednorazowo.

## **Sposób realizacji zasady 3R**

### **Zasada udoskonalenia:**

Codziennie będzie prowadzona kontrola stanu zwierząt oraz co 2 dni wymiana ściółki, co potencjalnie pozwoli na szybkie zidentyfikowanie wszystkich chorych lub okaleczonych zwierząt i podjęcie odpowiednich działań oraz zapewnienie higieny. Ponadto, wszystkie czynności będą wykonywane przez znaną zwierzętom osobę wykonującą doświadczenie, ponieważ każda z procedur będzie poprzedzona oswojeniem/handlingiem, co pozwoli zwierzętom przyzwyczać się do eksperymentatorów i ograniczy ewentualny stres odczuwany przez zwierzęta. Zwierzęta będą utrzymywane w klatkach zawierających wzbogacenia (klocki drewniane, rurki). Osoba przeprowadzająca doświadczenie będzie również przygotowana do przeprowadzenia zabiegu uśmiercania w przypadkach nagłych przez zastosowanie humanitarnej procedury uśmiercania.

### **Zasada ograniczenia**

Zaproponowana liczebność grup badanych - 64 osobniki, stanowi optymalną ilość dla oceny wpływu zastosowanej szczepionki oraz berberyryna rozwój endometriozy. 8 zwierząt w grupie stanowi również ilość niezbędną do obliczeń statystycznych wyników badań i wyciągnięcia na tej podstawie właściwych wniosków z przeprowadzonego eksperymentu.

### **Zasada zastąpienia**

W odniesieniu do zaproponowanego doświadczenia szczury są modelowymi zwierzętami wykorzystywanymi w tego typu badaniach. Nie jest możliwe zastąpienie doświadczeń na zwierzętach metodami *in vitro* (hodowle komórkowe, tkankowe) ze względu na konieczność analizy mechanizmów zachodzących w organizmie żywym. Zastąpienie szczurów zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego również nie pozwoli potwierdzić lub wykluczyć hipotezy badawczej ze względu na różnice anatomiczne i fizjologiczne w porównaniu do ssaków. W związku z tym badania przeprowadzone na bezkręgowcach nie miałyby odniesienia do zjawisk obserwowanych u pacjentów.