

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Nowe, dwustopniowe rusztowania na bazie nanoapatytu wapnia (nHAP) inkorporowanego nanotlenkami żelaza ($\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{Fe}_3\text{O}_4$) z funkcją kontrolowanego uwalniania miRNA w statycznym polu magnetycznym do regeneracji złamań kostnych u pacjentów osteoporotycznych. Ocena in vivo osteogennych właściwości otrzymanych materiałów z wykorzystaniem modelu krytycznego ubytku czaszki u myszy typu SAMP6.

2. Czas trwania projektu: 07.11.2020- 07.11.2022

3. Słowa kluczowe: (maksymalnie 5 słów) nanoapatyty wapnia, regeneracja kości, teranostyka, osteoporoza, biomateriały

Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): **B. Badania translacyjne lub stosowane**

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.

W projekcie planowane jest wytworzenie innowacyjnego rusztowania, wspomagającego regenerację kości u pacjentów z osteoporozą starczą, jako alternatywę dla implantów metalowych. Opracowany przez nas materiał składa się z kryształów hydroksyapatytu (nHAP) nieorganicznego składnika kości odpowiedzialnego za jej mechaniczne właściwości, mikro RNA (miRNA) oraz nanocząstek

magnetycznych $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{Fe}_3\text{O}_4$. Taki układ zapewni możliwość kontrolowanego w czasie uwalniania terapeutycznego miRNA za pomocą statycznego pola magnetycznego, w zależności od tempa regeneracji złamania. nHAP wzbogaci macierz kostną, miRNA wpłynie na metabolizm komórek regulujących remodeling kości. miR-21 stymulował będzie mezenchymalne komórki macierzyste do różnicowania w osteoblasty, natomiast miR-124 ograniczy aktywność osteoklastów odpowiedzialnych za model kości.

Biokompatybilność proponowanego materiału została wstępnie zbadana w warunkach *in vitro* z wykorzystaniem) oraz linii osteoblastów MC3T3 oraz osteoklastów 4B12. Na drodze dalszych testów zostanie wyłoniony najlepszy materiał, przetestowany w warunkach *in vivo* z wykorzystaniem myszy SAMP6, stanowiących model zwierzęcy do badania osteoporozy. U zwierząt wykonane zostaną krytyczne ubytki czaszki wypełnione badanym materiałem. Zwierzęta w różnych odstępach czasowych zostaną umieszczone w statycznym polu magnetycznym aby uwolnić terapeutyczne cząsteczki miR-21, a następnie miR-124. Po zakończeniu eksperymentu, metodami biologii molekularnej, immunohistochemii oraz tomografii komputerowej, określony zostanie potencjał terapeutyczny materiału, a więc efektywność tworzenia nowej kości.

Zakładamy, że opracowany biomateriał, poprzez celowaną regulację aktywności odpowiednich populacji komórek znacznie przyspieszy regenerację kości u zwierząt. Uzyskane wyniki dostarczą cennych danych z zakresu syntezy innowacyjnych biomateriałów zdolnych do kontrolowanego uwalniania leku a także dodatkowej wiedzy o procesie regeneracji kości u osób cierpiących na zmiany osteoporozytczne.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Badania przewidują użycie myszy SAMP6 w 4 grupach po 10 zwierząt w każdej. Analizą zostanie objętych 40 myszy, ponieważ taka liczebność umożliwi sprawdzenie poprawności założonej tezy badawczej. Liczba wykorzystywanych w doświadczeniu zwierząt została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia celów i analizy statystycznej.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Uwzględnienie zasady zastąpienia:

Metodyka badawcza jest zweryfikowana i szeroko stosowana w badaniach naukowych dotyczących regeneracji tkanki kostnej. Myszy SAMP6 wykorzystane w doświadczeniu umożliwiają osiągnięcie celu badań. Należy jednak jasno podkreślić, że badania *in vivo* które planujemy przeprowadzić, zostały poprzedzone szeregiem testów *in vitro*, w których potwierdziliśmy wysoki potencjał terapeutyczny i bezpieczeństwo badanego materiału.

Uwzględnienie zasady ograniczenia:

Analizą zostanie objętych 40 myszy, ponieważ taka liczebność umożliwi sprawdzenie poprawności założonej tezy badawczej. Liczba wykorzystywanych w doświadczeniu zwierząt została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia celów i analizy statystycznej. Na podstawie przeprowadzonych analiz statystycznych wykazano że $n=10$ to ilość minimalna osobników wymaganych w badaniu aby uzyskać wartość minimalną błędu (błąd maksymalny 5%) w pomiarze przy ustalonym poziomie ufności (95%) do wyniku.

Uwzględnienie zasady udoskonalenia:

Zwierzęta będą utrzymywane zgodnie z wytycznymi zawartymi w Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 14 grudnia 2016 r. w sprawie minimalnych wymagań, jakie powinien spełniać ośrodek, oraz minimalnych wymagań w zakresie opieki nad zwierzętami utrzymywanymi w ośrodku.

Zwierzęta będą utrzymywane w specjalnych izolowanych, wentylowanych klatkach w 12-godzinnych cyklach jasnych i ciemnych, karmione standardową dietą i wodą *ad libitum*. Wszystkie myszy będą utrzymywane w standardowych warunkach. Wszystkie warunki środowiskowe (m.in. temperatura, wilgotność, naświetlenie) będą na optymalnym poziomie. Cierpienie zwierząt będzie ograniczone do minimum poprzez zastosowanie odpowiednich anestetyków i środków przeciwbólowych. Zwierzęta będą mieć zapewnione właściwe warunki utrzymania i wzbogacone środowisko, co pozwoli im na utrzymanie zachowań typowych dla gatunku.

Wszystkie czynności będą wykonywane przez doświadczonych badaczy.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

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

☐ NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.