

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu *Badanie rakotwórczości wielościennych nanorurek węglowych – podłoża dla inżynierii tkankowej - chrząstki stawowej*

2. Czas trwania projektu 1 stycznia 2019 – 31 lipca 2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) szczury/wielościenne nanorurki węglowe/rakotwórczość

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

Celem badań jest ocena toksykologiczna - rakotwórczości opracowanego nowatorskiego biokompatybilnego rusztowania dla odbudowy chrząstki stawowej na bazie wielościennych nanorurek węglowych.

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.

Poszukiwanie nowych metod leczenia uszkodzeń chrząstki stawowej stanowi wyzwanie dla naukowców. Zmiany zwyrodnieniowe będące następstwem uszkodzeń chrząstki stawowej są najczęstszym schorzeniem narządu ruchu. Choroba zwyrodnieniowa stawów jest obecnie trzecią pod względem częstości występowania przyczyną niesprawności w populacji światowej. Obecnie trwają

badania nad wprowadzeniem nowych technik operacyjnych oraz biokompatybilnych biomateriałów. Najnowsze badania skupiają się nad wprowadzaniem kolejnych modyfikacji rusztowań biowchłaniających, powstających poprzez wiązanie krzyżowe włókien (hybrydyzację) naturalnych i syntetycznych związków chemicznych. Biomateriały obecne są w medycynie od ponad 70 lat. Znalazły zastosowanie jako nici chirurgiczne, składniki cementu kostnego i implanty stosowane w ortopedii. Dziedzina, w której wykorzystuje się biomateriały w praktyce klinicznej powstała z połączenia wielu dyscyplin, m.in. medycyny, biologii, inżynierii, biotechnologii. W 1988 roku określono ją wspólnym mianem inżynierii tkankowej. Najnowszy kierunek badań w tej dziedzinie zmierza do stworzenia biokompatybilnych rusztowań (ang. scaffolds) na bazie naturalnych i syntetycznych związków chemicznych, w celu naprawy różnego rodzaju tkanek. Zadaniem, jakie powinna spełniać matryca jest przywrócenie, zachowanie lub poprawa funkcji tkanki, która jest celem terapii.

Głównym celem projektu będzie ocena toksykologiczna – działania rakotwórczego opracowanego, nowatorskiego, biokompatybilnego biomateriału - wielościennych nanorurek węglowych. Pełna baza danych uzyskana na podstawie wyników przeprowadzonych badań rakotwórczości *in vivo* posłuży do kontynuacji badań funkcjonalności chondrocytów osadzonych na rusztowaniach w naprawie uszkodzeń chrząstki stawowej.

Najważniejszym wkładem w dziedzinę, będzie uzyskanie i szczegółowa charakterystyka nowego biomateriału mającego potencjał w naprawie uszkodzeń chrząstki stawowej. Stworzenie odpowiedniego biomateriału wykorzystywanego do transplantacji komórek może przyczynić się do rozwoju nanomedycyny i medycyny regeneracyjnej. Dlatego zaproponowany projekt jest tak ważny, nie tylko medycznie, ale społecznie i ekonomicznie w kontekście zdrowia publicznego polskiego społeczeństwa.

Schemat planowanego eksperymentu zakłada utworzenie 6 grup zwierząt po: 18 szczurów (samców) dla 12, 18 i 24 miesięcy eksperymentu:

- I. Zwierzęta, którym podano (lipiec 2018) jednorazowo do stawu kolanowego wielościenne nanorurki węglowe – czas trwania eksperymentu 12 m-cy (Procedura I)
- II. Zwierzęta, którym podano (lipiec 2018) jednorazowo do stawu kolanowego wielościenne nanorurki węglowe – czas trwania eksperymentu 18 m-cy (Procedura II)
- III. Zwierzęta, którym podano (lipiec 2018) jednorazowo do stawu kolanowego wielościenne nanorurki

węglowe – czas trwania eksperymentu 24 m-ce (Procedura III)

IV. Zwierzęta kontrolne w ramach badań rakotwórczości wielościennych nanorurek węglowych – czas trwania eksperymentu 12 m-cy

V. Zwierzęta kontrolne w ramach badań rakotwórczości wielościennych nanorurek węglowych – czas trwania eksperymentu 18 m-cy

VI. Zwierzęta kontrolne w ramach badań rakotwórczości wielościennych nanorurek węglowych – czas trwania eksperymentu 24 m-ce

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 wymagane przepisami – Badania toksykologiczne; Rodzaje badań – Badanie rakotwórczości.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczur (*Rattus norvegicus*) / Wistar stado niekrewniacze (outbred)

4-tygodniowe (lipiec 2018), aktualnie 6-miesięczne; samce

108 samców

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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

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/wielościenne nanorurki węglowe/rakotwórczość

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

brak jest danych dotyczących rakotwórczości wielościennych nanorurek węglowych.

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwoli na ocenę rakotwórczości wielościennych nanorurek węglowych, a tym samym wyniki badań mogą być podstawą do zastosowania biomateriału w leczeniu jako nowatorskiego biokompatybilnego rusztowania dla odbudowy chrząstki stawowej na bazie wielościennych nanorurek węglowych.

B. W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych dotyczących rakotwórczości wielościennych nanorurek węglowych.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na podjęcie dalszych kroków w kierunku zaproponowania skutecznej terapii poprzez opracowanie nowego biomateriału, który może posłużyć jako nośnik komórek w procesie regeneracji chrząstki stawowej.

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

Poszukiwanie nowych metod leczenia uszkodzeń chrząstki stawowej stanowi wyzwanie dla naukowców. Zmiany zwyrodnieniowe będące następstwem uszkodzeń chrząstki stawowej są

najczęstszym schorzeniem narządu ruchu. Choroba zwyrodnieniowa stawów jest obecnie trzecią pod względem częstości występowania przyczyną niesprawności w populacji światowej. Obecnie trwają badania nad wprowadzeniem nowych technik operacyjnych oraz biokompatybilnych biomateriałów. Biomateriały obecne są w medycynie od ponad 70 lat. Znalazły zastosowanie jako nici chirurgiczne, składniki cementu kostnego i implanty stosowane w ortopedii. Dziedzina, w której wykorzystuje się biomateriały w praktyce klinicznej powstała z połączenia wielu dyscyplin, m.in. medycyny, biologii, inżynierii, biotechnologii. Najnowszy kierunek badań w tej dziedzinie zmierza do stworzenia biokompatybilnych rusztowań (ang. scaffolds) na bazie naturalnych i syntetycznych związków chemicznych, w celu naprawy różnego rodzaju tkanek. Zadaniem, jakie powinna spełniać matryca jest przywrócenie, zachowanie lub poprawa funkcji tkanki, która jest celem terapii. Celem badań jest ocena toksykologiczna - rakotwórczości opracowanego nowatorskiego biokompatybilnego rusztowania dla odbudowy chrząstki stawowej na bazie wielościennych nanorurek węglowych.

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

Najnowszy kierunek badań w dziedzinie inżynierii tkankowej zmierza do stworzenia biokompatybilnych rusztowań (ang. scaffolds) na bazie naturalnych i syntetycznych związków chemicznych, w celu naprawy różnego rodzaju tkanek. Zadaniem, jakie powinna spełniać matryca jest przywrócenie, zachowanie lub poprawa funkcji tkanki, która jest celem terapii. W leczeniu uszkodzeń chrząstki stawowej, rusztowanie powinno umożliwiać komórkom chrząstki proliferację w miejscu osadzenia, z zachowaniem właściwości chondrocytów. Tkanka naprawcza w formie trójwymiarowej (3D) mogłaby przez to łatwiej integrować się z otaczającą chrząstką.

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

Przy wykonywaniu wszystkich procedur na zwierzętach zawsze zostanie zastosowana zasada 3R (Replacement, Reduction, Refinement), która ma na celu ochronę zwierząt. Szczurzy model badawczy jest niezbędny do oceny opracowanego biomateriału 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 według wymogów Nr 451/EU B.32 (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Health Effects. Test No. 451: Carcinogenicity Studies, 2009) zostały tak opracowane, aby całkowicie wyeliminować cierpienie zwierząt w doświadczeniach.

Sposób realizacji zasady 3R

Zasada udoskonalenia:

Codziennie będzie prowadzona kontrola stanu zwierząt oraz co najmniej 1 razy w tygodniu (lub w zależności od potrzeb) 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 przyzwyczaić się do eksperymentatorów i ograniczy ewentualny stres odczuwany przez zwierzęta. Zwierzęta będą utrzymywane w klatkach zawierających wzbogacenia (klocki drewniane, bawełniane kokony na ściółce osikowej odpylonej). Osoba przeprowadzająca doświadczenie będzie również przygotowana do przeprowadzenia zabiegu uśmiercania w przypadkach nagłych przez zastosowanie humanitarnej procedury uśmiercania.

Zasada ograniczenia

Zaproponowana liczebność grup badanych (po 18 zwierząt w grupie, samce) – łącznie 108 osobników, stanowi optymalną ilość dla oceny rakotwórczości zastosowanego biomateriału według wymogów Nr 451/EU B.32 (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Health Effects. Test No. 451: Carcinogenicity Studies, 2009). Ponadto 18 zwierząt w grupie (samce) stanowi również minimalną liczbę, niezbędną do obliczeń statystycznych wyników badań i wyciągnięcia na tej podstawie właściwych wniosków z przeprowadzonego eksperymentu. Są to międzynarodowe wytyczne OECD dotyczące badań toksykologicznych rakotwórczości.

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.

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.