

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu ***Badanie in vivo biodystrybucji nanocząstek opartych na polidopaminie***
2. Czas trwania projektu 1 czerwca 2020 – 31 maja 2025
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) model *in vivo*/ nanocząstki/ polidopamina/ biodystrybucja/ narzędzia krytyczne.
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **A**

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.

Dotychczas wykazano szerokie możliwości zastosowania nanocząstek polidopaminy(PDA-NPs) w medycynie, jako wszechstronnego materiału do wytwarzania zaawansowanych nośników leków. Pomimo, że możliwości wykorzystania PDA-NPs wciąż rosną, pełna ocena ich profilu toksykologicznego nie została przeprowadzana. W związku z tym istnieje potrzeba kompleksowej analizy toksyczności.

Celem doświadczenia jest zbadanie *in vivo* biodystrybucji PDA-NPs przy wykorzystaniu szczurzego modelu eksperymentalnego. Sprawdzona zostanie biodystrybucja PDA-NPs po wstrzyknięciu do żyły ogonowej nanocząstek o trzech różnych rozmiarach (~40;~100;~200nm), w dwóch poziomach dawkowania(15;45mg/kg mc), wyselekcjonowanych w oparciu o testy *in vitro*. Podane dożylnie nanocząstki mogą przedostawać się do narządów, które mogą stać się miejscami ich kumulacji i działać toksycznie. Obrazowanie przyżyciowe przy pomocy fluorescencji oraz jądrowego rezonansu magnetycznego(MRI) pozwoli na obserwację PDA-NPs w organizmie.

Badanie zostanie przeprowadzone z udziałem 140 samic szczura wędrownego(*Rattus norvegicus*)

szczepu Wistar. Szczury(12-tygodniowe) zostaną losowo podzielone na 7 grup, odpowiadających kolejno procedurom I-VII, otrzymujących:

- I. PBS(vehiculum),n=20(5 osobników na każdy punkt czasowy);
- II. PDA-NPs~40nm;15mg/kg mc,n=20;
- III. PDA-NPs~100nm;15mg/kg mc),n=20;
- IV. PDA-NPs~200nm;15mg/kg mc),n=20;
- V. PDA-NPs~40nm;45mg/kg mc),n=20;
- VI. PDA-NPs~100nm;45mg/kg mc),n=20;
- VII. PDA-NPs~200nm;45mg/kg mc),n=20.

Obrazowanie zostanie wykonane nieinwazyjnie w 4 punktach czasowych po 1h;24h;7 i 28 dniach od podania(5 osobników na każdy interwał czasowy), z wykorzystaniem systemu Xenogen oraz skanera MRI-9,4-T. Następnie zwierzęta zostaną poddane sekcji. Przewidywane szkody w trakcie eksperymentu u badanych zwierząt doświadczalnych to stres związany z iniekcją. Na wypadek zaobserwowania innych oznak cierpienia(np. wokalizacja, samookaleczanie, niechęć do poruszania, utrata 20% normalnej masy ciała) procedura zostanie niezwłocznie zakończona, zwierzęta zostaną natychmiast humanitarnie uśmiercone. Szkodą ostateczną będzie śmierć zwierząt.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Badanie zostanie przeprowadzone z udziałem **140 samiec szczura wędrownego (*Rattus norvegicus*) szczepu Wistar, stado niekrewniacze outbred.**

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Na podstawie przeglądu istniejącej literatury, stwierdzam, że są to badania oryginalne, innowacyjne i brak jest danych dotyczących oceny biodystrybucji *in vivo* nanocząstek opartych na polidopaminie (PDA-NPs). Przy wykonywaniu wszystkich procedur na zwierzętach zawsze będzie stosowana zasada 3R (Replacement, Reduction, Refinement), odnosząca się do polepszenia bytu i humanitarnego traktowania zwierząt:

Zasada udoskonalenia: Codziennie będzie prowadzona kontrola stanu zwierząt co potencjalnie pozwoli na szybkie zidentyfikowanie wszystkich chorych lub okaleczonych zwierząt i podjęcie odpowiednich działań. Wszystkie czynności będą wykonywane przez znaną zwierzętom osobę wykonującą doświadczenie, procedury badawcze będą poprzedzone 5 dniowym 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,

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

bawełniane kokony na ściółce osikowej odpylonej), co poprawi ich dobrostan. Przed wizualizacją za pomocą systemu Xenogen IVIS-200 oraz Skanera MRI 9.4 T 310 mm do nieinwazyjnego obrazowania *in vivo*, zwierzętom zostanie podany anestetyk wziewnie (izofluran) co zminimalizuje dystres jakiego mogłyby doświadczyć zwierzęta. Oba systemy są wyposażone w specjalną komorę do tego celu (komora światłoszczelna, ciśnienie O₂: 55 psi, przepływ: 1 L/min, 5% iniekcja, 1,2% podanie). Osoba przeprowadzająca doświadczenie będzie również przygotowana do przeprowadzenia zabiegu uśmiercania (również w przypadkach nagłych) przez zastosowanie humanitarnej procedury uśmiercania, tak aby radykalnie zminimalizować ból, cierpienie, dystres (punkt 10).

Zasada ograniczenia: czyli zmniejszenie całkowitej liczby zwierząt użytych w doświadczeniu. Do oceny biodystrybucji PDA-NP znakowanych lucyferazą oraz metalem kontrastującym Fe³⁺, użytych zostanie po 5 osobników na każdy zaplanowany punkt czasowy (po 1h; 24h; 7 i 28 dniach od podania nanomateriałów), w każdej grupie badanej (II-VII) oraz w grupie I - kontrolnej (z PBS zamiast PDA-NPs). Między innymi ze względu na minimalizację ilości osobników użytych na potrzeby eksperymentu wybrano szczury jednej z płci (samice). Zaproponowana liczebność grup badanych stanowi optymalną liczbę aby zmaksymalizować naukową integralność generowanych danych przy jednoczesnym wykorzystaniu minimalnej liczby zwierząt, niezbędną do obliczeń statystycznych wyników badań i wyciągnięcia na tej podstawie właściwych wniosków z przeprowadzonego eksperymentu.

Zasada zastąpienia: W odniesieniu do zaproponowanego doświadczenia szczury wędrowne (*Rattus norvegicus*) szczepu Wistar są modelowymi zwierzętami wykorzystywanymi w badaniach toksykologicznych. Nie jest możliwe zastąpienie doświadczeń na zwierzętach metodami *in vitro* (hodowle komórkowe, tkankowe) ze względu na konieczność analizy mechanizmów zachodzących w organizmie żywym. Przedkliniczna faza badań musi obejmować modele *in vivo*, które możliwie odwzorowują układy narządów (system organów) w ludzkim organizmie, tak aby można je później przenieść na warunki kliniczne z udziałem ludzi. 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

X NIE

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