

## **C1. POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU BADAWCZEGO.**

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), osteoporoza jest chorobą szkieletu charakteryzującą się niską masą kości, upośledzeniem mikroarchitektury tkanki kostnej, a w konsekwencji jej znaczną podatnością na złamania. Osteoporoza starcza jest efektem zachodzących wraz z wiekiem zmian w metabolizmie kości, aktywności komórek tkanki kostnej oraz hormonów stymulujących kościotworzenie. Oszacowano, iż ryzyko złamania osteoporotycznego w ciągu życia wynosi około 40%. Ten rodzaj uszkodzeń kości staje się prawdziwą plagą- w Europie notuje się ich rocznie około 3 mln razy, jedno co 30 sekund. Dodatkowo, duże badania epidemiologiczne wykazały, że ryzyko złamania bliższego końca kości udowej jest wyższe niż wystąpienie raka sutka, macicy i jajników.

Kość to bardzo aktywna metabolicznie tkanka- przez cały okres życia organizmu zachodzą w niej procesy odnowy, resorpcji i naprawy. W warunkach prawidłowych, zarówno kościotworzenie jak i resorpcja kości działają ze sobą synergistycznie aby utrzymać homeostazę tkanki. Za przebudowę (remodeling) kości odpowiadają osteoblasty- syntetyzujące macierz kostną oraz osteoklasty- czyli komórki kościogubne, powodujące jej lizę. Proces przebudowy kości trwa przez całe życie i jest uwarunkowany czynnikami genetycznymi. W przypadku osteoporozy obserwuje się zachwianie równowagi pomiędzy aktywnością osteoblastów i osteoklastów, co skutkuje zwiększonym prawdopodobieństwem wystąpienia złamań a także trudnością w ich gojeniu. Główną metodą leczenia tego typu urazów jest unieruchomienie w opatrunku gipsowym lub gdy konieczne endoprotezoplastyka stawu, czyli wymiana całego stawu na sztuczny, metalowy.

Pacjentom cierpiącym z powodu złamań osteoporotycznych z pomocą przychodzi inżynieria tkankowa i biomateriałowa, wytwarzająca nowatorskie implanty stosowane do zespolenia złamań. Dlatego też, w proponowanym projekcie, chcielibyśmy zaproponować wytworzenie innowacyjnego rusztowania, wspomagającego regenerację kości u pacjentów starszych jako alternatywę dla implantów metalowych. Opracowany przez nas materiał składałby się z kryształów hydroksyapatytu (nHAP)- nieorganicznego składnika kości odpowiedzialnego za jej mechaniczne właściwości, oraz molekuł mikro RNA (miRNA). Cząsteczki te zbudowane są z około 20 nukleotydów i wykazują się olbrzymią aktywnością biologiczną wpływając na profil ekspresji genów w komórkach. Pomiędzy kryształami nHAP a miRNA znajdować się będzie łącznik w postaci nanocząstek magnetycznych  $Fe_2O_3/Fe_3O_4$ . Taki układ zapewni możliwość kontrolowanego w czasie uwalniania terapeutycznego miRNA w zależności od tempa regeneracji złamania. W tym celu w okolicę biomateriału należy przyłożyć statyczne pole magnetyczne (0,5 T), które spowoduje zerwanie wiązań pomiędzy cząsteczkami budującymi biomateriał. nHAP wzbogaci macierz kostną, natomiast miRNA wpłynie na metabolizm komórek regulujących remodeling kości. Proponowany przez nas materiał wzbogacony zostanie dwoma rodzajami miRNA. Uwalniany w pierwszej kolejności miR-21 stymulował będzie mezenchymalne komórki macierzyste do różnicowania w osteoblasty, natomiast miR-124 ograniczy aktywność osteoklastów odpowiedzialnych za model kości.

Skuteczność proponowanego materiału zostanie najpierw zbadana w warunkach *in vitro* z wykorzystaniem mezenchymalnych komórek szpiku kostnego (BMSC) oraz linii osteoklastów 4B12. W tym etapie określona zostanie biokompatybilność wytworzonych rusztowań, ich właściwości osteogenne oraz efektywność w dostarczaniu miRNA do komórek docelowych. Najlepszy materiał zostanie następnie przetestowany w warunkach *in vivo* z wykorzystaniem myszy SAM/P6, stanowiące 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, określona zostanie potencjał terapeutyczny materiału, a więc efektywność tworzenia nowej kości.

Zakładamy, że opracowany przez nas 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 osteoporotyczne.