

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. **Tytuł projektu:** „BIOPSJA BLASTOMERÓW I POWSTANIE ZESPOŁU METABOLICZNEGO: PRÓBA OSZACOWANIA RYZYKA NA MODELU MYSIM” No rej. 2015/19/D/NZ4/03696
2. **Czas trwania projektu:** 1 listopad 2016 - 31 październik 2019
3. **Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów):** Biopsja Blastomerów, Zespół Metaboliczne, Mysz
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)

Ponad 1% dzieci na świecie urodziło się w wyniku stosowania technik wspomaganego rozrodu i liczba ta ciągle rośnie. Często, w celu wykrycia w zarodku – przed jego przeszczepienie do macicy - anomalii genetycznych, stosowana jest przedimplantacyjna diagnostyka genetyczna związana z koniecznością zastosowania inwazyjnej procedury jaką jest Biopsja Blastomerów (BB), polegająca na usunięciu z bruzdkującego zarodka pojedynczej komórki (blastomeru), która następnie poddana będzie analizie genetycznej. Niewiele jest wiadomo odnośnie bezpieczeństwa stosowania BB, zwłaszcza jej konsekwencji w okresie postnatalnym. W celu określenia, czy BB zaburza rozwój zarodkowy prowadząc do pojawienia się u potomstwa zespołu metabolicznego (MS), 8-komórkowe zarodki myszy poddawane będą BB, a następnie hodowane in vitro do stadium blastocysty. Kontrolą będą : zarodki poddane BB, w których usunięty blastomer zostanie z powrotem wprowadzony do zarodka; zarodki hodowane in vitro; zarodki rozwijające się in vivo. Zarodki hodowane in vitro przeszczepiane będą w stadium blastocysty do samic w ciąży rzekomej. Urodzone potomstwo poddane zostanie podstawowym badaniom klinicznym oraz ocenie ich parametrów fizjologicznych. Zwierzęta zostaną uśmiercone, a ich narządy przechowywane będą w -80°C. W celu identyfikacji zaburzeń szlaków związanych z MS, przeprowadzona będzie analiza transkryptomu podwzgórza i wątroby (pozostałe narządy będą dostępne dla naukowców z Polski i EU). Wyniki badań poszerzą znacznie, ograniczoną do tej pory, wiedzę odnośnie konsekwencji stosowania BB i wykażą czy istnieje/lub nie bezpośredni związek pomiędzy BB i MS. Wyniki badań będą spójne z założeniami H2020, którymi są: “to improve our understanding of the causes and mechanisms underlying health and disease” oraz “to improve our ability to monitor health and prevent/manage disease”.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

- Mysz: 175 zwierząt (110 samic i 65 samców)

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

- **Zastąpienie:** Badanie ukierunkowane na problematykę rozwoju ssaków muszą być prowadzone (ze względu na ich specyfikę) wyłącznie na ssaczyc modelach zwierzęcych. Gryzonie (mysz) są w tych badaniach oraz w planowanych w tym projekcie modelami najbardziej dogodnymi. Nie ma żadnych metod alternatywnych (np. wykorzystanie linii komorkowych), które można by zastosować do badań nad zarodkami i urodzonym potomstwem.
- **Ograniczenie:** Na podstawie naszych doświadczeń liczba zwierząt została ograniczona do absolutnego minimum. Szczegółowa kalkulacja liczby użytych zwierząt podana została w punkcie 5.A.: 65 samców i 110 samic. Liczba 15 samców wasektomowanych jest minimalną liczbą, która można użyć do pokrycia 60 samic biorczyń w czasie przewidywanego 2-2.5 letniego okresu prowadzenia prac eksperymentalnych. Wynika to m.in. z tego, że starzeją się one i po ok. roku ich zdolność do krycia ulega znacznemu ograniczeniu. Z kolei 60 samic biorczyń będzie podzielone na trzy grupy (po 20 samic), do których przeszczepiane będą zarodki z grupy doświadczalnej oraz dwóch grup kontrolnych. Do jednej samicy przeszczepiane jest max. 12 zarodków, co przy najlepszej skuteczności transferu (70%) umożliwić może (teoretycznie) uzyskanie w każdej grupie ok. 160 implantacji. Ze względu jednak na to, że nie wszystkie ciąży są utrzymywane do końca oraz że część płodów obumiera we wczesnym etapie rozwoju, spodziewać się można, że – w praktyce – uzyskanych zostanie w każdej grupie nie więcej niż 80-90 urodzonych osobników, z których część (zwłaszcza pochodzących z zarodków poddanych manipulacjom) rodzi się martwa lub jest zjadana przez matkę zaraz po porodzie. Przedstawiona kalkulacja opracowana została na podstawie wieloletnich doświadczeń [REDAKTOWANO] [REDAKTOWANO], jednego z dwóch głównych ośrodków w Polsce zajmujących się embriologią eksperymentalną myszy. Istotnym ograniczeniem jest również to, że dwa testy fizjologiczne (Procedura III, czynność 1) przeprowadzone będą na próbkach krwi pobranych od jednego osobnika. Należy zwrócić również uwagę, że wewnętrzne narządy użyte zostaną do nie tylko projektów planowanych w [REDAKTOWANO] [REDAKTOWANO] ale będą również mogły być udostępnione kolegom z innych placówek naukowych (Dyrektywa 2010/63 / UE Rozdz.1 - Art. 18 -wymiana / Wspólne wykorzystanie narządów do tkanek), co w istotny sposób zmniejszy liczbę zwierząt użytych w tych projektach.
- **Udoskonalenie:** Stosowane procedury są standardowymi procedurami stosowanymi w embriologii doświadczalnej ssaków. Stosowane podczas czynności przenoszenia zarodków i wasektomii znieczulenie ogólne, a także znieczulenie miejscowe zastosowane przy pobieraniu krwi z ogona, jak również środki przeciwbólowe oraz zapewnienie zwierzętom po operacji odpowiednich warunków, ograniczają do minimum ich ból, cierpienie i stres. Uśmiercanie zwierząt dokonywane będzie zgodnie z Dyrektywą poprzez dekapitację. Martwe zwierzęta zostaną oddane do utylizacji [REDAKTOWANO] [REDAKTOWANO]