

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Ocena ryzyka zaburzeń neurorozwoju potomstwa myszy uzyskanego w wyniku docytoplazmatycznej iniekcji nasienia (ICSI) pobranego od samców w zaawansowanym wieku.**

2. Czas trwania projektu: 30 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): ICSI, zaawansowany wiek rodzicielski, zaburzenia neurorozwojowe

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) : A. Badania podstawowe

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.

Bezpłodność jest poważnym problemem, z którym boryka się jedna na osiem par w wieku rozrodczym. Jedną z najczęściej wykorzystywanych technik wspomaganego rozrodu (ART) jest docytoplazmatyczna iniekcja plemnika (ICSI- Intracytoplasmic Sperm Injection). Wykorzystuje się ją głównie w przypadku, gdy mężczyzna ma problemy z płodnością spowodowane m. in. zaawansowanym wiekiem. Współczesne badania dowodzą, że dzieci urodzone w wyniku zastosowania technik wspomaganego rozrodu, są w większym stopniu narażone na wystąpienie zaburzeń ze spektrum autyzmu oraz nieprawidłowości w zakresie metylacji DNA w łożysku i krwi. Analizy danych dotyczących dzieci urodzonych w wyniku wykorzystania techniki ICSI wskazują na podwyższone ryzyko wystąpienia u nich cech autystycznych. Nie jest jednak jasne, czy za występujące zmiany odpowiadają procedury rozrodu wspomaganego, czy też przyczyny, z których tego typu leczenie bezpłodności

zostało zastosowane.

Projekt ten ma na celu ustalenie czy technika ICSI zwiększa ryzyko powstawania zaburzeń neurorozwoju takich jak zespół cech autystycznych u potomstwa. Ważnym aspektem prowadzonych badań będzie określenie ewentualnego efektu kumulacyjnego zaawansowanego wieku ojca przy równoczesnym wykorzystaniu techniki ICSI. Projekt zweryfikuje jak sam wiek ojca, bądź sama technika ICSI, oraz połączenie obydwu czynników wpłyną na występowanie cech autystycznych u potomstwa.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Łącznie w doświadczeniu zostanie wykorzystanych 312 myszy domowych (*Mus musculus*).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zastąpienie: Badanie ukierunkowane jest na problematykę rozwoju ssaków musi być prowadzone (ze względu na jego specyfikę) wyłącznie na ssaczych modelach zwierzęcych. Gryzonie (mysz) są w tych badaniach oraz w tych planowanych w projekcie modelami najbardziej dogodnymi. Nie ma żadnych metod alternatywnych (np. wykorzystanie linii komórkowych), które można by zastosować do badań nad zarodkami i urodzonym potomstwem. Podczas przygotowywania projektu badawczego została sprawdzona istniejąca wiedza w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: EBSCO; PUBMED; Google Scholar; ScienceDirect oraz Web of Science (JCR). Użyto słów kluczowych takich jak: ICSI, zarodek, rozwój zarodkowy, autyzm, model zwierzęcy, transfer zarodków, dziedziczność, zaawansowany wiek rozrodczy, techniki wspomaganego rozrodu, in vitro.

W planowanym doświadczeniu zdecydowano o wykorzystaniu myszy domowej jako modelu zwierzęcego do przeprowadzenia planowanych procedur. Nie jest możliwe wykonanie tego typu doświadczenia na liniach komórkowych czy hodowlach tkankowych, gdyż badane będą złożone zjawiska zachodzące podczas rozwoju zarodkowego i dalszego rozwoju osobników. Planowane doświadczenie może zostać wykonane wyłącznie przy użyciu modelu zwierzęcego, przy czym nie ma możliwości wykorzystania innego gatunku niż mysz domowa, jako najmniejszego możliwego do wykorzystania gatunku w celu uzyskania ssaczych zarodków i wykonania na nich mikromanipulacji. Te badania, jak również planowane testy behawioralne, zostały opracowane przede wszystkim i w sposób kompletny jedynie w modelu mysim.

A. Nagromadzony materiał badawczych (analiza metadanych) pozwala na stwierdzenie, że ryzyko występowania zaburzeń neurorozwojowych u dzieci poczętych w wyniku wykorzystania docytoplazmatycznej iniekcji plemnika (ICSI) jest podwyższone.

B. Brak jest danych potwierdzających, że to sama inwazyjna technika zwiększa to ryzyko, a nie towarzyszące temu czynniki jak podwyższony wiek ojca, przy którym technika ta jest stosowana.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na rozpoznanie zagrożeń związanych z wykorzystywaniem technik wspomaganego rozrodu. Umożliwią one również zdefiniowanie czy sama procedura ICSI powoduje

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

negatywny wpływ na rozwój potomstwa, czy dominującym czynnikiem jest zaawansowany wiek rodzicielski ojca.

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku poznania wpływu ICSI na rozwój potomstwa przyczyni się do zwiększenia bezpieczeństwa stosowanej techniki.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegającej na poznaniu ryzyka oraz skali występowania zaburzeń neurorozwojowych u potomstwa uzyskanego w ramach wykorzystania docyt oplazmatycznej iniekcji plemnika umożliwi dalsze badania nad wpływem ICSI na rozwój zarodka oraz może zapoczątkować prace mające na celu udoskonalenie wykorzystanej techniki oraz poszukiwanie metod alternatywnych.

Ograniczenie: Na podstawie naszych doświadczeń liczba zwierząt została ograniczona do absolutnego minimum. Wykorzystanie superowulacji do zwiększenia ilości pozyskiwanych zarodków pozwoli na ograniczenie liczebności samic dawczyń w powyższym projekcie- zachowana zostanie zasada 1 samica dawczyni na jedną samicę biorczynię. Do jednej samicy przeszczepiane jest max. 12 zarodków, co przy najlepszej skuteczności transferu umożliwić może (teoretycznie) uzyskanie ok. 70% implantacji. Określenie minimalnej liczby zwierząt niezbędnych do przeprowadzenia oceny rozwoju i zachowania zostało przeprowadzone na podstawie analizy statystycznej (12 osobników z każdej płci na jedną grupę badawczą) po uwzględnieniu nie przeprowadzania więcej niż 3 testów na jednym zwierzęciu, aby zminimalizować jego stres.

Udoskonalenie: Stosowane procedury są standardowymi procedurami stosowanymi w embriologii doświadczalnej ssaków. Stosowane podczas czynności przenoszenia zarodków i wazektomii znieczulenie ogólne, jak również środki przeciwbólowe oraz zapewnienie zwierzętom po operacji odpowiednich warunków, ograniczają do minimum ich ból, cierpienie i stres, bez zakłócenia przebiegu eksperymentu. Pomiędzy testami behawioralnymi zostanie utrzymany tygodniowy odstęp czasu aby nie zwiększać strasu zwierzęcia. Uśmiercanie zwierząt dokonywane będzie zgodnie z Dyrektywą poprzez dyslokację kręgów szyjnych przeprowadzoną przez doświadczonego eksperymentatora. Martwe zwierzęta poddane zostaną utylizacji zgodnie z obowiązującymi przepisami.

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.