

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: **Obrazowanie OCM w ocenie zdolności oocytów i zarodków myszy do rozwoju przedimplantacyjnego**

2.Czas trwania projektu: **3 lata** (1 sierpnia 2018- 31 lipca 2021)

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **optyczna mikroskopia koherencyjna, oocyt, zarodek, mysz, rozwój przedimplantacyjny**

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.

Niepłodność dotyka ok. 15% par w wieku rozrodczym, a jednym z najpopularniejszych obecnie sposobów jej leczenia jest zapłodnienie in vitro (IVF). Oprócz znaczenia klinicznego, IVF odgrywa też istotną rolę w praktyce weterynaryjnej: wspomaga rozród zwierząt gospodarskich i zagrożonych wyginieciem. Aby zwiększyć efektywność procedury IVF stosuje się różne metody oceny potencjału rozwojowego zarodków, wspomagające wybór tych, które po przeniesieniu do macicy będą miały największe szanse na pełen rozwój. Celem niniejszego badań przedstawionych w niniejszym wniosku jest sprawdzenie, czy do oceny jakości zarodków ssaków można wykorzystać optyczną mikroskopię koherencyjną (OCM – optical coherence microscopy), nowatorską metodę przyżyciowej wizualizacji wnętrza komórek. **Oocyty i zarodki myszy** będą poddawane obrazowaniu OCM w celu ustalenia różnych parametrów morfologicznych (np. rozmieszczenia cystern endoplazmatycznego retikulum i mitochondriów, struktury i lokalizacji wrzeciona podziałowego, liczby i struktury jąder komórkowych, dynamiki tworzenia się i migracji jąder interfazowych w zygocie),

które mogą być wyznacznikami ich potencjału rozwojowego. Następnie analizowany będzie związek między badanymi parametrami, a zdolnością oocytów/zarodków do rozwoju przedimplantacyjnego.

We wcześniejszych badaniach wykazaliśmy, że dzięki zoptymalizowanym protokołom skanowania OCM i analizy obrazu, możemy wykorzystać ruch cytoplazmy w komórce do znaczącego zredukowania szumu optycznego i uzyskania obrazów 3D wysokiej jakości (Karnowski i wsp. (2017) Sci Rep 7: 4165). Jednak według naszej wiedzy, technika OCM nie była do tej pory wykorzystywana do oceny potencjału rozwojowego oocytów/zarodków ssaków, choć niewątpliwie może ona dostarczyć wielu przydatnych informacji. Na uwagę zasługują także wybrane przez nas parametry, które będą podlegać ocenie poprzez pomiar OCM – wiele z nich nie było dotychczas dokładnie przebadanych pod kątem przydatności jako wyznacznik jakości zarodka.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

117 samic myszy F1 (C57BL/6/Tar x CBA/Tar)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazie danych PubMed (słowa kluczowe: optical coherence microscopy, oocyte, embryo) i nie znalazłam danych dotyczących wykorzystania techniki OCM do oceny potencjału rozwojowego oocytów i zarodków myszy. Jednocześnie moje wcześniejsze doświadczenia z wykorzystaniem tej metody (Karnowski i wsp., 2017, Sci Rep 7: 4165) pozwalają założyć, że technika OCM może dostarczyć wielu cennych informacji o jakości oocytów i zarodków. Projekt ten został też pozytywnie zaopiniowany przez niezależne grono ekspertów i rekomendowany do finansowania w programie Opus 14 NCN.

Zasada zastąpienia

Ze względu na charakter badanych procesów (badanie mechanizmów warunkujących prawidłowy rozwój zarodka) nie jest możliwe przeprowadzenie doświadczeń bez udziału zwierząt, a z wykorzystaniem metod alternatywnych (np. linii komórkowych). Mysz jest podstawowym modelem zwierzęcym w badaniach embriologicznych. Wiadomo, że biologia rozwoju myszy jest dużo bardziej zbliżona do ludzkiej niż biologia rozwoju jakichkolwiek bezkręgowców czy niższych kręgowców (Müller, W., Hassel, M., Greal, M. (2015). The Human. W: Development and Reproduction in Humans and Animal Model Species, strony: 169-213. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.). Zastąpienie myszy jednym z gatunków bezkręgowców czy niższych kręgowców, u których procesy zapłodnienia i rozwoju

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

przebiegają inaczej niż u ssaków, nie umożliwiłoby uogólnienia uzyskanych wyników na gatunek ludzki. Ponadto, procedury pracy z oocytami, w tym zapłodnienie in vitro czy obrazowanie pokłatkowe, są znacznie lepiej opracowane dla myszy niż dla innych gatunków ssaków. Łatwiej też uzyskane wyniki przeanalizować w kontekście istniejących już badań, czy rozwinąć w następnych projektach.

Zasada ograniczenia

W celu ograniczenia liczby wykorzystanych myszy zostanie zastosowana indukcja hormonalna wzrostu pęcherzyków jajnikowych oraz owulacji. Pozwoli to na otrzymanie większej liczby oocytów lub zarodków od jednej samicy (liczba uzyskanych oocytów/zarodków jest ok. 2-3-krotnie większa niż w przypadku samic niestymulowanych). Ponadto stymulacja hormonalna pozwala na synchronizację owulacji u wykorzystywanych w doświadczeniu myszy, dzięki czemu uzyskuje się zarodki na pożądanym etapie rozwoju. We wniosku przewidziana jest minimalna liczba zwierząt konieczna do analizy statystycznej uzyskanych wyników.

Zasada udoskonalenia

Badania będą prowadzone przez osobę z wieloletnim doświadczeniem w pracy ze zwierzętami, która na bieżąco, w ścisłej współpracy z obsługą zwierzętarni, będzie kontrolować ich dobrostan. Zwierzęta wykorzystywane w doświadczeniach będą miały zapewnione odpowiednie warunki bytowe. W klatkach będą znajdowały się wzbogacenia takie jak wełna drzewna, tekturowe rurki i domki, które posłużą do budowy gniazda i zabawy. Z racji tego, że opisane we wniosku iniekcje dootrzewnowe hormonów oraz uśmiercanie zwierząt są kwalifikowane jako łagodne lub umiarkowane pod względem stopnia dotkliwości, nie będzie stosowane znieczulenie przy ich wykonywaniu. Dodatkowy zastrzyk przeciwbólowy spowodowałby jedynie dodatkowy stres zwierzęcia.

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.