

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Wpływ suplementacji hormonu wzrostu na rozwój myszy z mutacją w genie [REDACTED] – badanie pilotażowe

2. Czas trwania projektu 1.03.2019-1.03.2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) poliadenylacja mRNA, przysadka, hormon wzrostu, polimerazy, suplementacja

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.

Celem proponowanego doświadczenia jest sprawdzenie jak suplementacja egzogennej hormonu wzrostu wpływa na stan myszy z delecją badanego genu, będącego niekanoniczną polimerazą poli(A). Myszy te są bardzo istotnym modelem badawczym, gdyż analogiczne mutacje zostały zidentyfikowane u części pacjentów cierpiących na rzadką chorobę genetyczną – wrodzoną łamliwość kości.

Myszy homozygotyczne względem mutacji przejawiają szkodliwy fenotyp, który zgodnie wytycznymi zaklasyfikowano jako łagodny. Najważniejszymi cechami ich fenotypu są karłowatość (około 30% lżejsze niż myszy typu dzikiego) oraz osteopenia nieprowadząca do złamań kości i zaburzenia postawy niezaburzające zdolności motorycznych. Myszy te nie wykazują objawów cierpienia.

Oś przysadka-podwzgórze jest centralnym regulatorem homeostazy hormonalnej organizmu. Z doświadczeń przeprowadzonych w naszym laboratorium wynika, że mRNA kodujące jeden z tych hormonów jest poliadenylowane przez białko badane przez nas białko. W związku z tym w przypadku delekcji badanego genu transkrypt może być niestabilny, a co za tym idzie, jego produkcja może być zmniejszona. Prawdopodobnie konsekwencją tego jest znacznie obniżony poziom hormonu wzrostu, który może mieć wpływ na funkcjonowanie organizmu.

Podstawowym pytaniem, na jakie ma odpowiedzieć planowane doświadczenie brzmi: czy podanie egzogennej hormonu wzrostu myszom z delecją badanego genu może, choć częściowo, odwrócić ich fenotyp. Szczególnie interesujące jest czy gęstość kości myszy ulegnie zwiększeniu. Gdyby nasza hipoteza okazała się być prawdziwa, pacjenci chorujący na wrodzoną łamliwość kości związaną z mutacjami w badanym genie mogliby być leczeni przy pomocy suplementacji hormonu wzrostu.

Proponowane badanie jest badaniem pilotażowym mającym na celu ustalenie podawanej dawki hormonu wzrostu oraz sprawdzenie czy nasza hipoteza dotycząca odwrócenia efektu mutacji w wyniku podawania egzogennej hormonu wzrostu jest prawdziwa.

Myszom z delecją badanego genu podawany będzie podskórnie hormon wzrostu. Suplementacja będzie prowadzona przez 5 tygodni począwszy od 7 dnia życia myszy. Przez cały okres eksperymentu myszy będą ważone i mierzone. Po zakończeniu suplementacji myszy będą uśmiercane w celu pobranie tkanek.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mus musculus (mieszanie międzyszczepowe C57BL/6/TarxCBA/Tar) – 28 samców.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam/sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

PubMed, Google Scholar, ScienceDirect, Ebsco

Wykorzystałam/em słowa kluczowe: (nazwa badanego genu), ncPAP, non-canonical poly(A), GH, GHRH, hormones, polyadenylation, *Osteogenesis imperfecta*

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

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

Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: badany gen jest niekanoniczną polimerazą poli(A), której wpływ na funkcjonowanie organizmu nie został opisany, dostępne są jedynie dane fragmentaryczne. U grupy pacjentów cierpiących na wrodzoną łamliwość kości odnaleziono mutacje w badanym genie.

Brak jest danych dotyczących: patogenyzy badanej mutacji w przebiegu wrodzonej łamliwości kości, roli badanego genu w regulacji ekspresji hormonów peptydowych produkowanych przez przysadkę i podwzgórze, próby terapii pacjentów z wrodzoną łamliwością kości, niemających mutacji w genach kolagenu przy pomocy hormonu wzrostu.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku: proponowane doświadczenie pozwoli sprawdzić czy egzogeny hormon wzrostu może odwrócić fenotyp myszy z mutacją w badanym genie, a tym samym zwiększyć ich rozmiar oraz gęstość kości.

Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegającej na: określenie wpływu hormonu wzrostu na stan kości u myszy z badaną mutacją może pozwolić na wprowadzenie nowej terapii dla pacjentów chorujących na wrodzoną łamliwość kości, związanego z mutacją z tą samą mutacją

Zastąpienie:

Badane białko jest polimerazą mającą wpływ na poziom ekspresji hormonów produkowanych przez przysadkę i podwzgórze, a więc mających wpływ na funkcjonowanie całego organizmu. Nie jest możliwe zbadanie jej działania bez użycia modelu zwierzęcego. Hormon wzrostu ma efekt pleiotropowy na organizm, więc niemożliwe jest dogłębne zbadanie jego suplementacji w liniach komórkowych.

Udoskonalenie:

Myszami będzie opiekował się wykwalifikowany personel, myszy będą ściśle obserwowane. Ze względu na karłowatość myszy, ich okres przebywania z matką zostanie wydłużony do około 4-5 tygodni, a po odstawieniu od matki standardowa karma zostanie suplementowana dodatkiem mleka dla zwierząt) przez okres około 2 tygodni. Myszy będą nastrzykiwane przy pomocy wysokiej klasy strzykawek umożliwiających podanie minimalnej objętości leku. Użyty zostanie hormon zarejestrowany jako lek, co gwarantuje jego wysoką jakość.

Ograniczenie:

Dobrano minimalną liczbę myszy w grupie pozwalającą na zaobserwowanie różnic pomiędzy grupami. Odstąpiono od nastrzykiwania grupy kontrolnej placebo, ze względu na ich dobrostan. Doświadczenie będzie wykonywane w dwóch turach – jeśli pierwsza dawka hormonu okaże się być optymalna, odstąpimy od wykonywania drugiej tury.

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.