

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „*Wpływ procesu starzenia matczynego na poziom TERRA w oocytach*”

2. Czas trwania projektu 24. 09.2019.- 24.11.2019

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) TERRA, aging, embryonic development

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.

Celem doświadczenia jest sprawdzenie czy proces starzenia wpływa na ekspresję powtórzeń telomerycznego RNA (ang. telomeric repeat RNA- TERRA) oocytów (komórki jajowe) otrzymanych od dawczyń w różnym wieku (ang. maternal aging model). Proces starzenia matczynego (ang. maternal aging) charakteryzuje się skracaniem telomerów (ang. telomere shortening). Kluczową rolą TERRA jest regulowanie biologii telomerów oraz aktywności telomerazy. Do tej pory nie przeprowadzono badań nad znaczeniem TERRA z uwzględnieniem wieku dawczyń oocytów. Samice myszy domowej (*Mus musculus*) szczepu C57BL/6J będą karmione dietą standardową, i myszom w wieku 6 miesięcy (n=6), 12 miesięcy (n=6) lub 2 lat (n=6) zostaną podane odpowiednie hormony w celu wywołania superowulacji (protokół stymulacji hormonalnej trwa 48 godzin). Następnie, 12 godzin po ostatniej iniekcji hormonu, myszy zostaną humanitarnie uśmiercone, i z układu rozrodczego zostaną pobrane dojrzałe oocyty w metafazie II (procedura 1). Celem doświadczenia (kategoria A- badania podstawowe,

układ moczowo-płciowy i rozrodczy) będzie zbadanie ekspresji TERRA metodą RNA-FISH i wizualizacja w mikroskopie konfokalnym.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mus musculus; szczep C57BL/6J, samice, n=18.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: EBSCO; PUBMED; Google Scholar; AGRICOLA; ScienceDirect; Web of Science (JCR).

Wykorzystałem słowa kluczowe:

Maternal aging/ ovary/ TERRA/oocytes

Na podstawie istniejącej literatury stwierdzam, że na chwilę obecną nie ma wystarczającej wiedzy na temat wpływu wieku dawczyń oocytów na poziomu TERRA. Zastosowany model badawczy pozwoli zrozumieć jak TERRA może istotnie ograniczyć funkcje rozrodcze samic oraz jak uczestniczy w procesie skrócenia telomerów. Wykorzystanie metod biologii molekularnej oraz analiz bioinformatycznych pozwoli na ocenienie/porównanie stopnia zaburzeń wynikających z powodu podwyższonego wieku dawczyń komórek jajowych na oocyty.

Nagromadzony materiał badawczy pozwoli na stwierdzenie, czy wiek i TERRA ma wpływ na długość telomerów oocytów w jajnikach myszy C57BL/6J.

Brak jest wystarczających danych dotyczących, roli wieku na ekspresję TERRA w oocytach.

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

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- A) oszacowanie kluczowych czynników biorących udział w procesie starzenia oocytów
- B) rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku opracowania biomarkera niepłodności wynikającej m.in. na wiek dawczyni.
- C) zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na uświadomieniu społeczeństwa, że podwyższony wiek maczyny może być jednym z czynników wpływających na płodność.

Zgodnie z art. 4 Dyrektywy 2010/63/EU oraz art. 5 ustawy z dnia 15 stycznia 2015r. o ochronie zwierząt wykorzystanych do celów naukowych lub edukacyjnych zastosowano zasadę 3R (Reduction, Replacement, Refinement).

Zgodnie z zasadą zmniejszenia (Reduction):

- zgodnie z obliczeniami statystycznymi i przy użyciu odpowiednich formuł matematycznych aby zminimalizować liczbę n, liczba myszy na jedną grupę wiekową została określona z wynikiem $n=6$, więc ta liczba jest minimalnie potrzebna aby uzyskać statystycznie znaczące wyniki, dlatego w sumie na wszystkie 3 grupy wiekowe wychodzi $n=18$.

Zgodnie z zasadą zastąpienia (Replacement):

- przed przystąpieniem do badań in vivo zostały przeprowadzone wstępne badania in vitro które wykazały, że poziom TERRA jest zróżnicowany w różnych stopniach wczesnego rozwoju embriologicznego, ale warunki in vivo są niezbędne i nie zastąpione aby otrzymać wiarygodną odpowiedź biologiczną.

Zgodnie z zasadą udoskonalenia (Refinement):

- opracowano serię procedur i czynności, które przynosząc zakładany efekt badawczy przysporzą zwierzętom jak najmniej stresu i cierpienia;
- zwierzęta będą utrzymywane w kontrolowanych warunkach środowiskowych ze stałym dostępem do wody i paszy;
- wszelkie czynności związane z anestezją i humanitarnym uśmierceniem będą wykonywane zgodnie z przyjętymi zasadami obowiązującej dyrektywy 2010/63/EU.

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.