

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. **Tytuł projektu:** Wpływ biopsji blastomerów na rozwój łożyska (model mysz) [GA No KNOW/IGHZ/RPB/WEW/2016/03]
2. **Czas trwania projektu** : 1 wrzesień 2016 - 31 sierpień 2017
3. **Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów):** Biopsja blastomerów, ryzyko epigenetyczne, łożysko
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)

Przedimplantacyjna diagnostyka genetyczna (PGD –*Preimplantation Genetic Diagnosis*) jest testem pozwalającym wykryć w zarodkach, przed ich transferem do macicy, anomalie genetyczne. PGD wymaga zastosowania inwazyjnej procedury, jaką jest biopsja blastomeru (BB) polegająca na pobraniu jednej komórki z bruzdkującego zarodka i poddaniu jej analizie genetycznej. Chociaż wiadomo, że ciążę powstałą w wyniku zastosowania metod wspomaganego rozrodu (ART – *Assisted Reproductive Technologies*) są związane z ryzykiem zdrowotnym zarówno dla matki, jak i płodu, niewiele wiadomo o wpływie BB na rozwój łożyska. Główny celem projektu jest zbadanie, na modelu mysim, czy BB jest odpowiedzialna za nieprawidłowe zmiany epigenetyczne w łożysku, co skutkować może niepomyślnym przebiegiem ciąży. Celem weryfikacji, czy BB może zakłócać rozwój łożyska, 8-komórkowe zarodki poddane zostaną BB, a następnie hodowane będą *in vitro* (grupa doświadczalna). Utworzone będą również trzy grupy kontrolne złożone z: (1) zarodków poddanych BB, a następnie rekonstruowanych poprzez wprowadzenie usuniętego blastomeru z powrotem do zarodka; (2) zarodków hodowanych *in vitro*, bez zastosowania jakichkolwiek mikromanipulacji; (3) zarodków rozwijających się *in vivo*. Zarodki hodowane *in vitro* będą przenoszone, po osiągnięciu przez nie stadium blastocysty, do samic biorczyń. W 18.5 dniu ciąży samice będą uśmiercane przez dyslokacje kręgów szyjnych i pobierane będą z nich płody oraz łożyska. Płody i łożyska będą ważone, a następnie zamrażane w ciekłym azocie w celu analizy epigenetycznej przy zastosowaniu testu ELISA i Real Time PCR (qPCR).

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

- Mysz: 50 zwierząt (45 samic i 5 samców)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

- **Zastąpienie:** Badanie ukierunkowane na problematykę rozwoju ssaków musza być prowadzone (ze względu na ich specyfikę) wyłącznie na ssaczach modelach zwierzęcych. Gryzonie (mysz) są w tych badaniach oraz w planowanych w tym projekcie modelami najbardziej dogodnymi. Nie ma żadnych metod alternatywnych (np. użycie linii komórkowych) do badań nad zarodkami, łożyskami i płodami ssaków. Nie ma również możliwości uzyskania rozwoju poimplantacyjnego (**w tym wytworzenia łożyska**) poza organizmem matki., co uzyskane być może , w przypadku badań będących przedmiotem projektu, jedynie poprzez transfer zarodków do macic samic biorecznyń.
- **Ograniczenie:** Na podstawie naszych doświadczeń liczba zwierząt została ograniczona do absolutnego minimum. Szczegółowa kalkulacja liczby użytych zwierząt podana została w punkcie 5.A.: 5 samców i 45 samic. Podana liczba samców wasektomowanych jest minimalną liczbą samców, która pokryć może w ciągu kilku miesięcy (okres prac eksperymentalnych w czasie realizacji projektu) 45 samic biorecznyń. Z kolei liczba samic biorecznyń skalkulowana została na podstawie wieloletnich doświadczeń [REDAKTOWANO] [REDAKTOWANO] [REDAKTOWANO] jednego z dwóch głównych ośrodków w Polsce zajmujących się embriologią eksperymentalną myszy. Do jednej samicy bioreczni przyszczepianych jest najwyżej 12 zarodków. Przy najlepszej wydajności transferu (70%) i założeniu, że wszystkie samice utrzymają ciążę, daje to maksymalnie ok. 380 płodów. W praktyce jednak liczba ta jest znacznie niższa, zwłaszcza jeśli przyszczepiane są zarodki poddane uprzednio zabiegom mikromanipulacyjnym. Spodziewać się można, że uda się uzyskać maksymalnie ok. 200 płodów. Należy zwrócić uwagę, że tkanki płodowe i łożyska użyte zostaną do nie tylko projektu planowanych w [REDAKTOWANO] ale będą również udostępniane kolegami z innych projektów (Dyrektywa 2010/63 / UE Rozdz.1 - Art. 18 -wymiana / wspólne wykorzystanie narządów oraz tkanek), co w istotny sposób zmniejszy liczbę zwierząt użytych w projekcie.
- **Udoskonalenie:** Stosowane procedury są standardowymi procedurami stosowanymi w embriologii doświadczalnej ssaków. Stosowane podczas czynności przenoszenia zarodków i wasektomii znieczulenie ogólne , a także 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 dyslokację kręgów szyjnych. *Po zakończeniu badań zwierzęta zostaną poddane eutanazji (dyslokacja kręgów szyjnych). Martwe zwierzęta zostaną oddane do utylizacji* ([REDAKTOWANO]) [REDAKTOWANO]