

## 6.ΜΗ ΤΕΧΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Συμπληρώστε τα ακόλουθα σε απλή γλώσσα και χωρίς αναφορά σε τεχνικές λεπτομέρειες ώστε να είναι εύκολα κατανοητό στον απλό αναγνώστη. Η μη τεχνική περίληψη θα αναρτηθεί στην ιστοσελίδα των Κτηνιατρικών Υπηρεσιών στα πλαίσια της πληροφόρησης της κοινής γνώμης. Αποφύγετε να συμπεριλάβετε εμπιστευτικό υλικό ή οτιδήποτε άλλο που θα αναγνωρίσει εσάς ή το χώρο εργασίας σας.

Για περαιτέρω διευκρινήσεις ακολουθήστε τον [σύνδεσμο](#).

Τίτλος του έργου	Γενετικοί τροποποιητές στο σύνδρομο Alport και νεφροπάθεια με λεπτή βασική μεμβράνη Genetic modifiers in Alport syndrome and thin basement membrane nephropathy
Διάρκεια του έργου	3 χρόνια
Λέξεις ευρητηριασμού	Άλπορτ Σύνδρομο, Rictor, Collagen IV, Νεφρός
Σκοπός του έργου	<input checked="" type="checkbox"/> Βασική έρευνα <input checked="" type="checkbox"/> Μεταγραφική ή εφαρμοσμένη έρευνα <input type="checkbox"/> Κανονιστική χρήση (χρήση στο πλαίσιο νομοθετικών απαιτήσεων) <input type="checkbox"/> Προστασία του φυσικού περιβάλλοντος με γνώμονα την υγεία ή την καλή διαβίωση ανθρώπων ή ζώων <input type="checkbox"/> Έρευνα με σκοπό τη διατήρηση ζωικών ειδών <input type="checkbox"/> Εκπαίδευση ή κατάρτιση για την απόκτηση, διατήρηση ή βελτίωση των επαγγελματικών δεξιοτήτων <input type="checkbox"/> Ιατροδικαστικές έρευνες <input type="checkbox"/> Διατήρηση γενετικά τροποποιημένων ζώων που δεν χρησιμοποιούνται σε άλλα πρωτόκολλα
Περιγραφή των στόχων του έργου (π.χ τι είναι επιστημονικά άγνωστο ή ποιές είναι οι επιστημονικές/κλινικές ανάγκες)	<p>Οι ακριβείς μηχανισμοί που εμπλέκονται στην παθογένεση του συνδρόμου Άλπορτ (ΑΣ) και της Νόσου Λεπτής Βασικής Μεμβράνης (ΝΛΒΜ) δεν έχουν ακόμη αποσαφηνιστεί πλήρως. Ενώ είναι γνωστό ότι οι μεταλλάξεις στο COL4 είναι υπεύθυνες για αυτές τις ασθένειες, ακριβώς αυτό που διαμεσολαβεί μεταξύ της παρουσίας ελαττωματικής σπειραματικής βασικής μεμβράνης (GBM) και της πρόκλησης χρόνιας νεφρικής νόσου (ΧΝΝ) και του τελικού σταδίου χρόνιας νεφρικής νόσου (ΤΣΧΝΝ) παραμένει άγνωστο. Υπάρχουν στοιχεία σύμφωνα με τα οποία η ανάπτυξη του εστιακή τμηματική σπειραματοσκλήρυνση (FSGS) και η ανεπιθύμητη δυσλειτουργία των νεφρών μπορεί να αποδοθεί στη συν-κληρονομιά πρόσθετων, σε μεγάλο βαθμό άγνωστων γενετικών τροποποιητών που προωθούν την εξέλιξη της νόσου, δικαιολογώντας έτσι τη διάγνωση της νεφροπάθειας Άλπορτ με καθυστερημένη εμφάνιση. Ο γενικός στόχος αυτού του έργου είναι η χρήση μοντέλων ποντικών του ΑΣ σε μια προσπάθεια να προσφερθεί απόδειξη της αρχής για τον υποτιθέμενο ρόλο ενός γενετικού τροποποιητή που εμείς και οι συνάδελφοί μας έχουμε προσδιορίσει ανεξάρτητα. Συγκεκριμένα, εμείς και εξωτερικός μας συνεργάτης, δημιουργήσαμε στοιχεία από ανθρώπους και ποντικούς αντιστοίχως ότι η πρωτεΐνη RICTOR, ένα συστατικό του συμπλόκου mTORC2, έχει ένα ρόλο στην πρόοδο της χρόνιας νεφρικής νόσου στο υπόβαθρο του ΑΣ και του ΝΛΒΜ.</p>
Ποιά οφέλη αναμένονται από την υλοποίηση του συγκεκριμένου έργου (σε σχέση με τον άνθρωπο, τα ζώα ή το	<p>Η επικύρωση του ευρήματος ότι το γονίδιο Rictor ρυθμίζει την εξέλιξη της νόσου σε δύο διαφορετικά μοντέλα ποντικών, τα οποία αντιπροσωπεύουν τις δύο κληρονομικές μορφές της νόσου (όπου μία είναι φυλοσύνδετη και η άλλη υπολειπόμενη αυτοσωματική), θα έχουν</p>

περιβάλλον)	προφανή προβολή σε ΝΑΒΜ και άλλες πολύπλοκες μη κληρονομικές συχνές αιτίες της Χρόνιας νεφρικής νόσου. Αυτό, με τη σειρά του, θα έχει εκτεταμένες συνέπειες για τη θεραπεία των ατόμων που βρίσκονται σε πρώιμα στάδια της Χρόνιας νεφρικής νόσου, βελτιώνοντας έτσι την οικονομική επιβάρυνση για τα συστήματα υγειονομικής περίθαλψης και μειώνοντας την επί του παρόντος μη ικανοποιημένη ανάγκη για μεταμόσχευση νεφρού. Η προτεινόμενη επικύρωση των αποτελεσμάτων στα μοντέλα των ποντικών και η απόδειξη της αρχής όσον αφορά το ρόλο των γενετικών τροποποιητών θα έχει μεγάλο αντίκτυπο σε σχέση με την έγκαιρη και σωστή διάγνωση, τη στενότερη παρακολούθηση των ασθενών, ίσως να τροποποιήσει την ένταση της θεραπείας και την επιθετικότητα, καθώς και τον εντοπισμό νέων στόχων θεραπείας.
Είδος και συνολικός αριθμός ζώων που αναμένεται να χρησιμοποιηθούν στη διάρκεια του έργου	Mus musculus (svj/129 mice). Θα χρησιμοποιηθούν 205 ζώα στη διάρκεια του έργου
Στο πλαίσιο υλοποίησης του έργου α. ποιές είναι οι αναμενόμενες δυσμενείς επιπτώσεις στα ζώα, β. ποιό θα είναι το εκτιμώμενο επίπεδο δριμύτητας των διαδικασιών καθώς και γ. ποιά η τύχη των ζώων μετά την υλοποίηση του έργου; Να αναφερθεί το υψηλότερο εκτιμώμενο επίπεδο δριμύτητας και το ποσοστό των ζώων που αναμένεται να το υποστούν	<i>Δυσάρεστες παρενέργειες είναι απίθανο να εμφανιστούν στα συγκεκριμένα ποντίκια. Όλες οι πειραματικές διαδικασίες είναι ήπιας δριμύτητας και μετά το πέρας των πειραματικών διαδικασιών, όλα τα ζώα θα θανατωθούν με εξάρθρωση αυχένα για την άμεση μείωση της αγωνίας και ταλαιπωρίας των ζώων. Το υψηλότερο εκτιμώμενο επίπεδο δριμύτητας θα είναι μέτριο και το ποσοστό των ποντικών που θα το υποστούν θα είναι ελάχιστο (1%)</i>
<b>Οι αρχές των 3R</b>	
<b>Αντικατάσταση (Replacement)</b> Γιατί είναι απαραίτητη η χρησιμοποίηση ζώων και όχι κάποια άλλη εναλλακτική μέθοδος πειραματισμού που δεν χρησιμοποιεί ζώα;	Το έργο βασίζεται στην υπόθεση ότι και άλλοι γενετικοί παράγοντες και DNA μεταλλάξεις συνυπάρχουν με το αρχικό ελάττωμα, το οποίο στις περισσότερες περιπτώσεις είναι μεταλλάξεις σε τρία γονίδια κολλαγόνου IV (COL4A3 / A4 / A5), συμβάλλουν και οδηγούν το αρνητικό αποτέλεσμα της νόσου σε αρκετές δεκαετίες κατά τη διάρκεια της γήρανσης, ενεργώντας ως γενετικοί τροποποιητές. Προτείνουμε να επαληθεύσουμε αυτά τα δεδομένα και να καθιερώσουμε το γονίδιο RICTOR ως σημαντικό παράγοντα στο υπόβαθρο του συνδρόμου Άλπορτ (AS), στον καθορισμό του τελικού φαινοτύπου. Η μελέτη αυτή μπορεί να διερευνηθεί πειραματικά μόνο σε ζωικά μοντέλα. Για το σκοπό αυτό, θα δημιουργήσουμε νέα καινοτόμα εργαλεία με τη μορφή ενός μοντέλου ποντικού με μεταλλάξεις στο RICTOR και περαιτέρω δημιουργία μοντέλων ποντικών AS, είτε φυλοσύνδετων είτε αυτοσωματικών υπολειπόμενων, μετά από διασταύρωση με τα ποντίκια που φέρουν είτε Rictor knockout είτε Rictor μετάλλαξη. Επιπλέον, σχεδιάζουμε να καθιερώσουμε πρωτογενείς καλλιέργειες ποδοκυττάρων (in vitro), που αποτελούν σημαντικά κύτταρα στην παθολογία AS, από μοντέλα ποντικών για τη μελέτη κυτταρικών μηχανισμών ανάπτυξης ασθενειών. Η απόδειξη ότι η έκφραση Rictor και / ή οι υπομορφικές μεταλλάξεις στο DNA συμμετέχουν στον προσδιορισμό της πορείας της νόσου θα δώσει υπόσχεση για νέους στόχους θεραπείας ή ιατρικής παρέμβασης, οι οποίοι μπορεί επίσης να έχουν ευρύτερο αντίκτυπο στη χρόνια νεφρική νόσο στο γενικό πληθυσμό.

<p><b>Μείωση (Reduction)</b> Τι μέτρα θα εφαρμοστούν ώστε να χρησιμοποιηθεί ο μικρότερος αριθμός ζώων χωρίς να επηρεαστούν τα ερευνητικά αποτελέσματα;</p>	<p>Όλες οι πειραματικές διαδικασίες έχουν σχεδιαστεί προσεκτικά πριν την εκτέλεσή τους, με βάση τη βιβλιογραφία, λαμβάνοντας υπόψη όλες τις δημοσιευμένες πληροφορίες σε επιστημονικά περιοδικά έτσι ώστε να αποτραπεί η άσκοπη χρήση ζώων. Επιπλέον, αν έχουν δημοσιευτεί πειραματικά αποτελέσματα και έχουν διασταυρωθεί θα αποφεύγονται οι επαναλήψεις των πειραμάτων και θα πραγματοποιούνται μόνο όταν είναι απαραίτητο και έχουν ληφθεί υπόψη τα στατιστικά στοιχεία. Εξαιτίας των αστάθμητων παραγόντων και της αβεβαιότητας που διέπει ολόκληρη τη διαδικασία εξαγωγής συμπερασμάτων, υπάρχει τεράστιο ενδιαφέρον για την εισαγωγή εξειδικευμένων στατιστικών εργαλείων που σχετίζονται με την ανάλυση στατιστικής ισχύος (statistical power analysis) και την εκτίμηση του μεγέθους του δείγματος (sample size estimation). Γι αυτό το λόγο εμείς θα χρησιμοποιήσουμε τον ελάχιστο δυνατό αριθμό ζώων. Ο τελικός αριθμός των ποντικών που θα χρησιμοποιηθούν έχει καθοριστεί επίσης από τη στατιστική ανάλυση (με το 80% ανάλυσης ισχύος). Και θα εφαρμοστούν με σκοπό την εξαγωγή στατιστικά σημαντικών πειραματικών αποτελεσμάτων αναλύσεις όπως students t-test και Anova.</p>
<p><b>Βελτίωση (Refinement)</b> Λαμβάνοντας υπόψη τους στόχους του έργου εξηγήστε την επιλογή σας ως προς την επιλογή σας ως προς το είδος, το/τα πρότυπο(-α) και τη/τις μέθοδο(-ους). Εξηγήστε για ποιο λόγο είναι τα πλέον ενδεδειγμένα για τον προβλεπόμενο σκοπό. Τι μέτρα θα εφαρμοστούν ώστε τα ζώα να υποβληθούν στη μικρότερη δυνατή ταλαιπωρία;</p>	<p>Τα ποντίκια, ως θηλαστικά, έχουν αρκετά κοινά βιολογικά χαρακτηριστικά με τους ανθρώπους, αναπαράγονται με γρήγορο ρυθμό και σε μεγάλους αριθμούς με αποτέλεσμα να είναι το υπ' αριθμόν ένα είδος ως πειραματικό μοντέλο. Τα συγκεκριμένα μοντέλα Άλπορτ είναι τα ιδανικά για τον σκοπό της έρευνάς μας, δεδομένου ότι είναι μοντέλα που αναπτύσσουν χαρακτηριστικά που παρατηρούνται και σε ασθενείς με σύνδρομο Άλπορτ, όμως η παράλληλη εισαγωγή μετάλλαξης ή αποσιώπησης του γονιδίου Rictor στο γονιδίωμα των μοντέλων Άλπορτ, έχει ως σκοπό τη βελτιστοποίηση του φαινοτύπου τους. Για τη βελτιστοποίηση των πειραματικών συνθηκών και για την ελαχιστοποίηση του πόνου στα ζώα, όλες οι διαδικασίες θα εφαρμοστούν με βάση τη Κυπριακή νομοθεσία για την προστασία και ευημερία των ζώων (1994-2017). Γενικά, οι διαδικασίες που περιγράφονται σε αυτό το έργο δεν προκαλούν πόνο στα ζώα. Επιπλέον, κατά τη διάρκεια των πειραμάτων η γενικότερη υγεία, συμπεριφορά και εμφάνιση των ζώων θα παρακολουθείται καθημερινά. Αν τα ζώα που φέρουν τη μετάλλαξη αρχίσουν να εμφανίζουν συμπτώματα νεφρικής ανεπάρκειας, όπως εμετός, διάρροια, πάσχουν από εντερικό πόνο ή έλκος, ή ακόμα από συμπτώματα καχεξίας ή σημαντικής απώλειας βάρους τότε θα υποβληθούν σε ευθανασία με εξάρθρωση του αυχένα για την άμεση μείωση της αγωνίας και ταλαιπωρίας των ζώων.</p>