

Ε. ΜΗ ΤΕΧΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εξηγείστε το προτεινόμενο έργο χωρίς τη χρήση τεχνικών όρων ούτως ώστε να είναι εύκολα κατανοητό στον απλό αναγνώστη. Αποφύγετε να συμπεριλάβετε εμπιστευτικό υλικό ή οτιδήποτε άλλο που θα αναγνωρίσει εσάς ή το χώρο εργασίας σας.

Η μη τεχνική περίληψη θα αναρτηθεί στην ιστοσελίδα των Κτηνιατρικών Υπηρεσιών.

Παρακαλώ συμπληρώστε τα ακόλουθα:

Τίτλος του έργου	Γενική περιγραφή της κατάστασης των ποντικών με σύνδρομο Alport (βιοχημεία, μελέτη βιοψιών, προσδόκιμο επιβίωσης, κ.λπ) και προετοιμασία για προ-κλινική μελέτη με επανατοποθέτηση χημικών/συνθετικών πρωτεϊνών-συνοδών		
	General description of the condition of the mice with Alport syndrome (biochemistry, biopsy material, lifespan, etc) and preparation for preclinical studies with the use of repurposed chemical chaperons		
Αναμενόμενη διάρκεια του έργου	3		
Σκοπός του έργου	Βασική έρευνα	Ναι	
	Μεταγραφική ή εφαρμοσμένη έρευνα	Ναι	
	Χρήση στο πλαίσιο ρυθμίσεων και συνήθης παραγωγή		Όχι

	Προστασία του φυσικού περιβάλλοντος με γνώμονα την υγεία ή την καλή διαβίωση ανθρώπων και ζώων		Όχι
	Διατήρηση των ζωικών ειδών		Όχι
	Ανώτερη εκπαίδευση ή κατάρτιση		Όχι
	Ιατροδικαστικές έρευνες		Όχι
	Διατήρηση εκτρεφόμενων πληθυσμών γενετικά τροποποιημένων ζώων		Όχι
Περιγραφή των στόχων του έργου	<p>Το έργο έχει τρεις κύριους στόχους:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Καλύτερη κατανόηση των παθολογικών μηχανισμών ανάπτυξης του συνδρόμου Alport, εφόσον τα δύο από τα τρία μοντέλα αφορούν σε μεταλλάξεις στα μόρια κολλαγόνου IV που συντίθενται. Όλες οι προηγούμενες σχετικές εργασίες ήταν σε ποντίκια με σύνδρομο Alport τα οποία είχαν παντελή έλλειψη σύνθεσης κολλαγόνου IV, λόγω της φύσης της μετάλλαξης που είχε εισαχθεί (Collagen IV knockout). 2. Καλύτερη κατανόηση της ενεργοποίησης του σηματοδοτικού μονοπατιού που αφορά στην απόκριση μη ορθά αναδιπλούμενων πρωτεϊνών (unfolded protein response). Αυτή η αντίδραση του κυττάρου έχει σχέση με τη σύνθεση ελαττωματικών πρωτεϊνών, όπως συμβαίνει στα ποντίκια που θα χρησιμοποιήσουμε. 3. Για πρώτη φορά θα επιχειρηθεί θεραπεία ποντικών με σύνδρομο Alport με την επανατοποθέτηση συνθετικών συνοδών πρωτεϊνών, που έχουν ήδη έγκριση χρήσης για άλλες νόσους. <p>Ελπίζουμε ότι τα ασθενή ποντίκια θα βιώσουν βελτίωση της κλινικής εικόνας και θα παραταθεί ο χρόνος λειτουργίας των νεφρών τους και κατ' επέκταση το προσδόκιμο επιβίωσης.</p>		
Ποια θα είναι τα οφέλη του έργου;	<p>Το έργο είναι ένα εξαιρετικό παράδειγμα προ-κλινικών δοκιμών ιατρικής έρευνας. Τα αποτελέσματα όχι μόνο θα ρίξουν φως σχετικά με τους μοριακούς μηχανισμούς πίσω από μεταλλάξεις στο COL4, αλλά θα θέσουν και τις βάσεις για μια νέα θεραπεία για το AS. Η απόδειξη της σύνδεσης μεταξύ του στρες στο Ενδοπλασματικό Δίκτυο (ΕΔ) και του συνδρόμου Alport θα είναι κάτι καινοτόμο και θα μπορούσε να ανοίξει το δρόμο για τη χρήση χημικών chaperones για τη θεραπεία της νόσου που προκαλείται από μεταλλάξεις στο COL4. Εδώ προτείνουμε ένα πολλά υποσχόμενο ερευνητικό πρόγραμμα με μεγάλες δυνατότητες όσον αφορά στην κατανόηση της παθοφυσιολογίας των ποδοκυττάρων καθώς και ανοίγοντας νέους ορίζοντες για τη θεραπεία των σπειραματοπαθειών.</p>		

<p>Καθορίστε τα είδη, τον αριθμό των ζώων και το χρονικό διάστημα που αναμένεται να χρησιμοποιηθούν τα συγκεκριμένα ζώα</p>	<p>Θα χρησιμοποιηθούν ποντίκια με σύνδρομο Alport, λόγω μεταλλάξεων που έχουν εισαχθεί σε σχετικό γονίδιο που κωδικοποιεί για το κολλαγόνο IV, βασικό συστατικό της βασικής μεμβράνης του νεφρικού σπειράματος, όλα ηλικίας 4, 6 και 12 μηνών. Το χρονικό διάστημα που αναμένεται να χρησιμοποιηθούν τα συγκεκριμένα ζώα είναι ένας χρόνος. Συνολικά, υπολογίζουμε να χρησιμοποιήσουμε περίπου 350 ποντίκια και στα 3 χρόνια που θα διαρκέσει το έργο.</p>
<p>Ποιες είναι οι αναμενόμενες δυσμενείς επιπτώσεις στα ζώα και ποιο το αναμενόμενο επίπεδο δριμύτητας; Ποιά θα είναι η τύχη των ζώων μετά την ολοκλήρωση του έργου;</p>	<p>Δυσάρεστες παρενέργειες είναι απίθανο να εμφανιστούν σε ποντικούς στους οποίους θα χορηγηθούν τα chaperones. 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.</p>
<p>Εξηγήστε γιατί απαιτείται η χρήση ζώων και γιατί δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί άλλη εναλλακτική μέθοδος χωρίς να περιλαμβάνει τη χρήση ζωντανών ζώων.</p>	<p>Μια πρόσφατη εργασία στο εργαστήριό μας έδειξε ότι η in vitro υπερέκφραση της μεταλλαγμένης αλυσίδας COL4A3 (μετάλλαξη G1334E) σε ανθρώπινα αδιαφοροποίητα ποδοκύτταρα οδήγησε σε παραμονή της αλυσίδας στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ΕΔ) η οποία σχετίστηκε με την ενεργοποίηση των UPR-σχετιζόμενων δεικτών του ΕΔ-στρες (Pieri et al. 2014). Πρόσφατα η ερευνητική μας ομάδα έχει μελετήσει in vitro την δράση του TUDCA chaperone σε κύτταρα ινοβλαστών που εκφράζουν μεταλλαγμένο Κολλαγόνο 4, δείχνοντας ότι το TUDCA βοήθησε στην έκκριση από τα κύτταρα της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης του Κολλαγόνου 4. Όμως η μελέτη της δράσης των chaperones δεν μπορεί να περιοριστεί μόνο σε in vitro αποτελέσματα αλλά είναι απαραίτητο να γίνουν και δοκιμές σε ζώα και συγκεκριμένα σε ποντίκια που έχουν μεταλλάξεις στο γονίδιο του κολλαγόνου 4 και αποτελούν μοντέλα του συνδρόμου Άλπορτ. Η in vivo αυτή μελέτη θα δείξει κατά πόσο τα chaperones έχουν τη δυνατότητα να επάγουν την έκκριση του μεταλλαγμένου κολλαγόνου 4 από τα ποδοκύτταρα στη βασική μεμβράνη, βοηθώντας έτσι στην αποκατάσταση της δομής και λειτουργίας της βασικής μεμβράνης και βελτιώνοντας τη κλινική εικόνα των μοντέλων ποντικών με σύνδρομο Άλπορτ. Αυτό θεωρείται απαραίτητο στάδιο πριν γίνουν σκέψεις για εφαρμογή στον άνθρωπο.</p>
<p>Εξηγήστε πως θα διασφαλίσετε τη χρήση του ελάχιστου δυνατού αριθμού ζώων.</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</p>

	<p>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>Λαμβάνοντας υπόψη τους στόχους του έργου εξηγήστε την επιλογή του είδους των ζώων και γιατί το ζωικό μοντέλο που θα χρησιμοποιήσετε είναι το βέλτιστο. Εξηγήστε τα μέτρα που θα λάβετε για να μειώσετε τη βλάβη στα ζώα.</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 (με μετάλλαξη στο γονίδιο που κωδικοποιεί για την αλυσίδα α3 του κολλαγόνου IV) είναι τα ιδανικά για τον σκοπό της έρευνάς μας, δεδομένου ότι είναι μοντέλα που αναπτύσσουν χαρακτηριστικά που παρατηρούνται και σε ασθενείς με σύνδρομο Άλπορτ. 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).</p> <p>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>