

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: : **Ocena roli modyfikacji epigenetycznych w aktywacji proinwazyjnego fenotypu mikrogleju w mysim modelu glejaka**

2.Czas trwania projektu: **02.01.2017- 31.12.2018**

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **nowotwór mózgu, glejak, mikroglej, epigenetyka**

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.

Glejaki są najczęściej występującymi nowotworami mózgu, a 70% przypadków stanowi złośliwa forma glejak wielopostaciowy, z którym pacjenci przeżywają średnio 15 miesięcy od momentu diagnozy.

Glejaki wykazują silną infiltrację (do 30% masy guza) komórek układu odpornościowego, szczególnie mikrogleju będącego pierwszą linią obrony mózgu. Jednakże mikroglej w mikrośrodowisku guza nie wykazuje właściwości przeciwnowotworowych, a zostaje przekształcony w komórki immunosupresyjne i wspierające inwazję nowotworu. Dotychczas wykazaliśmy, że zmianom fenotypowym mikrogleju towarzyszą zmiany w modyfikacjach epigenetycznych, zwłaszcza modyfikacje histonów. Histony tworzą białkowy rdzeń, wokół którego nawinięte jest DNA, a ich modyfikacje grają zasadniczą rolę w regulacji ekspresji genów. Wiadomo, że modyfikacje histonów uczestniczą w prozapalnej aktywacji mikrogleju, ale brak danych na temat ich roli w aktywacji indukowanej przez glejaka.

Celem badania jest analiza modyfikacji histonów w mikrogleju infiltrującym glejaki, co pozwoli na dokładniejsze poznanie procesów regulujących powstawanie fenotypu mikrogleju wspierającego nowotworzenie. Procedury wykorzystane w projekcie polegają na indukcji glejaka w mózgu myszy poprzez wszczepienie linii komórkowej glejaka mysiego. Uzyskany dzięki temu materiał, zostanie wykorzystany do analizy globalnych zmian w modyfikacji histonów przy zastosowaniu nowoczesnej technologii ChIP-seq, która pozwoli na uzyskanie maksymalnej ilości danych. Procedury zostały opracowane w taki sposób, aby ograniczyć ból i dyskomfort zwierząt do minimum podczas procedury iniekcji komórek jak również podczas procedury uśmiercania. Zwierzęta nie będą odczuwać zmian spowodowanych przez nowotwór, ponieważ doświadczenie zakończy się przed wystąpieniem fizycznych objawów choroby.

Użytkownik: Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego, Polska Akademia Nauk

Tytuł wniosku: Ocena roli modyfikacji epigenetycznych w aktywacji proinwazyjnego fenotypu mikrogleju w mysim modelu glejaka

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Projekt zakłada wykorzystanie 48 samców mysich, szczep C57BL/6.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: PUBMED, Google Scholar, ScienceDirect.

Wykorzystano następujące słowa kluczowe: **glioma; microglia/macrophages; polarization; histone modification; chromatin immunoprecipitation**

Na podstawie nagromadzonej literatury, stwierdzano, że:

- A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że** istnieją dane uzyskane na komórkach hodowanych *in vitro*, wykazujące różnice modyfikacji histonów w linii komórkowej unieśmiertelnionego mikrogleju BV2 oraz makrofagach obwodowych po stymulacji prozapalnej, nie ma danych na temat modyfikacji histonów w trakcie zależnej od glejaka aktywacji mikrogleju.
- B. Brak jest danych dotyczących** roli modyfikacji histonów w aktywacji mikrogleju związanej z progresją glejaka i generalnie z procesem nowotworzenia.

Uzyskanie danych z opisywanego projektu pozwoli na:

- A. Poszerzenie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w zakresie** mechanizmów molekularnych aktywacji komórek wspierających rozwój guzów mózgu
- B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy w dalszych badaniach** nad kluczowymi czynnikami epigenetycznymi regulującymi aktywację mikrogleju w mikrośrodowisku guza, co może wskazać nowe, potencjalne cele terapeutyczne.

Zasada zastąpienia

Ze względu na złożoność badanego procesu, a w szczególności występowanie ścisłej interakcji pomiędzy komórkami glejaka, a mikroglejem i innymi typami komórek mikrośrodowiska powstającego guza, badania z wykorzystaniem zwierząt kręgowych z prawidłowo działającym układem odpornościowym są niezbędne do osiągnięcia celu doświadczenia. W związku z tym, niemożliwym jest zastąpienie modeli zwierzęcych innym materiałem.

Zasada redukcji Liczba zwierząt przewidzianych w tym projekcie została zredukowana do minimum niezbędnego do uzyskania znamienności statystycznej, co zostało poparte odpowiednią analizą statystyczną. Dodatkowo, dzięki zastosowaniu metody ChIP-seq, zmiany modyfikacji histonów zostaną ocenione w skali całego genomu, zamiast wybiórczego badania pojedynczych genów, a w związku z tym uzyskana zostanie maksymalna ilość informacji. **Zasada udoskonalenia** Zaplanowane procedury i czynności w tym projekcie były już wcześniej wykorzystywane w Laboratorium Biologii Molekularnej, co pozwoliło na ich optymalizację i ograniczenie zwierząt do niezbędnego minimum koniecznego do uzyskania rzetelnych wyników. Zwierzęta zostaną uśmiercone przed pojawieniem się fizycznych objawów rozwijającego się guza, co zminimalizuje odczuwany ból i dystres. W trakcie trwania projektu zwierzęta będą pod stałą opieką eksperymentatora i weterynarza.

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