

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „**Regulacja dostępności chromatyny w niedotlenionym mikrośrodku glejaka.**”

2. Czas trwania projektu **3 lata**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) **glejak wielopostaciowy, chromatyna, hipoksja, mikroglej, mikrośrodko**

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **A. Badania podstawowe**

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.

Niedotlenienie (hipoksja) jest bardzo częstą przyczyną agresywności glejaka wielopostaciowego. Obecnie nie ma skutecznej terapii przeciwko temu guzowi mózgu i pacjenci przeżywają średnio 15 miesięcy od momentu diagnozy. Wcześniejsze prace z naszego laboratorium pokazały, iż komórki układu odpornościowego takie jak mikroglej, znacząco wspierają rozwój glejaka poprzez wyciszenie stanu zapalnego w guzie. Może się to dzieć na wskutek zmian epigenetycznych, czyli modyfikacji DNA i związanych z nim białek (razem znanych jako chromatyna), zarówno w mikrogleju jak i w komórkach nowotworowych. Modyfikacje epigenetyczne chromatyny powodują jej rozluźnianie, bądź zacieśnianie, co prowadzi do określonych zmian w regionach chromatyny, a co za tym idzie, następuje aktywacja genów jedynie z niezacieśnionych regionów DNA. Ostatnie prace pokazały, że hipoksja ma silny wpływ na zmiany w dostępności chromatyny. Jednakże, nie jest to jasne jaka jest rola hipoksji w kształtowaniu

oddziaływania pomiędzy komórkami glejaka i mikrogleju ze względu na zmiany chromatyny w tych komórkach. W naszym projekcie zbadamy dostępność chromatyny w komórkach nowotworowych oraz komórkach układu odpornościowego w glejaku wielopostaciowym narażonych na stres hipoksji przy użyciu pionierskiej metody Pi-ATAC (Protein-indexed Assay of Transposase Accessible Chromatin with sequencing).

W projekcie skupiamy się na późnym stadium rozwoju nowotworu, aby odzwierciedlić charakterystykę glejaka ludzkiego z obecną nekrozą i hipoksją. **Duże guzy mogą wywołać szkodę u zwierząt w postaci fizycznych objawów np. spadku wagi (zaobserwowanych we wcześniejszym doświadczeniu w naszym laboratorium przy niektórych 28-dniowych guzach). Planujemy zakończyć doświadczenie przed możliwym wystąpieniem objawów fizycznych (25-dniowe guzy), aby zminimalizować ból i dystres zwierząt. W przypadku ewentualnego zaobserwowania fizycznych oznak rozwoju guza, zastosujemy humanitarny punkt końcowy.**

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Projekt zakłada wykorzystanie **56** myszy C57BL/6J w wieku 12-16 tygodni.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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

Wykorzystałam słowa kluczowe:

Hypoxia, cancer, glioma, glioblastoma, ATAC-seq, Pi-ATAC, chromatin accessibility, microglia, microenvironment

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

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: hipoksja jest kluczowym czynnikiem stymulującym wzrost glejaków oraz, jak pokazano dla innych rodzajach guzów, ma wpływ na właściwości i dostępność chromatyny.

B. Brak jest danych dotyczących: dostępności chromatyny w mikrogleju i makrofagach występujących w niedotlenionych obszarach guza mózgu oraz jak właściwości chromatyny zmieniane pod wpływem hipoksji w komórkach nowotworowych i mikrogleju/makrofagach mózgu mogą wpłynąć na funkcje tych komórek i ich oddziaływanie podczas rozwoju glejaka.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku: poznania nowych mechanizmów kluczowych dla rozwoju i progresji glejaka, w tym roli hipoksji w regulowaniu dostępności chromatyny w poszczególnych komórkach w mikrośrodowisku glejaka.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na: przygotowaniu rzetelnej publikacji naukowej, szukaniu nowych markerów świadczących o oddziaływaniu nowotwór-mikroglej pod wpływem hipoksji oraz dążeniu do nowych hipoksja-zależnych rozwiązań terapeutycznych w walce z immunosupresyjnym mikrośrodowiskiem glejaka.

Zasada zastąpienia

W badaniach *in vitro* na komórkach glejaka zarówno my jak i inni wykazaliśmy, że hipoksja zmienia właściwości histonów, a co za tym idzie, dostępność chromatyny. Tym samym przeprowadziliśmy badania wstępne, wykorzystując modele nie-zwierzęce. Nie mniej jednak, ze względu na złożoność badanego procesu, a w szczególności na występowanie ścisłej interakcji pomiędzy komórkami glejaka, a mikroglejem i innymi typami komórek mikrośrodowiska rozwijającego się guza, badania z wykorzystaniem zwierząt kręgowych z prawidłowo działającym układem odpornościowym są niezbędne do osiągnięcia celu doświadczenia. Wybrany przez nas syngeneiczny model doświadczalny glejaka mysiego jest powszechnie wykorzystywany do badań nad rozwojem glejaków i ich mikrośrodowiskiem. Ze względu na złożoność badanego procesu, a w szczególności występowanie ścisłej interakcji pomiędzy komórkami glejaka a innymi typami komórek mikrośrodowiska powstającego guza w warunkach hipoksji, badania z wykorzystaniem zwierząt kręgowych są niezbędne

do osiągnięcia celu doświadczenia, tj. stworzenia warunków naturalnych dla rozwoju guza i określenia roli hipoksji w oddziaływaniu pomiędzy mikroglejem i glejakiem.

Zasada ograniczenia

Planowane badania uwzględniają wykorzystanie najmniejszej możliwej liczby zwierząt w poszczególnych grupach pozwalających na rzetelne przeprowadzenie planowanych doświadczeń i osiągnięcia celów projektu. Przewidziana liczba zwierząt jest niezbędna do przeprowadzenia prawidłowej analizy statystycznej otrzymanych wyników.

Zasada udoskonalenia

Wszystkie procedury opisane we wniosku zostały zaplanowane tak, aby ograniczyć do minimum stres oraz dyskomfort zwierząt użytych w doświadczeniu. Przez cały okres trwania eksperymentu codziennie będzie kontrolowany stan zdrowia zwierząt oraz ich masa ciała, w celu wykrycia wszelkich oznak dystresu lub cierpienia. W przypadku wystąpienia takich objawów (spadek masy ciała, zaburzenia poruszania się, atypowe zachowanie, nie przyjmowanie pokarmu) zwierzę będzie wyeliminowane z dalszych czynności oraz będzie poddane humanitarnemu uśmierceniu.

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.