

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: **Badanie roli szlaku WNT/ β katena w rozwoju i funkcjonowaniu mysich astrocytów**

2.Czas trwania projektu **15.04.2019– 14.03.2022 (3 lata)**

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) **astrocyty; astrogeneza; szlak WNT/ β katena, LiCl**

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.

Celem zaplanowanych w niniejszym wniosku doświadczeń jest wyjaśnienie roli szlaku sygnalizacyjnego WNT/ β katena w rozwoju i funkcjonowaniu astrocytów. Szczegółowym celem jest ustalenie roli jaką pełni w tym procesie modulacja szlaku WNT/ β katena z zastosowaniem środków farmakologicznych. Modulacja wspomnianego szlaku prowadzić będzie do zmian ekspresji różnych genów m. in w astrocytach. Nie wpłynie to jednak znacząco to na rozwój zwierzęcia tj. innych narządów oraz układów np. układu naczyniowego etc. Zatem eksperyment nie będzie prowadził do dyskomfortu oraz stresu u zwierząt poddanych procedurom. Na podstawie dotychczasowych badań wpływu chlorku litu podawanego mysza w karmie na funkcjonowanie myszy nie przewiduję się aby wystąpiły szkody i pogorszenie stanu zdrowotnego myszy. Możliwe jest, że jedynymi szkodami/zmianami jakie może spowodować doświadczenie będą zmiany w zachowaniu myszy. Myszy ze stabilizowanym szlakiem

WNT mogą charakteryzować się obniżonym poziomem agresji oraz wycofanie socjalnym. Nie powinno to jednak znacząco wpłynąć na dobrostan zwierząt.

W związku z tym, że modulacja szlaku WNT nastąpi na różnych etapach rozwoju oczekuję, że ekspresja różnych genów zostanie zmieniona na różnych etapach rozwoju. Dzięki temu dowiem się jaką rolę pełni bezpośrednio szlak WNT/ β katena w astrocytach na wszystkich etapach rozwoju mysiego mózgu. Ze względu na molekularne i morfologiczne podobieństwo między mysimi i ludzkimi astrocytami można wnioskować, że szlak ten będzie funkcjonował podobnie w astrocytach u myszy jak i ludzi. Zatem korzyści, jakie przyniesie mój projekt dla rozwoju nauki to zrozumieniu roli szlaku WNT nie tylko u myszy ale szerzej u ssaków, w tym człowieka. To z kolei może przybliżyć nas do opracowania terapii chorób zależnych od działania astrocytów.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mus Musculus (336 osobników).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy oraz planując opisane procedury przeszukałem istniejącą literaturę w zakresie objętym wnioskiem badawczym. W tym celu wykorzystałem dostępne artykuły naukowe w bazach danych PUBMED oraz ScienceDirect.

Użyte słowa kluczowe:

Astrocytes, WNT pathway, Lithium Chloride, mental disorders; psychiatric disorders,

Istniejąca literatura wskazuje że w przebiegu chorób psychicznych i neurodegeneracyjnych obserwuje się patologiczne zmiany w astrocytach. Przykładem takich zaburzeń jest zaobserwowana w chorobie Alzheimera atrofia astrogleju, skutkująca m. in. zaburzeniem przekazywania synaptycznego i homeostazy neurotransmiterów u chorych, a w konsekwencji śmiercią neuronów. Wiele badań wskazuje także na wynikający z zaburzeń różnicowania i proliferacji astrocytów rozwój najczęstszych nowotworów układu nerwowego - gwiaździaków. Liczne badania wskazują także ich nieprawidłowe działanie w takich chorobach psychicznych jak schizofrenia, depresji, ADHD czy

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

choroba dwubiegunowa. Jednym z najdłużej stosowanych w leczeniu chorób psychicznych lekiem są sole litu. Sole litu wykorzystuje się w leczeniu pacjentów u których zostały zdiagnozowane zaburzenia afektywne dwubiegunowe czy nawracających zaburzeniach depresyjnych. Sole litu leczą epizody maniakalne oraz zapobiegają ich nawracaniu oraz nawracaniu epizodów depresyjnych. Wiedza na temat jaka rolę sole litu pełnią na poziomie komórkowych jest fragmentaryczna ale badania naukowe wskazują czynny udział soli litu w stabilizacji szlaku WNT/ β katenuina poprzez kumulację β katenuina w jądrze komórkowych. Zastosowanie soli litu (chlorku litu) w zaplanowanych procedurach pozwoli zrozumieć mechanizm molekularny który odpowiada za leczenie chorych stosujących sole litu. W perspektywie, wiedza wynikająca z moich badań może poprowadzić do lepszego zrozumienia etiologii tych zaburzeń i opracowania metod ich zapobiegania i leczenia.

Mimo krytycznego znaczenia astrocytów, w porównaniu z mechanizmami regulującymi procesy neurogenezy i oligodendrogenezy, szlaki sygnalizacyjne regulujące zarówno ich różnicowanie jak i funkcjonowanie są bardzo słabo poznane. Dopiero w ostatnich kilku latach podjęto intensywne badania zmierzające do identyfikacji szlaków sygnalizacyjnych kontrolujących kolejne stadia rozwoju astrocytów. Dostępne dane literaturowe jak i moje wstępne wyniki pozwoliły mi na postawienie hipotezy, że jednym z kluczowych szlaków sygnalizacyjnych kontrolujących funkcjonowanie astrocytów jest szlak WNT/ β katenuina. Celem niniejszego projektu jest weryfikacja tej hipotezy

Dostępna literatura wskazuje, że zaburzenia szlaku WNT/ β katenuina występują w chorobach psychicznych jak depresja czy schizofrenia oraz nowotworach mózgu. Niemniej jednak wiedza na temat tego jaki jest udział szlaku WNT/ β katenuina jest fragmentaryczna. Moje wstępne wyniki oraz dostępne dane literaturowe wskazują, że proces astrogenezy jest regulowany i koordynowany przez szlak WNT/ β katenuina. Przeprowadzone profilowania transkryptomu astrocytów wykazały, że efekторы szlaku WNT/ β katenuina takie jak czynniki transkrypcyjne TCF7L2, TCF7L1 oraz LEF1 są aktywne w ludzkich i mysich astrocytach. W przeprowadzonych przez siebie badaniach wykazałem, że na etapie specyfikacji komórek neuroepitelialnych szlak ten jest aktywny a poziom jego efektów znacznie rośnie. Zaobserwowałem również, że myszy pozbawione *Tcf7l2* we wszystkich komórkach organizmu (tzw. całkowity nokaut) mają znacznie niższy poziom głównego markera astrocytów - białka GFAP oraz niższą intensywność jego barwienia immunohistochemicznego w porównaniu do myszy kontrolnych. Wyniki te sugerują znaczne zaburzenia w procesie różnicowania astrocytów u myszy z zaburzonym szlakiem WNT/ β katenuina. Zatem możliwe jest, że odpowiednia modulacja szlaku WNT/ β katenuina w astrocytach jest konieczna dla prawidłowej funkcji mózgu.

Mając na uwadze dobrostan zwierząt będziemy stosowali zasadę 3 R. Ma to na celu możliwie jak największe zredukowanie liczby użytych zwierząt oraz zminimalizowanie ich cierpienia i dyskomfortu w trakcie trwania proponowanych procedur doświadczalnych. Ze względu na cel badawczy nie można zastąpić modeli zwierzęcych metodami *in vitro* takimi jak hodowle komórkowe czy tkankowe. Mało użytecznym jest wykorzystanie ustalonych linii komórek astrocytarnych ze względu na brak kontekstu tkankowego. Astrocyty m.in. regulują poziom neuroprzekazników w synapsach neuronalnych, w hodowlach nie jest to możliwe. Ponadto, rozwój astrocytów nie jest możliwy u zwierząt bezkręgowych dlatego, że wykształcony u nich układ nerwowy jest zbyt prosty i nie ma odniesienia do układu zwierząt kręgowych. Przeprowadzone z wykorzystaniem takich modeli eksperymenty miałyby bardzo małą wartość poznawczą i słabe, jeśli w ogóle, przełożenie na rozwój mózgu i astrocytów u ssaków.

Zaplanowane w badaniach myszy jako modelu zwierzęcego jest optymalnym rozwiązaniem m. in. ze względu na molekularne ale także i anatomiczne podobieństwo między mysimi i ludzkimi astrocytami. Aktywny szlak WNT występuje zarówno w komórkach neuroepitelialnych ludzkich oraz mysich. Podobnie, różnicujące astrocyty oraz dojrzałe komórki również charakteryzują się aktywnym szlakiem WNT. Rezultaty przeprowadzonych badań pozwolą z większą pewnością przełożyć wnioski płynące z doświadczeń na myszach na mechanizmy molekularne i biochemię mózgu ludzkiego.

Wszystkie osoby wykonujące procedurę mają już odpowiednie przeszkolenie oraz posiadają właściwe wyznaczenia.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

X NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.