

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Analiza zmian epigenetycznych i transkryptomu mikrogleju i makrofagów infiltrujących mózg szczura po niedokrwieniu/reperfuzji w szczurzym modelu udaru mózgu**

2. Czas trwania projektu: od 01.11.2015 do 30.10.2017

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) udar mózgu, stan zapalny, mikroglej, epigenetyka, transkryptomika

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.

W procesach neurodegeneracyjnych, w tym w udarze mózgu, dochodzi do aktywacji mikrogleju (komórek układu odpornościowego rezydujących w układzie nerwowym) i inicjacji stanu zapalnego. Do aktywacji mikrogleju dochodzi w obszarach występowania śmierci komórek nerwowych, a reakcja zapalna utrzymuje się miesiącami po przywróceniu krążenia. Oprócz aktywacji lokalnych komórek mikrogleju dochodzi do infiltracji makrofagów obwodowych, które mogą inicjować procesy naprawcze. Aktywacji mikrogleju do fenotypu zapalnego lub neuroprotektoryjnego, towarzyszą długotrwałe zmiany w ekspresji genów, które mogą być regulowane przez modyfikacje epigenetyczne i utrwalają na długi czas, jak powinien zachowywać się mikroglej. Postulujemy, że długotrwałe zmiany w funkcjonowaniu mikrogleju (chroniczna aktywacja produkcji mediatorów zapalenia lub indukcja ekspresji czynników neuroprotektoryjnych) mogą być konsekwencją stabilnych zmian w ekspresji genów wywoływanych przez modyfikacje epigenetyczne.

**Celem projektu jest określenie roli mechanizmów epigenetycznych w formowaniu zapalnego lub protektoryjnego fenotypu mikrogleju i makrofagów infiltrujących korę mózgową po udarze mózgu.** Udar zostanie wywołany zamknięciem na 90 min tętnicy środkowej mózgu (MCAo, middle cerebral artery occlusion), a uzyskana tkanka będzie wykorzystana do wysortowania mikrogleju/makrofagów infiltrujących mózg, porównania profilu ekspresji wybranych genów, ich zmian epigenetycznych w mikrogleju i obwodowych

makrofagach oraz do oceny markerów fenotypu zapalnego lub neuroprotektoryjnego metodami histologicznymi. Modyfikacje histonów zbadamy metodą immunoprecypitacji chromatyny oraz ilościowego PCR, a metylację DNA metodą reakcji PCR specyficznej dla zmetylowanego DNA.

Uzyskane wyniki poszerzą znacznie aktualny stan wiedzy o mechanizmach regulacji ekspresji genów w procesach patologicznych z udziałem mikrogleju/makrofagów. Określenie mechanizmów epigenetycznych sterujących procesem zapalnym lub naprawczym, pozwoli zidentyfikować kluczowe enzymy epigenetyczne, co posłuży do opracowywania strategii terapeutycznych w udarze i chorobach neurodegeneracyjnych.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Projekt zakłada wykorzystanie 160 samców szczura Wistar (Wistar/cmdbouthbred, Stado pochodzące z Charles River)

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Ze względu na charakter projektu, złożoność badanego procesu, a w szczególności występowanie ścisłej interakcji pomiędzy komórkami mikrogleju a innymi typami komórek mikrośrodowiska w mózgu zwierzęcia, które będą analizowane w projekcie, niemożliwym jest wykluczenie oraz zastąpienie zwierząt kręgowych innym materiałem do osiągnięcia celu doświadczenia. Jednakże w Pracowni podjęto wszelkie starania w celu optymalizacji metod izolowania komórek i pozyskiwania materiału do badań, ograniczono straty komórkowe i połączono metody ze sobą, co również wpłynęło na zmniejszenie liczby zwierząt potrzebnych do osiągnięcia założonych celów projektu. Podjęto wszystkie niezbędne środki w celu ograniczenia bólu w trakcie i po operacji. W trakcie trwania operacji zwierzęta znajdują się podczas ciągłej obserwacji eksperymentatora oraz monitorowany jest oddech i temperatura w celu uniknięcia nieprzewidzianej śmierci w czasie trwania operacji.