

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Wpływ stresu socjalnego na aktywność synaptyczną oraz wybrane elementy sygnalizacji wewnątrzkomórkowej w mózgu szczura

2. Czas trwania projektu . 16 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) stres przepełnienia, LTP, kora przedczołowa, noradrenalina

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.

Przewlekła ekspozycja na stres stanowi realne zagrożenie dla zdrowia człowieka. W patomechanizmie chorób psychicznych o podłożu stresowym kluczowe znaczenie wydaje się pełnić kora przedczołowa (PFC). Mechanizm wewnątrzkomórkowy indukowanej stresem dysfunkcji PFC nie jest poznany. Nasze wcześniejsze badania sugerują, że stres socjalny w przeciwieństwie do stresu fizyczno-psychologicznego jest nieadaptowalny. Brak możliwości adaptacji do warunków stresogennych jest szczególnie niebezpieczną przyczyną rozwoju takich chorób jak PTSD, zaburzenia lękowe, depresja. Z drugiej strony umiarkowany i krótkotrwały stres wydaje się mieć pozytywny wpływ na funkcjonowanie organizmu zależne od PFC. Zakłada się, że procedura stresu przepełnienia wytworzy trwałe zmiany w aktywności synaptycznej oraz sygnalizacji wewnątrzkomórkowej odpowiedzialne za zaburzenia lękowe i depresyjne. Skwantyfikowanie tych zmian po różnych czasach ekspozycji na stres socjalny pozwoli

określić ramy czasowe stresu pozytywnego. Po zakończeniu procedury stresowania wszystkie szczury będą uśmiercone w celu pobrania krwi oraz tkanek (PFC, hipokamp) lub całych mózgów do dalszych badań biochemicznych. Krew posłuży do oznaczeń ACTH i kortykosteronu, które są hormonalnymi markerami poziomu stresu i ich analiza zweryfikuje adaptowalność zwierząt do zastosowanego stresu. W badaniach biochemicznych oceniane będą poziom NE w PFC, zmiany w ekspresji wybranych mRNA i białek w hipokampie oraz wpływ stresu na interakcję beta1AR z AMPA w PFC szczura.

Oczekuje się, że otrzymane wyniki ukierunkują dalsze prace badawcze nad mechanizmem stresu i przyczynią się do ulepszenia farmakoterapii chorób o podłożu stresowym.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczur, Wistar, 90 sztuk

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

__EBSCO; ☒ PUBMED; __Google Scholar; __AGRICOLA; __ScienceDirect; __Web of Science (JCR).

Wykorzystano słowa kluczowe:

chronic stress/ noradrenaline/ prefrontal cortex *oraz*

stress/norepinephrine/prefrontal cortex *oraz*

crowding stress/prefrontal cortex/LTP *oraz*

glutamate receptors/ chronic stress/ LTP

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że ekspozycja na stres o wysokim natężeniu i/lub stres przewlekły jest poważnym czynnikiem ryzyka dla zdrowia człowieka.

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

- A. Przegląd literatury pozwala na stwierdzenie, że: pomimo licznych prac wciąż nie jest znany mechanizm negatywnego oddziaływania stresu na organizmy żywe
- B. Badania farmakologiczne wskazują na układ noradrenergiczny jako ważny element regulacji zaburzonych stresem czynności ośrodkowego układu nerwowego, a badania udziału receptorów beta adrenergicznych w patomechanizmie chorób o podłożu stresowym są nieliczne i brakuje spójnej wiedzy o ich zaangażowaniu w zmienionej stresem sygnalizacji wewnątrzkomórkowej w korze przedczołowej
- C. Nie jest znany wpływ stresu przepełnienia na indukcję LTP w korze przedczołowej
- D. Wpływ stresu na transmisję glutaminianergiczną zależy od rodzaju stresu i czasu ekspozycji na stres, ale wyniki w tym zakresie nie są jednoznaczne

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: uzupełnienie wiedzy w powyższym zakresie i oraz poprawne zaplanowanie i przygotowanie dalszych doświadczeń.

Zastąpienie

Celem doświadczenia jest ocena wpływu ekspozycji całych organizmów na wielokrotny stres. Brak jest alternatywnych modeli innych niż zwierzęce nadających się do zbadania wewnątrzkomórkowego mechanizmu chorób o podłożu stresowym uwzględniających skomplikowane zależności połączeń pomiędzy strukturami mózgowymi. Muszą zostać wykorzystane zwierzęta o organizacji i stopniu rozwoju porównywalnym z człowiekiem. Do doświadczenia zaplanowano użycie szczurów Wistar. Szczep Wistar jest powszechnie używany do modelowania chorób o podłożu stresowym, jest szczególnie podatny stres, wrażliwy na modulacje transmisji noradrenergicznej, a zaangażowanie transmisji noradrenergicznej w patomechanizmie chorób psychicznych o podłożu stresowym jest głównym obszarem badań prowadzonych w naszym Zakładzie.

Ograniczenie

W projekcie wykorzystano minimalną liczbę zwierząt. Liczebność grup została ograniczona do minimum niezbędnego do uzyskania wiarygodnych wyników. Badania elektrofizjologiczne z powodów technicznych mogą być przeprowadzone jedynie u 2 zwierząt przebywających w jednej klatce. Dla oceny ilościowej elektrofizjologicznych zmian indukowanych różny stresem przepełnienia wystarczą 4 osobniki, a więc na oznaczenia elektrofizjologiczne w każdej z grup stresowanych (3d, 7d, 14d) konieczne jest użycie 24 szczurów. Niewykorzystane do elektrofizjologii zwierzęta (20 szt na każdą

grupę stresowaną) posłużą na badania biochemiczne. Opierając się na dostępnej literaturze oraz doświadczeniu własnym dotyczącym zmienności danych w badaniach biochemicznych i immunohistochemicznych zaplanowano użycie 18 zwierząt kontrolnych łącznie dla badań elektrofizjologicznych i biochemicznych. W planowaniu ilości założono, że do badań elektrofizjologicznych oraz do każdego rodzaju badań biochemicznych określających wpływ stresu będzie używana oddzielna grupa kontrolna, która będzie wspólna dla trzech grup zwierząt stresowanych. Zaplanowano minimalną i wystarczającą ilość zwierząt w poszczególnych grupach doświadczalnych konieczną do wiarygodnej oceny statystycznej

Udoskonalenie

Doświadczenie zostało poprzedzone rozeznaniem w piśmiennictwie naukowym. Uzyskana wiedza literaturowa oraz posiadany warsztat badawczy pozwolą na pełne wykorzystanie zwierzęcego modelu stresu socjalnego. Zwierzęta nie wykorzystane do przeprowadzenia badań elektrofizjologicznych, dzięki szerokiemu wachlarzowi nowoczesnych badań na poziomie molekularnym prowadzonych w naszym Zakładzie, posłużą do kompleksowych badań biochemicznych, takich jak: oznaczenia w hormonów i neurotransmiterów informujących o natężeniu stresu, zmian ekspresji genów/białek w wybranych strukturach mózgowych oraz na skrawkach mózgowych. Zaplanowane w projekcie badania po 3, 7 i 14 dniowej ekspozycji na stres pozwolą określić rozwój patomechanizmu w czasie. Wielopoziomowa charakterystyka zmian molekularnych pogłębiających się wraz z czasem ekspozycji na stres socjalny uprecyzyjni miejsce i mechanizm indukowanych uszkodzeń w rozwoju chorób psychicznych. Do badań przeprowadzanych na tkankach i narządach będą wykorzystane nowoczesne metody badawcze.

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.