

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu:

Rola aktywacji nuklearnego czynnika transkrypcyjnego Nrf2 indukowanej podaniami (R,S)- Sulforafanu w regulacji zachowań typu depresyjnego w modelu usunięcia opuszek węchowych u myszy.

2. Czas trwania projektu: 36 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): depresja; nuklearny czynnik transkrypcyjny Nrf2; (R,S)-Sulforafan; stan zapalny; stres oksydacyjny

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): 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.

Depresja to choroba heterogenna o wysoce zróżnicowanej etiologii (udział czynników biologicznych, genetycznych i środowiskowych). Wykazano, że współistnienie procesów zapalnych z zaburzoną homeostazą oksydacyjną wydaje się być kluczowym mechanizmem patofizjologii depresji, ale również stanowi obiecujący kierunek poszukiwania skuteczniejszych metod jej leczenia.

Za regulację procesów zapalnych oraz oksydacyjnych odpowiedzialnych jest wiele czynników/białek. Spośród nich, nuklearny czynnik transkrypcyjny Nrf2 (*ang. nuclear factor erythroid 2related*), odgrywa istotną rolę w kontekście depresji. Doniesienia naukowe sugerują, że modulacja czynnika Nrf2, w tym również jego aktywacja mogą stanowić nowy cel terapii przeciwdepresyjnych. Obecnie znanych jest kilka aktywatorów Nrf2, spośród których sulforafan jako izotiocyjnanian (związek organosiarkowy) o niskiej toksyczności, charakteryzujący się wielokierunkowym działaniem antyoksydacyjnym, przeciwzapalnym oraz neuroprotektoryjnym, stanowi obiecujący cel farmakoterapii zaburzeń psychicznych.

Dlatego też, celem planowanego badania jest określenie roli nuklearnego czynnika transkrypcyjnego Nrf2 (*ang. nuclear factor erythroid 2related*), poprzez zastosowanie jego aktywatora (R,S) – Sulforafanu, w odwracaniu zachowań typu depresyjnego (*ang. depression-like*) indukowanych modelem usunięcia opuszek węchowych (OB) u myszy. Związek (R,S) – Sulforafan będzie podawany w trzech dawkach 2,5; 5 i 10 mg/kg dootrzewnowo (*i.p*) przez okres 14 dni. W zaplanowanym eksperymencie amitryptylina (10mg/kg) będzie stanowić lek referencyjny. Celem weryfikacji zmian w behawiorze myszy wywołanych usunięciem opuszek węchowych (hiperaktywność) oraz oceny efektywności przeciwdepresyjnej (R,S) – Sulforafanu u zwierząt zostaną przeprowadzone testy behawioralne (test wolnego pola oraz test „pielęgnacyjny” splash test). Wyizolowane tkanki (surowica krwi, struktury mózgowie) zostaną wykorzystane do zaplanowanych w drugiej części projektu badań biochemicznych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W niniejszym projekcie planowane jest wykorzystanie 80 myszy (samce) szczepu C57Bl/J6, wiek 2,5 miesiąca, masa 20-25g. Szczep C57Bl/J6 jest standardowo wykorzystywanym w modelu usunięcia opuszek węchowych.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

ZASTĄPIENIA: Celem projektu jest ocena przeciwdepresyjnych właściwości aktywatora nuklearnego czynnika Nrf2, związku organosiarkowego (R,S)-Sulforafanu w mysim modelu depresji indukowanym obustronnym usunięciem opuszek węchowych. Złożoność procesów zachodzących w żywym organizmie, sprawia że na tym etapie ocena przeciwdepresyjnych właściwości nowych związków nie jest możliwa z wykorzystaniem metod *in vitro*. Ocena taka możliwa jest jedynie z wykorzystaniem żywego organizmu o wysokim stopniu organizacji układu nerwowego. Zabieg chirurgicznego usunięcia opuszek węchowych stanowi jeden z najbardziej uznanych zwierzęcych modeli depresji naśladującym objawy depresji agitowanej u ludzi. Model ten pomimo swojej dotkliwości, w porównaniu do nieinwazyjnych testów przesiewowych umożliwia wysoce specyficzną i selektywną ocenę aktywności przeciwdepresyjnej badanych związków. Co więcej, ocena efektu przeciwdepresyjnego badanych związków wymaga ich chronicznego podawania, co odzwierciedla przebieg obrazu klinicznego.

OGRANICZENIA: Liczba zwierząt w grupach eksperymentalnych została ograniczona do minimum pozwalającego na uzyskanie statystycznie rzetelnych wyników. Grupy kontrolne pod względem liczebności będą odpowiadać grupom doświadczalnym, co zapewni odpowiednią jakość obliczeń statystycznych.

UDOSKONALENIA: Zwierzęta będą bytowały w pomieszczeniach o stałej temperaturze 22±20°C i wilgotności 55±5% powietrza, w standardowych klatkach plastikowych, z zachowaniem naturalnego cyklu dobowego (faza jasna 7-19; faza ciemna 19-7) przy nieograniczonym dostępie do wody i suchej karmy granulowanej. Ze względu na konieczność wykonania opisanej jako dotkliwej, procedury chirurgicznego usunięcia opuszek węchowych, zwierzętom 60 min przed zabiegiem jako lek przeciwbólowy i przeciwzapalny podskórnie zostanie podana metoksyna. Lek ten podawany będzie przez ok 4-5 dni od operacji. Takie postępowaniem umożliwi ograniczenie bólu, cierpienia oraz dystresu. W eksperymencie planuje się wykorzystanie kleju tkankowego (np. histoakrylu) do zamknięcia skóry czaszki po operacji usunięcia opuszek węchowych. Czynność ta ograniczy ryzyko uszkodzenia/naderwania cienkiej skóry czaszki myszy, możliwego do wystąpienia podczas tradycyjnego zszywania z wykorzystaniem nylonowych nici chirurgicznych. Należy podkreślić, że zwierzęta poddane procedurze chirurgicznego usunięcia opuszek węchowych nie nabywają znaczących dysfunkcji uniemożliwiających ich normalne funkcjonowanie.

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