

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Rola stresu retikulum endoplazmatycznego w zaburzeniach dojrzewania kory przedczołowej wywołanych stresem we wczesnym okresie życia.**

2. Czas trwania projektu: 2 lata i 5 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): separacja od matki, wczesny stres, zaburzenia nastroju, stres retikulum endoplazmatycznego, kora przedczołowa

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.

Badania kliniczne wskazują, że stresujące zdarzenia zachodzące we wczesnym okresie życia osobnika zwiększają ryzyko chorób psychicznych (np., depresji, lęku) w okresie późniejszym. Uważa się, że wczesny stres zaburza procesy rozwoju i dojrzewania mózgu ale nie są znane pierwotne mechanizmy odpowiedzialne za te zaburzenia. Najnowsze badania wskazują, iż takim pierwotnym mechanizmem może być stres komórkowy wywołany zaburzeniem homeostazy. Prowadzi on do aktywacji procesów naprawczych, takich jak stres retikulum endoplazmatycznego (ER) oraz związana z nim odpowiedź na niepoprawnie zwinięte białka (UPR). Działania te zwiększają szansę przeżycia komórki. Jednak w przypadku, gdy stres komórkowy przewyższa możliwości adaptacyjne, stres ER i UPR aktywują ścieżki prowadzące do śmierci komórkowej. Celem doświadczenia jest zbadanie roli stresu ER i UPR w powstawaniu zaburzeń dojrzewania kory przedczołowej wywołanych przez wczesny stres, modelowany za pomocą procedury separacji osesków szczurzych od matki. Do zablokowania efektów stresu separacji posłuży wcześniejsze podanie salubrynalu, substancji stosowanej do eksperymentalnego hamowania efektów stresu ER (procedura 1). Planowane są kompleksowe badania

biochemiczne i morfologiczne na tkankach zwierząt we wczesnym okresie postnatalnym, krytycznym dla rozwoju kory przedczołowej, oraz dorosłych (procedura 1, 2). Planowane doświadczenie, szczególnie zastosowanie procedury nr 1, może wywołać umiarkowane niekorzystne oddziaływanie na dobrostan lub ogólny stan zwierząt. Jednak wyniki uzyskane z proponowanego doświadczenia pozwolą na znaczne rozwinięcie wiedzy dotyczącej etiologii i patomechanizmów zaburzeń nastroju i lęku. Ponadto, rozwój i dostępność małoinwazyjnych metod obrazowania mózgu sprawiają, że nasze wyniki mogą potencjalnie skłonić do wdrażania profilaktycznych badań u osób z historią wczesnego stresu i w ten sposób przyczynić się do wczesnej diagnozy chorób psychicznych.

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

Planowane jest wykorzystanie 1059 szczurów wędrownych szczepu Wistar

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Planując projekt badawczy i doświadczenie sprawdzono istniejący stan wiedzy w zakresie objętym wnioskiem w bazach danych PUBMED, Google Scholar, Web of Science. Wykorzystano następujące słowa kluczowe: early-life stress, maternal separation, neurodevelopment, endoplasmic reticulum stress, unfolded-protein response, apoptosis, proliferation, synaptic plasticity, prefrontal cortex, mood disorders, anxiety, adolescence.

Na podstawie przeszukanej literatury stwierdzono, że niestety, niemożliwe jest zastosowanie metody badawczej zapewniającej osiągnięcie celów tego projektu bez wykorzystania zwierząt. W celu modelowania etiologii oraz dynamiki rozwoju chorób psychicznych nie jest możliwe zastąpienie zwierząt kręgowych zwierzętami o niższym stopniu rozwoju. Co więcej, badany model wczesnego stresu w znacznym stopniu oparty jest na wzajemnej interakcji matka-potomstwo. Ze względu na fakt ograniczonego rozwoju więzi matki z potomstwem u gatunków niższych, do modelowania powyższych interakcji powszechnie wykorzystuje się w nauce gryzonie (w tym szczury). Z wykorzystaniem obecnie dostępnych metod *in vitro*, czy też *in silico* wciąż trudno jest badać etiologię czy patofizjologię chorób psychicznych. Model separacji od matki jest dobrze zwalidowanym i od lat szeroko stosowanym w nauce modelem wczesnej traumy. Zatem uzyskane wyniki badań można będzie odnosić do już zgromadzonej wiedzy. Najświeższe dane literaturowe pozwalają na postawienie hipotezy, że stres ER i UPR może wiązać się z patofizjologią depresji i choroby afektywnej dwubiegunowej. Nie mniej wiedza na ten temat jest znikoma. Brak jest danych czy wczesny stres – jako ważny czynnik w etiologii chorób psychicznych – aktywuje stres ER i UPR i czy wpływa przez to na rozwój mózgu. Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na rozwinięcie wiedzy dotyczącej patomechanizmów zaburzeń nastroju i lęku.

Liczba zwierząt planowanych do wykorzystania w doświadczeniu została ograniczona do liczby pozwalającej na osiągnięcie określonych celów badawczych i bazuje na doświadczeniach własnych i dostępnej literaturze z zakresu wykorzystania zwierzęcych modeli do badań nad stresem, neurorozwojem i etiologią chorób psychicznych. Liczba zwierząt zaproponowana w doświadczeniu uwzględnia zarówno specyfikę rozrodu szczurów, jak również ich odpowiedź na działanie czynników środowiskowych i pozwala na osiągnięcie wyników istotnych statystycznie przy zastosowaniu wieloczynnikowej analizy wariancji. Ze względów finansowych przeprowadzenie końcowych analiz w doświadczeniu planowane jest u potomnych samców, jednak wymogiem doświadczenia jest obecność samic potomnych w miotach przez co i tak wchodzi one w procedury.

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

W celu właściwego/humanitarnego wykorzystania zwierząt płci żeńskiej planuje się pobrania z nich tkanek i zabezpieczenie na poczet innych badań w najkrótszym możliwym czasie od rozpoczęcia procedur tj. w PND 15 i PND 26. Choć projekt dedykowany jest badaniom nad rozwojem kory przedczołowej, to planowane jest pobranie wielu innych struktur mózgu z każdego zwierzęcia, a także krwi i innych narządów w celu ich wykorzystania w innych projektach. W trakcie projektu testowane będą nowe narzędzia i metody badawcze, w związku z tym planuje się przeprowadzanie pilotażowych eksperymentów na tkankach z pojedynczych osobników, tak aby nie zmarnować poświęconych w eksperymencie zwierząt. W celu ograniczenia liczby zwierząt do rozrodu planowane są również wielokrotne tury kojarzeń.

Proponowany model wczesnego stresu postnatalnego (codzienna 3 godzinna separacja od matki przez 2 tygodnie), jest oparty o stosunkowo umiarkowaną procedurę, w porównaniu do bardziej dotkliwych modeli dostępnych w literaturze, które między innymi zakładają: znacznie dłuższy czas izolacji (np. 6 godzin dziennie przez 3 tygodnie czy jednorazowo 24 h) i bardziej dotkliwe warunki, tj. temperatura pokojowa, czy brak ściółki. Stosowana 3 godzinna separacja w środowisku naturalnym nie jest czymś rzadkim, występuje wtedy gdy matka wyrusza na poszukiwanie pokarmu. Zwierzęta są stresowane, w stopniu, który pozwala na wywołanie odpowiednich deficytów, jednak należy podkreślić, że izolowane są całe mioty, a nie pojedyncze osobniki i odbywa się to w warunkach zbliżonych do naturalnego gniazda (typowa ściółka, inkubator zapewniający odpowiednią temperaturę i wentylację).

#### 8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

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

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.