

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Wpływ blokady receptora beta(1)AR na indukowane przewlekłym stresem zmiany sygnalizacji wewnątrzkomórkowej w korze przedczołowej szczura oraz na wybrane parametry behawioru

2. Czas trwania projektu . 9 miesięcy

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

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. Mechanizm wewnątrzkomórkowy indukowanej stresem dysfunkcji kory przedczołowej (PFC) nie jest poznany. Naszą hipotezą roboczą jest, że przewlekły stres prowadzi do nadaktywności receptorów beta1AR (beta1AR) w PFC, ich nasilonej interakcji z receptorem AMPA dla glutaminianu i zmian w sygnalizacji wewnątrzkomórkowej. W projekcie zaplanowaliśmy eksperymentalne sprawdzenie poziomu NE w PFC szczurów poddanych długotrwałemu stresowi unieruchomienia nieleczonych i leczonych betaksololem (antagonista beta1AR). Szczury będą stresowane łącznie przez 14 dni (6 dni w tygodniu) przez 3 godziny dziennie. Połowa z nich w drugim tygodniu stresowania otrzyma betaksolol, a pozostałe sól fizjologiczną. Szczury kontrolne będą otrzymywać leki równolegle bez procedury stresowania. Zakłada

się, że procedura stresowania wytworzy trwałe zmiany w sygnalizacji wewnątrzkomórkowej odpowiedzialne za zaburzenia lękowe i depresyjne, a zablokowanie beta1AR w drugim tygodniu stresowania bezpośrednio po sesji unieruchomienia zapobiegnie utrwaleniu się tych zmian sygnalizacyjnych. W okresie ekspozycji na stres i podawania leku wykonane będą badania behawioralne wskazujące na wytworzenie się zaburzeń pamięci, lęku i/lub depresji. Rezultaty badań behawioralnych zweryfikują efektywność zastosowanego modelu doświadczalnego oraz farmakoterapii. Po zakończeniu procedury stresowania wszystkie szczury będą uśmiercone w celu pobrania tkanek (PFC, hipokamp) lub całych mózgów do dalszych badań biochemicznych, w których oceniany będzie udział beta1AR w zależnych od stresu zmianach poziomu NE w PFC, zmianach 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 HAN, 48 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

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

stress/norepinephrine/prefrontal cortex *oraz*

stress/prefrontal cortex/adrenergic receptors *oraz*

beta adrenergic receptor/ chronic stress/ brain

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

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, ale obecne farmakoterapie oparte o tą regulację są niewystarczająco efektywne.

C. 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

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 HAN. Szczep Wistar jest powszechnie używany do modelowania chorób o podłożu stresowym, jest szczególnie podatny stres, wrażliwy na modulację transmisji noradrenergicznej i wszystkie badania mechanizmów chorób psychicznych prowadzone w naszym zakładzie koncentrujące się wokół transmisji noradrenergicznej prowadzone są na samcach szczurów Wistar HAN.

Ograniczenie

W projekcie wykorzystano minimalną liczbę zwierząt. Liczebność grup została ograniczona do minimum niezbędnego do uzyskania wiarygodnych wyników. Badania behawioralne i biochemiczne w

strukturach mózgowych będą wykonane u tych samych zwierząt. Na badania biochemiczne na skrawkach przeznaczono mniej zwierząt niż na badania behawioralne opierając się na dostępnej literaturze opisującej dane immunohistochemiczne oraz wiedząc, że badania biochemiczne cechuje mniejsza zmienność.

Udoskonalenie

Doświadczenie zostało poprzedzone rozeznaniem w piśmiennictwie naukowym. Uzyskana wiedza literaturowa oraz doświadczenie własne z pracy podczas stypendium doktorskiego zaowocowały opracowaniem udoskonalonego protokołu podania leku- lek będzie wprowadzony w drugim tygodniu stresowania i podawany natychmiast po stresie, kiedy zmiany w sygnalizacji wewnątrzkomórkowej są jeszcze nieutrwalone i łatwo je zmodyfikować właściwą terapią. Do doświadczenia zostanie wykorzystany specjalistyczne zestawy (perforowane tuby) do unieruchomienia zapewniające swobodne oddychanie zwierząt. Celem podania leku jest blokada beta1AR w mózgu. Zgodnie z uzyskaną wiedzą, że betaksolol w niezmienionej postaci szybko przenika do ośrodkowego układu nerwowego spośród różnych możliwych dróg podania leku wybrano najmniej stresującą dla zwierzęcia- podanie doustne. Zaplanowano testy behawioralne o możliwie najniższej inwazyjności a ich przebieg będzie rejestrowany i możliwy do ponownej oceny bez konieczności powtórzenia doświadczenia. Dla komfortu zwierząt pomiędzy przeprowadzanymi testami behawioralnymi stosowana będzie przerwa co najmniej 24 godz. 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.