

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu:

Wpływ usunięcia receptorów NMDA z neuronów serotonergiczných na awersyjne efekty łagodnego stanu zapalnego.

2. Czas trwania projektu: 24 miesiące

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów):

serotonina, stan zapalny, awersja, receptory NMDA

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.

Celem doświadczenia jest zbadanie wpływu aktywacji neuronów wytwarzających serotoninę na unikanie bodźców skojarzonych z wywołaniem stanu zapalnego i towarzyszącego mu obniżenia nastroju. Wyniki doświadczenia będą istotne w kontekście zaobserwowanego u ludzi związku pomiędzy depresją a stanem zapalnym.

Rola serotoniny w przetwarzaniu bodźców awersyjnych jest niejasna. Neurony wydzielające serotoninę są pobudzane przez nieprzyjemne bodźce, jednak to nie wzrost, a spadek poziomu serotoniny wiązany jest z depresją i pogorszeniem nastroju wywołanym przez stres. Nasze wcześniejsze badania sugerują, że obniżenie aktywności neuronów serotonergiczných jest odpowiedzialne za pogorszenie nastroju w wyniku odczuwania bólu o podłożu zapalnym.

Na wstępnym etapie badań chcielibyśmy sprawdzić, czy obniżenie pobudliwości neuronów serotonergiczných wpływa na stopień odczuwanej dokuczliwości stanu zapalnego oraz zdolność

do unikania otoczenia, w którym podana została substancja wywołująca stan zapalny - lipopolisacharyd. W tym celu planujemy posłużyć się testem nazywanym warunkową awersją miejsca. Warunkowa awersja miejsca opiera się na zdolności do kojarzenia nieprzyjemnego bodźca z otoczeniem, w którym doświadczano jego działania (warunkowanie klasyczne) i jest powszechnie stosowany u gryzoni jako miara odczuwanej nieprzyjemności bodźca.

W doświadczeniach chcielibyśmy użyć myszy, u których w dorosłym życiu wywoływana jest mutacja skutkująca usunięciem receptorów NMDA z neuronów wytwarzających serotoninę (szczep Nr1^{Tph2CreERT2}). Usunięcie receptorów NMDA powinno spowodować zmniejszenie pobudliwości neuronów serotonergiczných.

W badaniach zastosujemy metodę wzbudzania łagodnego stanu zapalnego poprzez podanie zwierzętom pochodzącego z bakterii lipopolisacharydu. Zaplanowane przez nas dawki są ponad dwukrotnie niższe niż dolny zakres dawek rutynowo stosowanych w badaniach nad układem odpornościowym. We wcześniejszych badaniach podanie lipopolisacharydu w dawkach podobnych do zaplanowanych nie miało wpływu na stan zdrowia zwierząt po zakończeniu doświadczenia.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

36 samców *Mus musculus* C57BL6/N

48 samców *Mus musculus* NR^{Tph2CreERT2}

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Rola serotoniny w przetwarzaniu bodźców awersyjnych jest niejasna. W literaturze przeważają badania, w których obserwuje się aktywację neuronów serotonergiczných w wyniku działania nieprzyjemnych bodźców, w tym lipopolisacharydu, jednak dostępne są też badania nieświadczające takiej aktywacji. Dodatkowo, niedawno pojawiło się doniesienie sugerujące, że to obniżenie aktywności neuronów serotonergiczných jest konieczne do wykształcenia awersji wywołanej bólem o podłożu zapalnym. Zaproponowane doświadczenie pozwoli na stwierdzenie, czy aktywacja neuronów serotonergiczných jest konieczna do unikania bodźców skojarzonych z wywołaniem stanu zapalnego oraz rozwinie istniejącą wiedzę na temat ogólnego mechanizmu awersji.

Cohen, J.Y., Amoroso, M.W., and Uchida, N. (2015). **Serotonergic neurons signal reward and punishment on multiple timescales**. *Elife* 4.

Hollis, J.H., Evans, A.K., Bruce, K.P., Lightman, S.L., and Lowry, C.A. (2006). **Lipopolysaccharide has indomethacin-sensitive actions on Fos expression in topographically organized subpopulations of serotonergic neurons**. *Brain Behav Immun* 20, 569-577.

Li, Y., Zhong, W., Wang, D., Feng, Q., Liu, Z., Zhou, J., Jia, C., Hu, F., Zeng, J., Guo, Q., *et al.* (2016). **Serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus encode reward signals**. *Nat Commun* 7, 10503.

Schweimer, J.V., and Ungless, M.A. (2010). **Phasic responses in dorsal raphe serotonin neurons to noxious stimuli**. *Neuroscience* 171, 1209-1215.

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

Singh, A.K., Zajdel, J., Mirrasekhian, E., Almoosawi, N., Frisch, I., Klawonn, A.M., Jaarola, M., Fritz, M., and Engblom, D. (2017). **Prostaglandin-mediated inhibition of serotonin signaling controls the affective component of inflammatory pain.** The Journal of clinical investigation 127.

Zastosowanie zasad 3R:

1. Udoskonalenie.

Warunki bytowania zwierząt będą ściśle kontrolowane. Zwierzęta będą przebywać w klimatyzowanych pomieszczeniach. Kontakt ze zwierzętami będą miały wyłącznie osoby prowadzące doświadczenie. Stan klatek będzie kontrolowany codziennie, ale o ile będzie to możliwe ściółka będzie zmieniana nie częściej niż raz w tygodniu; częste zmiany ściółki są dla zwierząt stresujące. W klatkach hodowlanych wprowadzone zostało wzbogacone środowisko.

2. Ograniczenie.

Zaproponowana liczebność grup bazuje na wyliczonej możliwości zaobserwowania statystycznie znamiennych zmian w zachowaniu. Użycie mniejszej liczby zwierząt zwiększy ryzyko niewykrycia istniejącego w rzeczywistości efektu mutacji.

3. Zastąpienie.

Zastąpienie myszy modelowaniem *in silico* lub organizmami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego jest niemożliwe, ze względu na wysoką złożoność badanych systemów biologicznych (układ odpornościowy i nerwowy) i ich wzajemnych oddziaływań.