

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. 1 Tytuł projektu .Rola mobilności białka PSD-95 w hipokampie w regulacji modyfikacji śladu pamięciowego
2. 2. Czas trwania projektu .25.03.2019 – 25.03.2024.....
3. 3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) hipokamp, PSD-95, uczenie, ślad pamięciowy
4. 4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych)

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.

Cel: Celem doświadczenia jest poznanie molekularnych podstaw przebudowy śladu pamięciowego.

Analizowana będzie rola białka, które tworzy rusztowanie synaps (PSD-95), w tworzeniu pamięci przestrzennej.

Korzyści: Poznawanie molekularnego podłoża uczenia się i zmian śladu pamięciowego może w przyszłości przyczynić się do powstania nowych terapii zaburzeń związanych z pamięcią jak np. zespół stresu pourazowego. W naszych doświadczeniach skupiamy się na powstawaniu i przebudowie pamięci przestrzennej, która dotyczy albo lokalizacji nagrody w przestrzeni albo miejsca w którym zwierzę doświadcza bodźca awersyjnego. Chcemy, przy użyciu nowoczesnych technik zbadać jak zmieniają się synapsy w hipokampie myszy która przebudowuje ślad pamięciowy, a także spróbować wpłynąć na

zachowanie zwierząt przez blokadę lub utrudnienie zmian w synapsach. Zrobimy to modyfikując białko PSD-95. Wyniki naszych eksperymentów przyniosą wiele nowych informacji na temat powstawania i modyfikacji pamięci.

Szkody: Procedury przedstawione we wniosku są umiarkowanie dotkliwe. Część zwierząt zostanie poddana operacjom wstrzyknięcia wektorów wirusowych do mózgu i może nie przeżyć zabiegu, zdarzenie to dotyczy ok. 2% myszy. W trakcie operacji zwierzęta otrzymają należytą opiekę, znieczulenie a także środki przeciwbólowe i przeciwbakteryjne. Dodatkowo podniesienie, obniżenie lub zablokowanie mobilizacji białka PSD-95 w hipokampie może spowodować zaburzenia pamięci oraz uczenia się myszy.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniach zaplanowano wykorzystanie 392 myszy *mus musculus* C57BL/6Jcmdb

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Przygotowując projekt badawczy sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazie danych PUBMED. Wykorzystałam następujące słowa kluczowe:

wygaszanie pamięci strachu, PSD-95, mobilność białka PSD-95, warunkowanie zależne od kontekstu, przestrzenne uczenie się nagrody, hipokamp, CA1

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że zgromadzone dane literaturowe uzasadniają przeprowadzenie planowanych badań.

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: Badania śladu pamięciowego i jego przebudowy dostarczają podstawowych informacji na temat funkcjonowania mózgu a także mogą być podstawą tworzenia nowych terapii takich zaburzeń jak zespół stresu pourazowego. Białko PSD-95 jest jednym z białek budujących szkielet synaps pobudzających, a jego rola *in vitro* jest bardzo szeroko zbadana, zwłaszcza w kontekście kotwiczenia receptorów AMPA (Compans 2016). Wiadomo, że zablokowanie mobilności PSD-95 *in vitro* powoduje zmianę plastyczności synaptycznej (Steiner 2008). Również nasze wstępne wyniki, uzyskane w hodowlach komórkowych wskazują, że obecność białka PSD-95, które nie może zostać usunięte z synapsy (forma PSD-95S73A) może blokować plastyczność synaptyczną, co jest zgodne z wynikami *in vitro* z innych grup badawczych (Steiner 2008). Dodatkowo wyniki naszej grupy z wykorzystaniem myszy o ograniczonej plastyczności synaptycznej (Radwanska 2011) wskazują, że zahamowanie plastyczności w mózgu może mieć wpływ na zaburzenie przebudowy śladu pamięciowego. Wiadomo również, że obecność białka PSD-95 konieczna jest do utworzenia

długotrwałego śladu pamięciowego (Fitzgerald 2015) oraz że hipokamp odpowiada za tworzenie się pamięci przestrzennej również u ludzi (Chun 1999). Dodatkowo niedawno odkryto, że białko PSD-95 jest bardzo mobilne w synapsach pobudzających również *in vivo* (Wegner 2018)

B. Brak jest danych dotyczących: jak ewentualne zahamowanie mobilności PSD-95 (przez używaną przez nas mutację S73A) wpływa na przebudowę pamięci (nadekspresja białka PSD-95 z tą mutacją nie była stosowana *in vivo*) i jaka jest szczegółowa rola poziomu białka PSD-95 w przebudowie śladu pamięciowego w hipokampie w oknie ok. 24 h od rozpoczęcia uczenia się. Do tej pory wykorzystywano raczej globalne strategie manipulacji poziomem PSD-95 (Winkler 2018, Fitzgerald 2015), a proponowane przez nas badania dotyczą lokalnych zmian, które są łatwiejsze do późniejszej interpretacji.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku lepszego poznania molekularnych mechanizmów rządzących przebudową oraz powstawaniem pamięci dotyczącej kontekstu przestrzennego zarówno w uczeniu apetytywnym jak i w uczeniu strachu

B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na możliwym rozwoju terapii zaburzeń związanych z pamięcią kontekstu przestrzennego takich jak zespół stresu pourazowego czy uzależnienia od substancji psychoaktywnych

ZASADA ZASTĄPIENIA: W celu zbadania komórkowych mechanizmów odpowiadających za tak złożone procesy przebudowa śladu pamięciowego zależnego od kontekstu i związanego z hipokampem jest użycie zwierząt, która mają złożony układ nerwowy zawierający hipokamp. W celu zastąpienia zwierząt naczelnych, wykorzystane zostaną myszy, jako małe kręgowce charakteryzujące się złożonym układem nerwowym. Ze względu na doświadczenie w pracy z myszami osób zaangażowanych w ten projekt będzie możliwe ograniczenie dystresu zwierząt do niezbędnego minimum.

OGRANICZENIE: Liczba zwierząt na grupę została obliczona w oparciu o wcześniejsze doświadczenia, za pomocą kalkulatora internetowego (<http://www.biomath.info/power/prt.htm>) dla testu t, na podstawie wytycznych statystycznych oraz porównana do liczebności grup podanych w literaturze. Biorąc pod uwagę otrzymane do tej pory wyniki behawioralne, różnice w średnich między grupami i odchylenia standardowe, a także umieralność zwierząt w wyniku operacji oraz niepowodzenia operacji (brak ekspresji wektora wirusowego, nieprawidłowe trafienie związane z abnormalną budową mózgu danego osobnika) planujemy wykonać eksperymenty na jak najmniejszej liczbie zwierząt, ale wystarczającą, by móc wyciągnąć jednoznaczne wnioski z prowadzonych badań. Dodatkowo w procedurze 3 zdecydowano, na podstawie przeglądu literatury oraz wcześniejszych wyników na wybranie tylko dwóch punktów czasowych pobrania tkanek co ogranicza znacznie liczbę wykorzystanych zwierząt.

UDOSKONALENIE: Wszystkie doświadczenia będą wykonywane i/lub nadzorowane przez doświadczonych badaczy, którzy będą regularnie kontrolować dobrostan zwierząt, tak by ograniczyć ich cierpienie na wszystkich etapach. Do klatek domowych zwierząt dodawane będą przedmioty

wzbogacające środowisko, umożliwiające budowę gniazda i zabawę (tunele z celulozy, klocki z drewna do ścierania zębów, bawełniane rączniki czy bawełniane kokony). Zwierzęta poddane procedurom chirurgicznym otrzymają stosowne znieczulenie, środki przeciwbólowe i środki zapobiegające zakażeniu. Wszystkie inwazyjne interwencje operacyjne zostaną przeprowadzone z możliwie największym ograniczeniem dystresu, dyskomfortu i bólu jakie odczuwać może badane zwierzę. Podczas operacji uwzględnione zostaną także takie czynniki, jak m.in. warunki cieplne optymalne dla danego gatunku, czy zapewnienie myszom spokojnego otoczenia do rekonwalescencji.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną

~~TAK—na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy~~

~~TAK—na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy~~

X NIE