

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „Udział mikrogleju w kontroli funkcji synaptycznych w odpowiedzi na przewlekły stres i podatności na depresję”

2. Czas trwania projektu: 24 miesiące

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): przewlekły stres, depresja, mikroglej, minocyklina

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.

Duża depresja (ang. major depressive disorder, MDD) jest trzecią z najczęstszych chorób psychicznych na świecie i jej częstość wzrasta w ostatnich latach. Wyniki badań przedklinicznych i klinicznych wykazały patologiczne zmiany neurochemiczne, molekularne i morfologiczne w mózgu związane z rozwojem MDD. Głównym czynnikiem wywołującym depresję jest przewlekły stres, który wywołuje w modelach zwierzęcych zmiany komórkowe podobne do obserwowanych u ludzi. Wraz z ustaniem stresu, zmiany te wydają się być odwracalne.

Wykazano, że przewlekły stres indukuje zmiany morfologiczne mikrogleju (pojawianie się „ciemnego mikrogleju”, ang. *dark microglia*) w mózgach pacjentów z MDD, wskazujące na jego aktywację, wzmożoną fagocytozę elementów synaptycznych i uwalnianie czynników prozapalnych. Zmieniając

funkcję mikrogleju genetycznie lub farmakologicznie można obniżyć wrażliwość organizmu na przewlekły stres.

Myszy będą poddane 3-tygodniowej procedurze przewlekłego stresu w klatkach IntelliCage, w których będą przebywały w grupach społecznych, ale będą poddane nieprzyjemnym bodźcom (np. dmuchanie sprężonym powietrzem w nos). Chroniczny stres może wywołać szereg niekorzystnych zmian fizjologicznych, behawioralnych oraz morfologicznych w organizmie myszy, co zostało wcześniej pokazane: zaburzenia depresyjne (Cohen, 2007), zaburzenia behawioralne (Hellwig, 2016; Dowlati, 2010), atrofię neuronów hipokampa i kory przedczołowej (Dumas, 2012) oraz reakcje pro-zapalną mikrogleju (Milior, 2016). Zaburzenia te są odwracalne, a wraz z ustaniem stresu objawy stają się słabsze lub zanikają (Radley, 2005).

Celem tego projektu jest sprawdzenie nowatorskiej hipotezy, że mikroglej jest zaangażowany w dysfunkcje **synaptyczne w odpowiedzi na przewlekły stres przyczyniając się do rozwoju MDD**. Zamierzamy zbadać rolę mikrogleju w remisji choroby oraz wpływ minocykliny (leku hamującego prozapalną aktywację mikrogleju i produkcję cytokin) na objawy depresji, zarówno bezpośrednio, jak i w połączeniu z działaniem leków przeciwdepresyjnych u myszy, a w kolejnym etapie również u ludzi. Nowatorstwo projektu polega na zastosowaniu metody selektywnej izolacji mikrogleju z mózgów myszy *GFP-M::Cx3cr1-CreER::Rosa26-flox-tdTom*, mające mikroglej wyznakowany fluorescencyjnie i analizie transkryptomicznej wykorzystującej sekwencjonowanie RNA.

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

Gatunek/Szczep:

Mysz GFP-M::Cx3cr1-CreER::Rosa26-flox-tdTom w tle genetycznym C57Bl/6: 560 osobników

Mysz C57Bl/6, 280 osobników

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

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: PUBMED; Google Scholar, ScienceDirect.

Wykorzystano słowa kluczowe: chronic stress, depression, microglia, forced swim test, enriched environment, fluoxetine, minocycline.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, można stwierdzić, że:

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

**A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że przewlekły stres prowadzi do rozwoju objawów depresyjnych u myszy, typu anhedonia i bezradność, a podawanie fluoksytyny oraz przebywanie we wzbogaconym środowisku redukuje objawy chorobowe.**

**B. Brak jest danych dotyczących wpływu mikrogleju na kontrolę funkcji synaptycznych w odpowiedzi na przewlekły stres i podatność na depresję oraz na obniżanie poziomu tych odpowiedzi przez podawanie minocykliny.**

**Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:**

**A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w zakresie ustalenia wpływu mikrogleju na utrzymanie homeostazy układu nerwowego.**

**B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy w dalszych badaniach nad kluczowymi czynnikami regulującymi aktywację mikrogleju, co może pozwolić na zidentyfikowanie nowych celi terapeutycznych.**

Zachowując wprowadzoną w 1959 roku, przez W. Russela i R. Burcha zasadę 3R uzasadniamy podjęte we wniosku wybory dotyczące tematyki, modelu, procedur:

#### **ZASTĄPIENIE**

Ze względu na cel badawczy dotyczący modelu choroby depresyjnej u ludzi, konieczność obserwowania złożonych zjawisk poznawczych nie można zastąpić proponowanego modelu mysiego zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego, ani też metodami in vitro (hodowle tkankowe, komórkowe).

#### **OGRANICZENIE**

Spełniając “zasadę ograniczenia” zredukowana do koniecznego minimum została liczba zwierząt planowanych do wykorzystania w eksperymencie. Wielkość grupy pozwoli na wiarygodną analizę statystyczną i weryfikację postawionego problemu badawczego.

#### **UDOSKONALENIE**

Nadrzędnym celem jest ograniczenie cierpienia i stresu zwierząt, związanego z przeprowadzanymi procedurami. Czynniki, które mogą być dla zwierząt źródłem dyskomfortu, to stresory stosowane podczas 3-tygodniowego przewlekłego stresu. Udoskonaleniem w tej materii będzie stosowanie procedury w klatkach IntelliCage, w których myszy będą trzymane w grupach społecznych, bez dodatkowo stresora, jakim jest kontakt z eksperymentatorem.

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

---

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

X NIE