

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Wpływ długotrwałego działania kortykosteronu na transkryptom mózgu myszy laboratoryjnej”

2. Czas trwania projektu 01.08.2018 - 15.05.2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) kortykosteron, transkryptom, mózg, myszy

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) 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.

Uwalnianie hormonów glikokortykoidowych takich jak kortykosteron i kortyzol jest jednym z trzech podstawowych mechanizmów reakcji organizmu na stres. Rodzaj uwalnianego hormonu (kortykosteron /kortyzol) zależy od gatunku zwierzęcia jednak obydwa hormony mają ten sam mechanizm działania polegający na aktywacji receptorów glikokortykoidowych. Ogólnym celem projektu jest zrozumienie procesów zachodzących w mózgu pod wpływem długotrwałego działania kortykosteronu u myszy przy uwzględnieniu cyklicznych zmian w jego poziomie zależnych od okresów snu i czuwania oraz zrozumienie zależności pomiędzy trybem życia a reakcją organizmu na glikokortykoidy. Celem szczegółowym jest zbadanie zmian transkryptomicznych w hipokampie oraz powiązanie ich z różnymi procesami fizjologicznymi. Walidacja anatomiczna prowadzona na skrawkach mózgowych pozwoli dodatkowo sprawdzić lokalizację komórkową ekspresji wybranych genów oraz rozszerzyć uzyskane wyniki na inne obszary mózgu. W pierwszym eksperymencie zbadamy zmiany transkryptomiczne w czasie snu po dwunastogodzinnym okresie podwyższonego poziomu kortykosteronu porównywalnym z całodziennym stresem. W drugim eksperymencie zbadamy wpływ chronicznego zwiększenia poziomu kortykosteronu z uwzględnieniem cykli dobowych. W trzecim eksperymencie zbadamy zależność

między reakcją na kortykosteron a trybem życia rozumianym, jako uprawianie aktywności fizycznej przy pomocy kół biegowych. Podwyższony poziom hormonu stresu zostanie wywołany poprzez podanie kortykosteronu w wodzie przeznaczonej do picia. Stan zwierząt będzie monitorowany w trakcie trwania eksperymentu za pomocą pomiaru spożycia pokarmu oraz masy ciała. Inne wskaźniki reakcji organizmu na hormony stresu będą określone na podstawie pomiaru masy nadnerczy, grasicy i śledziona po uśmierceniu zwierząt. Zmiany w ekspresji genów w hipokampie zostaną zbadane za pomocą mikromacierzy. Zaplanowane badania pozwolą na lepsze zrozumienie reakcji organizmu na stres.

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

263 – mysz domowa

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

### Ograniczenie

Liczba zwierząt została ograniczona do minimum niezbędnego do osiągnięcia celu na podstawie odpowiednich testów statystycznych zgodnie z zaleceniami dotyczącymi badań behawioralnych i neurobiologicznych (<http://www.sample-size.net/correlation-sample-size/> ; Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research, Appendix A, <http://www.nap.edu/catalog/10732.html>), planowania badań pilotażowych (Sorzano i wsp. Sample Size for Pilot Studies and Precision Driven Experiments. 2018 [arxiv.org/abs/1707.00222v2](https://arxiv.org/abs/1707.00222v2); <http://i2pc.es/coss/Programs/SampleSizeCalculator/index.html>) oraz planowania badań transkryptomycznych (Jorstad i wsp. Understanding sample size: what determines the required number of microarrays for an experiment? Trends Plant Sci. 2007 Feb;12(2):46-50 / Peng i wsp. Statistical implications of pooling RNA samples for microarray experiments. BMC Bioinformatics. 2003 Jun 24;4:26). Zastosowanie analiz transkryptomycznych umożliwia analizę ekspresji genów na poziomie całego genomu, co oznacza, że w ramach pojedynczego projektu uzyskujemy maksymalną ilość danych jaka może zostać zebrana.

### Zastąpienie

Wybrano gatunek o możliwie najniższym poziomie rozwoju w porównaniu z innymi ssakami wykorzystywanymi w badaniach laboratoryjnych. Zaplanowany gatunek zapewnia jednocześnie porównywalność z mechanizmami występującymi u ludzi ze względu na przynależność do tej samej grupy systematycznej (ssaki) i wynikające z tego podobieństwo biologiczne.

### Doskonalenie

Zastosowana metoda podawania kortykosteronu w wodzie pitnej umożliwia nieinwazyjne podawanie

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

hormonu bez potrzeby stosowania wielokrotnych iniekcji lub chirurgicznej implantacji peletek. Zwiększa to wiarygodność badań przy jednoczesnej rezygnacji z stresujących procedur. Zaplanowane analizy transkryptomiczne będą przeprowadzone na pojedynczych próbkach a nie na próbkach łączonych co było powszechną praktyką w przeszłości zarówno w Polsce jak i za granicą ze względu na bardzo wysokie koszty analiz transkryptomicznych. Analiza transkryptomiczna pojedynczych próbek znacznie zwiększa moc statystyczną w czasie analizy danych transkryptomicznych oraz redukuje wpływ wyników odstających (Peng i wsp. Statistical implications of pooling RNA samples for microarray experiments. BMC Bioinformatics. 2003 Jun 24;4:26). Oznacza to większą wiarygodność wyników oraz mniej fałszywie negatywnych i fałszywie pozytywnych wyników. Dobrostan będzie zapewniony przez wzbogacenie środowiska za pomocą tekturowych tubek umieszczonych w klatkach raz w tygodniu oraz za pomocą fragmentów papierowych ręczników (około 12 x 12 cm), które myszy wykorzystują do budowy gniazda.

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazie danych PUBMED

Wykorzystałem słowa kluczowe:

glucocortykoids/corticosteron/brain/microarray/transcriptom

Wyniki szczegółowej analizy dostępnych danych transkryptomicznych w mózgu po podaniu kortykosteronu zostały opublikowane w pracy: Juszczak GR, Stankiewicz AM. Glucocorticoids, genes and brain function. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2018 Mar 2;82:136-168. Praca ta podsumowuje obecny stan wiedzy dotyczący głównie zmian następujących po około 3 godzinach od podania kortykosteronu jak i wskazuje na luki dotyczące zmian występujących po długotrwałym i chronicznym podawaniu kortykosteronu. Na szczególną uwagę zasługuje problem naturalnych cykli snu i czuwania, który nie był uwzględniony we wcześniejszych badaniach wpływu hormonu stresu na transkryptom mózgu.

#### 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.