

Cel: Ogólnym celem projektu jest zrozumienie procesów zachodzących w mózgu pod wpływem długotrwałego działania kortykosteronu oraz zrozumienie zależności pomiędzy trybem życia a reakcją organizmu na ten hormon. Celem szczegółowym projektu jest zbadanie zmian transkryptyomicznych w hipokampie oraz powiązanie ich z różnymi procesami fizjologicznymi w zależności od czasu działania podwyższonego poziomu kortykosteronu przy uwzględnieniu cyklicznych zmian zależnych od okresów snu i czuwania. Walidacja anatomiczna prowadzona na skrawkach mózgowych pozwoli dodatkowo sprawdzić lokalizację komórkową (astrocyty, neurony) ekspresji wybranych genów oraz rozszerzyć uzyskane wyniki na inne obszary mózgu. Po pierwsze, chcemy zbadać zmiany transkryptyomiczne w czasie snu po dwunastogodzinnym okresie podwyższonego poziomu kortykosteronu porównywalnym z całodziennym stresem. Po drugie, chcemy zbadać wpływ chronicznego zwiększenia poziomu kortykosteronu z uwzględnieniem cykli dobowych. Po trzecie, chcemy zbadać zależność pomiędzy reakcją na badanych hormon stresu a trybem życia rozumianym, jako uprawianie aktywności fizycznej. Zakładamy, że zmiany w ekspresji genów będą zależały od długości trwania podwyższonego poziomu kortykosteronu, ponieważ hormon ten aktywuje ujemne sprzężenie zwrotne hamujące wpływ receptora glikokortykoidowego na transkrypcję genów przy jednoczesnej zmianie ekspresji szeregu innych czynników transkrypcyjnych. Dlatego należy się spodziewać, że w czasie trwania podwyższonego poziomu kortykosteronu będzie następowało zmniejszenie bezpośredniego wpływu tego hormonu na transkrypcję przy jednoczesnym wystąpieniu wtórnych efektów wywołanych przez zmiany w ekspresji innych czynników transkrypcyjnych. Przewidzenie kierunku zmian jest jednak trudne ze względu na cykliczne okresy snu oraz dodatkowe zmiany epigenetyczne wywoływane przez kortykosteron.

Metodyka: Eksperymenty zostaną przeprowadzone na myszach Swiss Webster. Zmiany w ekspresji genów w hipokampie myszy z podwyższonym poziomem kortykosteronu zostaną zbadane za pomocą mikromacierzy. Podwyższony poziom hormonu stresu zostanie wywołany poprzez podanie kortykosteronu w wodzie przeznaczony do picia a mózgi do analiz zostaną pobrane po różnym czasie od podawania kortykosteronu. Stan zwierząt będzie monitorowany w trakcie trwania eksperymentu za pomocą pomiaru spożycia pokarmu oraz masy ciała. Pomiaru te są czuymi wskaźnikami stanu zwierząt a jednocześnie nie są stanowią dodatkowego stresu, co jest ważne szczególnie dla grupy kontrolnej. Inne wskaźniki reakcji organizmu na stres / hormony stresu będą określane na podstawie pomiaru kortykosteronu oraz na podstawie pomiaru masy nadnerczy, grasicy i śledziony po uśmierceniu zwierząt. Wyniki analiz transkryptyomicznych będą walidowane za pomocą metody PCR dla wybranych genów. W celu określenia precyzyjnej lokalizacji anatomicznej i komórkowej (neurony / astrocyty) ekspresji wybranych genów zostaną wykonane oznaczenia na skrawkach przy pomocy przeciwciał znakowanych fluorescencyjnie. Analizy wykonane na skrawkach mózgowych pozwolą na zaobserwowanie zmian w ekspresji (na poziomie białek) w całym mózgu a nie tylko w hipokampie. Dodatkowo, badania będą prowadzone na zwierzętach mających do dyspozycji kołowrotki umożliwiające bieganie.

Znaczenie badań: Uwalnianie kortykosteronu jest podstawowym mechanizmem reakcji organizmu na stres, który może przyczyniać się do rozwoju różnych chorób takich jak depresja, zaburzenia lękowe i zespół stresu pourazowego. Badania nad zmianami transkryptyomicznymi wywołanymi przez glikokortykoidy mają fundamentalne znaczenie dla zrozumienia mechanizmów wpływu stresu na zdrowie ludzi i zwierząt oraz stanowią podstawę do opracowania w przyszłości nowych metod leczenia i zapobiegania chorobom wywołwanym przez stres.