

Odczucia takie jak strach czy awersja należą do podstawowych mechanizmów leżących u podstaw uczenia się zwierząt, a wszelkie zakłócenia w regulacji tych procesów mogą przyczyniać się do rozwoju zaburzeń poznawczych lub psychologicznych, takich jak fobie czy zaburzenia lękowe. Dodatkowo, są to ważne mechanizmy adaptacyjne, a ze względu na ich wysoce złożony charakter, w przetwarzanie informacji awersyjnych zaangażowane są liczne struktury mózgowe. Jedną z kluczowych w tym kontekście grup neuronalnych jest jądro boczne uzdeczki (ang. *lateral habenula*, LHb), stanowiące swego rodzaju centrum przetwarzania awersji. Ta struktura jest silnie połączona z wieloma ośrodkami w mózgu, odpowiedzialnymi m.in. za przetwarzanie reakcji stresowej organizmu, oraz pełni funkcję integracji bodźców sensorycznych ze stanami wewnętrznymi, co umożliwia tzw. elastyczność behawioralną. LHb zlokalizowane jest w nadwzgorzu i składa się głównie z neuronów produkujących kwas glutaminowy. Połączenia wychodzące z LHb docierają m.in. do pnia mózgu, gdzie zlokalizowana jest kolejna struktura istotna dla regulacji reakcji stresowej i pamięci lękowej – jądro niepewne (ang. *nucleus incertus*, NI). Oba ośrodki są zatem zaangażowane w podobne procesy neuronalne, dlatego stawiamy hipotezę, że wzajemne połączenie LHb-NI jest niezwykle ważnym elementem obwodu neuronalnego kontrolującego przetwarzanie awersji i bodźców stresogennych. Chociaż istnienie szlaku neuronalnego LHb-NI zostało potwierdzone eksperymentalnie, badania nie poruszają tego tematu głębiej. W związku z powyższym, głównym celem niniejszego projektu jest zbadanie wzajemnego połączenia pomiędzy LHb i NI pod kątem anatomicznym oraz funkcjonalnym. Aby wypełnić luki w wiedzy, poszczególne zadania zaplanowane w projekcie zostaną wykonane przy użyciu nowatorskich technik badawczych.

Wpływ pobudzenia LHb na aktywność elektryczną neuronów NI u szczurów w stanie głębokiej anestezji zbadany zostanie przy użyciu stymulacji optogenetycznej z jednoczesną rejestracją aktywności neuronalnej przy pomocy macierzy wieloelektrodowych. Analogiczne rejestracje zostaną przeprowadzone w celu zbadania efektu stymulacji NI na aktywność LHb. Następnie, technika znakowania dróg neuronalnych zostanie wykorzystana do zbadania anatomii i lateralizacji wzajemnego połączenia LHb-NI. Najbardziej rozbudowany etap projektu ma na celu scharakteryzowanie aktywności neuronów NI i LHb, zaangażowanych we wzajemne połączenie obu struktur, w odpowiedzi na kontekst skojarzony z bodźcem awersyjnym. W tym celu połączenie NI-LHb lub LHb-NI zostanie uwidocznione przez podanie wektorów wirusowych, niosących geny dla białek fluorescencyjnych. Zwierzęta zostaną poddane klasycznej procedurze warunkowania strachu, a w ostatni dzień testu odpowiednie grupy zostaną poddane ekspozycji na bodziec awersyjny lub wyłącznie na skojarzony z nim kontekst. Taka konfiguracja pozwoli na oddzielne zbadanie reakcji na awersyjny kontekst i awersyjny bodziec sam w sobie. Aktywność poszczególnych struktur będzie zbadana przy pomocy barwienia immunohistochemicznego, pozwalającego zwizualizować białko c-Fos będące markerem podwyższonej aktywności neuronalnej. Dodatkowo zbadana zostanie kolokalizacja białka c-Fos ze sztucznie wprowadzonym białkiem fluorescencyjnym, co umożliwi określenie udziału neuronów tworzących badane połączenie w reakcji na awersyjny kontekst.

Podsumowując, obwód neuronalny LHb-NI wydaje się być kluczowy w generowaniu skoordynowanych reakcji na bodźce awersyjne i stresogenne. Uzyskane rezultaty przyczynią się do głębszego zrozumienia jednego z kluczowych mechanizmów leżących u podstaw funkcji kluczowej dla przetrwania zwierząt. Dzięki użyciu zaawansowanych technik eksperymentalnych, uzyskane wyniki będą wysoce wiarygodne i zapewnią solidną podstawę dla przyszłych planów badawczych. Będzie to także podstawa do poszukiwania nowych i doskonalenia istniejących już metod leczenia zaburzeń związanych z przetwarzaniem awersji i lękiem.