

Kærlighedshormonet Oxytocin nedsætter Aldringsklokken Telomere

SUND



Mads Eg Andersen

GRINDSTED GYMNASIUM & HF | FORSKERSPIRER 2014

Indholdsfortegnelse

Indledning.....	2
Problemformulering og formål.....	2
Baggrund	3
Telomeren defineret som aldringsklokke.....	3
Psykosociale effekter af OT	3
Paralleller imellem OT og telomeren	3
Metodisk tilgang	4
Laboratorie Stress Test	4
Intranasal Administration af OT	4
Telomere analyse	5
Projektets udførelse	5
Human Cellekultur.....	5
Laboratorie Stress Test.....	6
Tidsplan	8
Budget	8
Konklusion	8
Kontakter	9
Referencer	9
Bilag	12
Bilag 1	12
Bilag 2:	13
Bilag 3:	14
Bilag 4:	15

Indledning

Fænomenet om vækst, nedbrydning og død – aldring – har været kilden til længerevarende spekulationer gennem tiden. Aldring er på mange måder et diffust begreb, som den almene befolkning ikke har yderligere kendskab til, men som blot er en accepteret størrelse. For de små er aldring spændende; det fører til senere sovnetider og udgangsforbud, og mere frihed. For den middel aldrende ses det blot som endnu et lys på fødselsdagskagen. Det er svært ikke at bemærke de harmløse kosmetiske ændringer, så som gråt hår og rynker. Denne gruppe befinder sig ligeledes i den tid, hvor folk begynder at bemærke en reel nedgang i den fysiske tilstand.

Gennem længerevarende forskning, har det vist sig, at der på enderne af vores kromosomer, sidder en lang sekvens af repeteret DNA, kendt som telomeren. Telomerene spiller en central rolle i cellernes normale udvikling og aldring – ved at justere cellernes respons på stress og vækststimulering på grundlag af tidligere celledelinger og DNA-skade.

Videnskabelig forskning foretaget af den Nobelpris-vindende Elizabeth Blackburn, har vist, at intensiv meditation har en fordelagtig effekt på telomerase aktiviteten og derved telomerens længde (Blackburn et al., 2010). Derfor kan der drages paralleller mellem meditation og kærlighedshormonet oxytocins psykosociale effekter (Lee et al., 2009). På baggrund af oxytocins specielle betingelser, her i blandt, at det er relateret til den psykosociale tilstand, kan oxytocin (OT) muligvis også ligge til grund for de fordele, der tilskrives behandlingsformer såsom hypnose og meditation.

Ideen med OT udsprang af kliché-historien, omkring det ældre ægtepar, hvor den ene dør kort tid efter den anden, efter et længerevarende ægteskab (se bilag 1).

Problemformulering og formål

Dette studie har til formål at undersøge, hvorledes OT kan decelerere telomerens gradvise forkortelse. Studiet bygger bl.a. på tidligere forskning vedrørende meditations påvirkning på telomerase-aktiviteten, samt hvilke psykosociale effekter, der tilskrives OT.

Hovedhypotesen er, at der kan findes kausal sammenhæng mellem koncentrationen af OT og telomerens længde (TL), ved eksponering af OT. Der drages derved brug af den hypotetisk-deduktive metode.

Det vil derfor være favorabelt, at observere en længere TL ved eksponering af OT.

Baggrund

Telomeren defineret som aldringsklokke

De eukaryote kromosomer er lineære, og i enderne optræder en særlig struktur kaldet telomeren. Telomere består af repeterede DNA-sekvenser, i mennesket af 500-5.000 gentagelser af sekvensen 5'TTAGGG3'. Den telomeriske region folder til en loop-struktur, som genkendes og bindes af specifikke proteiner. Telomerstrukturen er nødvendig for bevarelse af kromosomets integritet, bl.a. fordi, at der for hver replikation af kromosomet, sker en gradvis forkortelse af kromosomerne. Da de mange repeterede basesekvenser i telomere ikke indeholder gener, fungerer de telomeriske DNA-sekvenser som en buffer mod tab af vigtige kodede sekvenser. Længden af telomeret har derfor betydning for det antal af replikationer og derved det antal delinger, en celle kan gennemløbe (Blackburn, 1991).

Når telomersekvensen bliver for kort, vil cellen gå ind i en aldringsfase, hvor den stopper med at dele sig. Den gradvise telomerforkortelse menes at spille en rolle i individets aldringsprocesser (Aubert et al., 2008).

Psykosociale effekter af OT

Studier viser, at OT stimulerer den seksuelle opførsel i rotter og udløses som respons af seksuel interaktion i både rotter og mennesker. Det er derfor muligt, at OT er involveret i nogle af de psykologiske og adfærdsmæssige tilpasninger, som fremgår under seksuel adfærd (Carter et al., 1992). OT menes at være involveret i mindre specifikke typer af social interaktion og er blevet demonstreret til at øge den sociale kontakt i rotter (Witt et al., 1992).

Det er blevet bevist, at eksponering af OT øger den sociale kontakt i forskellige dyrearter (Carter et al., 1995 og Witt et al., 1992). Desuden er OT essentiel i selektiv social adfærd og dannelsen af pardannelse i monogame markmus (Williams et al. 1994).

Et godt ægteskab og adgang til et støttende socialt netværk reducerer risikoen for nogle sygdomme, især disse, som er relaterede til hjerte-kar funktion og blodtryk. Beviset for, at kronisk OT er i stand til at producere langtidsvarende reduktioner i blodtryk og hjerterefrekvens (Petersson et al., 1996), giver en mekanisme baggrund for, at social support kan direkte gavne helbredet (Uvnäs-Moberg, 1997a,b).

Massage udløser også OT i både mennesker og dyr (Ågren et al., 1995). Sådanne terapier kan muligvis bruges som erstatning, til de fordelagtige effekter af sociale forhold.

Paralleller imellem OT og telomeren

Et studium viser, at telomerase aktiviteten var betydeligt forøget, efter et 3-måneders intensiv meditations forløb (Blackburn et al. 2010). Som tidligere nævnt, kan OT muligvis også ligge til grund for de fordele, der tilskrives behandlingsformer såsom hypnose og meditation. Det er derfor uforklarligt, hvorfor den direkte effekt af OT ikke er sat i scene med telomere. Et aspekt som dette forskningsprojekt vil tage i betragtning og som muligvis vil føre til yderligere spekulationer.

Metodisk tilgang

Laboratorie Stress Test

Det er ikke muligt, at genskabe den type stress, der forekommer under de menneskelige betingelser i en dyremodel. Dog findes der testsituationer, der kan kombinere fysiske og emotionelle udfordringer. Derfor benyttes en metode kaldet; shaker stress¹ (Hashiguchi et al., 1997 og Hirasawa et al., 1990 og Morris, et al., 1995 og Nakata et al., 1993).

Rotterne udsættes for shaker stress i et bestemt tidsrum, som bør vise en drastisk forkortelse af telomerene (Blackburn et al., 2004). Dette matches med rotter som eksponeres OT (pre-spray og post-spray²), hvor der vil blive analyseret på, hvorvidt OT har en beskyttende effekt på telomerens gradvise forkortelse. Derudover testes placeboeffekt, med en fysiologisk saltvandsopløsning (Saline), som ligeledes eksponeres med Intranasal Administration.

Under eksperiment-sessionen udtages løbende blodprøver, som bruges til efterfølgende analyse.

Intranasal Administration af OT

Tilsvarende til forsøg på mennesker, administreres OT til rotterne ved hjælp af intranasal overlevering. Der benyttes 40 IU af OT eller Saline i en 100 µL opløsning³, som bliver næse-administreret til rotterne ved hjælp af en hånd-kompressions-spraydåse.

Tidligere studier har med fordel benyttet sig af denne metode, både for mennesker og dyr. Det er blandt andet blevet bevist at OT forstærker hjernens belønningssystems responser i mænd, når de ser ansigtet af deres kvindelige partner, efter intranasal overlevering af OT (Scheele et al., 2013).

Da studiet er rettet imod mennesker, vil der blive foretaget human cellekultur. Denne cellekultur, vil blive startet op før Laboratorie Stress Testen, da det tager længere tid.

Human cellekultur – hud fibroblaster

Der foretages human cellekultur parallelt med stress testene på rotter. Her bruges en normal diploid fibroblast cellelinje, udvundet af hud fra øjenlåget på en 65 årig mand⁴.

Formålet med dette er, at underbygge stress testene fra rotte eksperimentet, med et mere humant eksperiment.

Cellekultur kan overordnet inddeles i 2 grupper:

- Primær kultur er den første gruppe. Her har cellerne formeret sig under de rette betingelser, hvormed de har indtaget al den tilgængelige næring i substratet. I denne gruppe skal cellerne

¹ Rotterne udsættes i en kortvarig periode for uventede bevægelsesmønstre.

² Der foretages Intranasal administration af OT

³ Der administreres med relativt høj dosis af OT, for at sikre en absorption

⁴ Da den gennemsnitlige koncentration af OT er lavest hos mænd (Pettersson, M. et al. 1999 og Yamaguchi, K. 1979), vil det være ideelt at foretage cellekultur ud fra mandelige hud fibroblaster.

subkultureres (se bilag 2⁵), ved at overføre dem til en ny beholder, med frisk dyrkningsmedium som giver cellerne mere plads til videre formering.

- Cellelinje er den gruppe som indtræder efter den første subkultur, den primære kultur bliver kaldet en cellelinje. Cellelinjen, der er afledt af den primære kultur, har en begrænset levetid, hvilket resulterer i, at som de dør hen. Dette medfører, at kun de celler med den højeste dyrkningsevne overlever (dominans).

Hud fibroblasterne dyrkes som monolag på et kunstigt substrat tilført serum⁶, da dette skaber forhold for cellerne, der er tæt på dem, der findes i organismen. Dette substrat er det vigtigste i celle miljøet, da det forsyner cellerne med de nødvendige næringsstoffer, vækstfaktorer og hormoner for cellevækst, ligeledes kan der reguleres i pH og det osmotiske tryk i kulturen (Rattan et al., 2014).

Kulturene dyrkes i dyrkningskamre, som placeres i et varmeskab, med forhold svarende til den temperatur og luftsammensætning der findes i legemets væv (Celledyrkning, DSD).

Telomere analyse

Da analyse af TL kræver en meget bekostelig metode, udføres denne analyse af den belgiske virksomhed; StratiCELL[®]. Dette vil blive mindre bekosteligt, med en pris på ca. 500 DKK pr. prøve.

Da større internationale virksomheder ikke deler deres analytiske metoder offentligt, kender man ikke den specifikke metode, hvormed TL bestemmes. Disse målinger kan eksempelvis udføres med bl.a. QIAcube workstation med QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen). Efterfølgende vil TL måles ved hjælp af en multikrom multikompleks kvantitativ Real-Time PCR analyse med et såkaldt Bio-Rad CFX96 Real-Time PCR detektionssystem (Blackburn et al. 2011).

Projektets udførelse

Forinden studiets udførelse er det nødvendigt, at foretage en ansøgning til den nationale videnskabetiske komité. Dette kræves, da sundhedsvidenskabelige forskningsprojekter ikke må udføres i praksis, uden etisk godkendelse.⁷

Human Cellekultur

I samarbejde med Laboratoriet for Cellulær Aldring, Institut for Molekylærbiologi og Genetik på Aarhus Universitet, kan den humane cellekultur udføres i praksis. Dette vil foregå med undertegnede (projektlederen) og Dr. Suresh Rattan, Ph.D.; Dr.scient.

Prøven fra den 65 årige mand indsamles, hvorefter cellerne dyrkes som monolag i en plastik vævskulturflaske. Denne vævskulturflaske inkuberes under normale kulturbetingelser ved 37°C, 95% relativ luftfugtighed og 5% CO₂.

⁵ Illustrerer det forventede vækstmønster for subkulturen

⁶ Serum kan være en ulempe, da det inkluderer høj pris, problemer med justering, specificitet etc.

⁷ Ansøgning til en regional komité – www.cvk.sum.dk

- Der benyttes Reduced-Serum Media⁸ til dyrkning af hudcellerne.

Fremgangsmåde:

1. Oprensning af hud fibroblaster
2. Dyrkning som monolag i en plastik vævskulturflaske (herefter inkuberes flaskerne)
3. Prøve til videre analyse af TL
4. Subkulturering når cellerne er næsten sammenflydende (90-95%)
5. Cellerne vaskes med PBS
6. Celler fjernes ved hjælp af en 0,25% trypsin/EDTA opløsning i 5 min
7. Kulturen opdeles til 3 nye flasker⁹
8. Bestemmelse af celleantal med Countess automatiske celletæller

Flaske 1:

OT tilsættes cellekultur substratet (0,25 IU)

Flaske 2:

OT tilsættes cellekultur substratet (0,10 IU)

Flaske 3 (kontrol):

Dyrkes som tidligere, blot uden OT

Cellerne dyrkes og der udtages én prøve til TL analyse fra hver af de 3 flasker.¹⁰ Der vil ydermere bliver målt på cellernes vækst, overlevelse, væksthastighed og levetid.

Laboratorie Stress Test

I samarbejde med Center for Psykiatrisk Forskning på Aarhus Universitetshospital, er der givet accept af Dr. Ove Wiborg, Cand. Et lic.scient., til udførelse af eksperimenterne i dyremodeller.

Forinden stress testen kan udføres, skal de 7 rotter anskaffes¹¹. Dette vil ske i samarbejde med Dr. Ove Wiborg, der ligeledes vil udføre stress testen sammen med undertegnede.

- 7 han rotter (360 g-400 g, med en alder på 1,5-2 år)¹²

Rotterne opbevares individuelle ved 22°C i en kontrolleret 12 timers dag-nat cyklus, med fri adgang til vand og mad. I mellemtiden anskaffes den ønskede mængde OT.

⁸ Dette reducerer mængden af serum (FBC), hvilket sænker udgifterne

⁹ Hud fibroblaster foretrækker et svagt basisk miljø; pH 7.4-7.7

¹⁰ Her ønskes en relativ kortere TL for flaske 3, i forhold til flaske 1 og 2

¹¹ Et ideelt eksperiment vil kræve mindst 3 rotter for hver forsøgstilstand, samt mindst 3 blodprøver. Da dette vil forøge udgifterne yderligere er antallet minimeret

¹² Gennem hele studiet benyttes hankønsvæsener

Fremgangsmåde; rotte 1 (se bilag 3):

- Rotten placeres i en cylinderformet plastik-kasse
- 1 times ligevægtsperiode

- Blodprøve (1 mL), 15 min inden stress (basal)
- Shaker Stress (110 perioder/min i 10 min)
- Blodprøve (1 mL), umiddelbart efter Shaker Stress (restitution)

- Blodet erstattes med en tilsvarende volumen af isotonisk saline og opbevares ved -20°C

Fremgangsmåde; rotte 2 og 4 (se bilag 3):

- Rotten placeres i en cylinderformet plastik-kasse
- 1 times ligevægtsperiode

- Der udtages basal blodprøve (3 min før intranasal overlevering)
- Prespray OT (rotte 2)/prespray Saline (rotte 4)
- Shaker Stress (110 perioder/min i 10 min)
- Der udtages restitutionsblodprøve

- Blodet erstattes med en tilsvarende volumen af isotonisk saline og opbevares ved -20°C

Fremgangsmåde; rotte 3 og 5 (se bilag 3):

- Rotten placeres i en cylinderformet plastik-kasse
- 1 times ligevægtsperiode

- Der udtages basal blodprøve
- Shaker Stress (110 perioder/min i 10 min)
- Postspray OT (rotte 3)/postspray Saline (rotte 5)
- Der udtages restitutionsblodprøve 15 min efter intranasal overlevering¹³

- Blodet erstattes med en tilsvarende volumen af isotonisk saline og opbevares ved -20°C

Fremgangsmåde; rotte 6 og 7 (se bilag 3):

- Rotten placeres i en cylinderformet plastik-kasse
- 1 times ligevægtsperiode

- Der udtages en blodprøve (for rotte 6; 3 min før intranasal overlevering)
- Rotte 6 eksponeres OT

¹³ En ideel eksperimental udførelse, ville kræve omkring 6 blodprøver taget hvert 15 min efter intranasal overlevering, over et tidsrum på 90 min

- Rotte 6 får taget restitutionsblodprøve 10 min efter intranasal overlevering
- Blodet erstattes med en tilsvarende volumen af isotonisk saline og opbevares ved -20°C

Tidsplan

Studiet opdeles i tre faser, med en samlet tidsvurdering på 4 måneder og 1 uge (se bilag 4). Denne tidsvurdering er forudsat, at kapital haves.

Budget

Emne	Pris [DKK]
Human cellekultur	15.000
Rotter (7 stk.)	9.000
Telomere analyse	9.000
Oxytocin	2.000
Lokal transport, fragt + uforudsete udgifter	5.000
Samlede udgifter	40.000

*Budgettet er et overslag, da de eksakte priser ikke kendes på nuværende tidspunkt.

Da projektets budget overstiger de 20.000 DKK som præmieres vinderen, vil det vil forinden studiet være nødvendigt at anskaffe omkring 20.000 DKK yderligere for at kunne realisere projektet. Det vil være muligt at indgå en samarbejdsaftale med en større virksomhed, som vil være i stand til at finansiere projektet, eller søge om sponsorat. Ydermere er der visse lovkrav om videnskabsetisk behandling af sundhedsvidenskabelige forskningsprojekter, som skal overholdes.¹⁴

Konklusion

Dette forskningsprojekt kan gå hen og blive det første bevis for, at OT har flere effekter end hidtil anset. OT bør ifølge dette studie være relateret til telomerens gradvise forkortelse. Det forventes, at en intranasal overlevering af OT har indflydelse på den gradvise forkortelse af telomeren, hvilket undersøges gennem en dyremodel og en human cellekultur. Hvis disse eksperimenter stemmer overens med hypotesen, vil der være belæg for en effekt i mennesket. Dette kan føre til yderligere forskning på området, som vil kunne vise, hvilken sammenhæng, der kan findes i menneskekroppen.

OT er kun ét af syv neurologiske systemer, som menes at have forbindelse til kærlighed (Boer et al. 2012), og som muligvis også vil kunne relateres til dette projekt. Som tidligere nævnt, må OT udløse en række langtidsvarende effekter ved at fremprovokere en sekundær mekanisme. Derfor fokuserer dette forskningsprojekt udelukkende på OT.

¹⁴ Se kapitel 2 i; Lov om videnskabsetisk behandling af sundhedsvidenskabelige forskningsprojekter – www.retsinformation.dk

Det kunne tænkes, at yderligere forskning vil tage fat på nogle af de andre neurologiske systemer, som muligvis kan sættes i kontrast til effekten af OT.

Kontakter

En særlig tak til min forskerkontakt; Dr. Suresh Rattan for al hans tid, i tide og utide.

Suresh I.S. Rattan

Editor-in-Chief, Biogerontology
Institut for Molekylærbiologi og Genetik
Aarhus Universitet

Derudover skal der også lyde en tak til nedenstående personer:

Ove Wiborg

Cand. Et lic.scient.
Institut for Klinisk Medicin – Translational Neuropsychiatry Unit
Aarhus Universitet

Peter Aasted Paulsen

Ph.d.-studerende
Institut for Molekylærbiologi og Genetik – Strukturel Biologi
Aarhus Universitet

Referencer

Videnskabelige artikler:

- Argiolas, A. and Gessa, G. L. (1991). Central function of oxytocin. *Neuroscience and Biobehavior* 15, 217-231
- Aubert, G., Lansdorp, P. M. (2008): Telomeres and Aging. Vol. 88 no. 2, 557-579 DOI: 10.1152/physrev.00026.2007
- Blackburn, E. H. (1991): Structure and function of telomeres. *Nature*; Apr 18, 1991; 350, 6319; Platinum Periodicals pg. 569
- Blackburn, E. H., Elep, E. S., Lin, J., Dhabhar, F. S., Adler, N. E., Morrow, J. D., Cawthon, R. M. (2004): Accelerated telomere shortening in response to life stress.
- Blackburn, E. H., Jacobs, T. L., Epel, E. S., Lin, J., Wolkowitz, O. M., Bridwell, D. A., Zanesco, A. P., Aichele, S. R., Sahdra, B. K., MacLean, K. A., King, B. G., Shaver, P. R., Rosenberg, E. L., Ferrer, E., Wallace, B. A., Saron, C. D. Intensive meditation training, immune cell telomerase activity, and psychological mediators. *Psychoneuroendocrinology* (2010), doi:10.1016/j.psyneuen.2010.09.010
- Blackburn, E. H., Steptoe, A., Hamer, M., Butcher, L., Lin, J., Brydon, L., Kivimäki, M., Marmot, M., Erusalimsky, J. D. (2011) Educational attainment but not measures of current socioeconomic circumstances are associated with leukocyte telomere length in healthy older men and women. *Brain Behav Immun* 25(7):1292-1298
- Boer A De, Buel E M Van, Horst G J Ter (2012). Love is more than just a kiss: a neurobiological perspective on love and affection. *Neuroscience* 201: 114 – 124.

- Carter, C. S. (1992). Oxytocin and sexual behavior. *Neuroscience and Biobehavior* 16, 131-144.
- Carter, C. S., DeVries, A. C. and Getz, L. L. (1995) Physiological substrates of mammalian monogamy: The prairie vole model. *Neuroscience and Biobehavior Reviews* 19, 303-314.
- Grundy, E. M., Tomassini, C. (2010): Marital history, health and mortality among older men and women in England and Wales. *BMC Public Health*, 10, p. 554
- Guan, W., Li, X., Jin, D., He, X., Pu, Y., Zhao, Q., Lu, T., Bai, C., Wu, S., Su, X., Ma, Y. (2011): Stem Cell Culture Collection – Promising Strategy for Animal Genetic Resource Preservation. DOI: 10.5772/23973
- Hashiguchi, H., Ye, S.H., Morris, M., Alexander, N. Single and repeated environmental stress: Effect on plasma oxytocin, corticosterone, catecholamines and behavior, *Brain Behavior* 61 (1997) 731-736
- Hirasawa, R., Hashimoto, K., Ota, Z. Role of central angiotensinergic mechanism in shaking stress-induced ACTH and catecholamine secretion, *Brain Res.* 533 1990 1–5
- Kirk H. (1994). Da alderen blev en diagnose. Konstruktionen af kategorien “alderdom” i 1800-tallets lægelitteratur. En medicinsk-historisk analyse.
- Lee Heon-Jin, Macbeth Abbe H., Pagani Jerome, Young W. Scott (2009). Oxytocin: The Great Faciliator of life. *Prog Neurobiol.* 88(2): 127-151.
- Morris, M., Lucion, A.B., Li, P., Callahan, M.F. Central oxytocin mediates stress-induced tachycardia, *J. Neuroendocrinol.* 7 (1995) 455–459
- Nakata, T., Berard, W., Kogosov, E., Alexander, N. Cardiovascular change and hypothalamic norepinephrine release in response to environmental stress, *Am. J. Physiol.* 264 1993 R784–R789
- Petersson, M. Alster, P., Lundeberg, T. and Uvnäs-Moberg, K. (1996a). Oxytocin causes a long-term decrease of blood pressure in female and male rats. *Physiology and Behavior* 60, 1311-1315.
- Petersson M, Lundeberg T, Uvnäs-Moberg K. (1999). Oxytocin enhances the effects of clonidine on blood pressure and locomotor activity in rats. *J Auton Nerv Syst* 1999;78:49-56.
- Petersson, M., Lundeberg, T., Wiberg U., Uvnäs-Moberg, K. (in press a). Oxytocin increases the survival of musculocutaneous flaps. *Naunyn-Schmiedeberg’s Archives in Pharmacology* (Berlin).
- Rattan, S., Jørgensen, P. (2014). Cell culture: Extracellular Matrix Modulates Morphology, Growth, Oxidative Stress Response and Functionality of Human Skin Fibroblasts during Aging *In Vitro*. Vol. 2 – Issue 2 – 1000122
- Scheele, D., Wille, A., Kendrick, K. M., Stoffel-Wagner, B., Becker, B., Güntürkün, O., Maier, W., Hurlmann, R. (2013): Oxytocin enhances brain reward system responses in men viewing the face of their female partner. Vol. 110, no. 50: 20308-20313
- Uvnäs-Moberg, K. (1997a). Physiological and endocrine effects of social contacts with special reference to oxytocin. In: Carter, C. S., Lederhendler, I., Kirkpatrick, B. (Eds.) *The integrative Neurobiology of Affiliation. Annals of the New York Academy of Science* 807, 146-163.
- Uvnäs-Moberg, K. (1997b). Oxytocin linked antistress effects-the relaxation and growth response. *Acta Physiologica Scandinavica* 161, 38-42.
- Uvnäs-Moberg, K. (1998): Oxytocin may mediate the benefits of positive social interaction and emotions. *Psychoneuroendocrinology*, Vol. 23, No. 8, pp. 819-835.
- Williams, J. R., Insel, T. R., Harbaugh, C. R. and Carter, C. S. (1994). Oxytocin centrally administered facilitates formation of a partner preference in female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Journal og Neuroendocrinology* 6, 247-250.
- Witt, D. M., Winslow, J. T. and Insel, T. (1992). Enhanced social interaction in rats following chronic, centrally infused oxytocin. *Pharmacology and Biochemical behavior* 43, 855-861.

- Yamaguchi K, Akaishi T, Negoro H. Effect of estrogen treatment on plasma oxytocin and vasopressin in ovariectomized rats. *Endocrinol Japan* 1979;26:197-205.
- Ågren, G., Lundeberg, T., Uvnäs-Moberg, K. and Sato, A. (1995). The oxytocin antagonist 1-deamino-2-D-Tyr (Oet)-4-Thr-8-Orn oxytocin reverses the increase in the withdrawal response latency to thermal, but not mechanical nociceptive stimuli following oxytocin administration or massage-like stroking in rats. *Neuroscience Letters* 187, 49-52.

Websites:

- Ansøgning til en regional komité -
<http://www.cvk.sum.dk/forskere/hvordansoegerjeg/ansoegningregionalkomite.aspx> (set den 09-10-2014)
- Celledyrkning – Den Store Danske:
http://www.denstoredanske.dk/Krop,_psyke_og_sundhed/Sundhedsvidenskab/Cellebiologi_og_almen_histologi/celledyrkning (set den 08-10-2014)
- Lov om videnskabsetisk behandling af sundhedsvidenskabelige forskningsprojekter:
<https://www.retsinformation.dk/forms/r0710.aspx?id=137674> – (set den 10-10-2014)

Bilag

Bilag 1

Tabel 1: Kilde: Grundy et al. 2010

Det kan konkluderes ud fra tabellen, at civilstanden har en betydningsfuld effekt på en persons helbred og dødelighed. Det viser sig, at ugifte viser dårligere helbred og har derved en større dødelighedsrisiko, end de gifte.

For de fleste voksne, spiller ægteskab en central rolle i deres liv. Ægteskab giver fysisk berøring som at holde i hånd, kramme hinanden, have sex og generelt bare røre ved hinanden. Alle disse faktorer, udløser OT, hvilket må være en mangelvare hos de ugifte. Derfor kan det tænkes, at OT har en betydningsfuld rolle for en persons dødelighedsrisiko.

Dette underbygger teorien om, at en højere mængde frigjort OT, har betydning for en persons dødelighedsrisiko og helbred. Hvilket muligvis kan forårsage, en beskyttende effekt på telomerenes gradvise forkortelse.

Odds-ratios from logistic regression analysis of long-term illness 1991 (ages 60–79).

	Men		Women	
	Model 1	Model 2	Model 1	Model 2
	OR	OR	OR	OR
Age	1.03***	1.03***	1.07***	1.07***
<i>Marital history</i>				
1st marriage – long term (20+ years)	1.00	1.00	1.00	1.00
1st marriage – since 1971	0.77	0.74*	0.85	0.83
Remarried – long term (20+ years)	1.24***	1.26***	1.40***	1.34***
Remarried since 1971, previously widowed	0.91	0.93	1.05	1.00
Remarried since 1971, previously divorced	1.05	1.01	1.25**	1.16*
Widowed-long term (20+ years)	1.33*	1.10	1.18***	1.01
Widowed-intermediate (10–19 years)	1.35***	1.18*	1.11**	0.96
Widowed-recent (<10 years)	1.26***	1.12*	1.07*	0.96
Divorced-long term (20+ years)	1.40*	1.14	1.42***	1.15
Divorced-intermediate (10–19 years)	1.59***	1.35***	1.37***	1.15
Divorced-recent (<10 years)	1.53***	1.39**	1.72***	1.49**
Never-married	1.22***	0.97	1.17**	1.04
<i>Socioeconomic variables</i>				
Educational qual. 1971 (ref. none)		0.84***		0.88***
Tenure/car score 1971–91		0.94***		0.92***
Social class score 1971–81		0.89***		
<i>Current marital status</i>				
All in 1st marriage	1.00	1.00	1.00	1.00
All remarried	1.12**	1.13**	1.26***	1.20***
All widowed	1.29***	1.14**	1.10***	0.97
All divorced	1.54***	1.33***	1.45***	1.21***
Never-married	1.22***	0.97	1.17**	1.04
N	33,686		41,341	

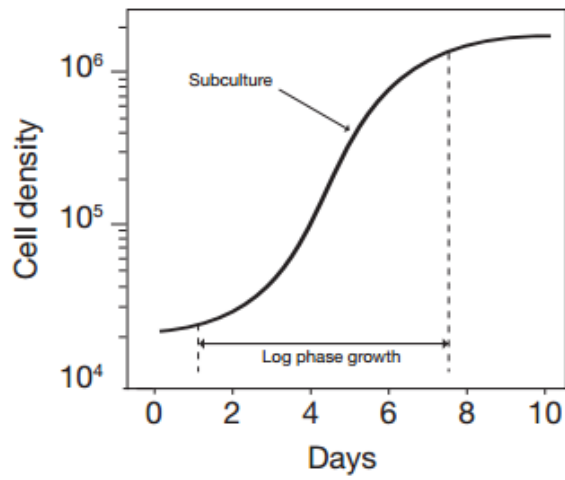
* Significant at 10%.

** Significant at 5%.

*** Significant at 1%.

Tabel 1

Bilag 2:



Figur 1: Karakteristisk vækstmønster af cellekultur

Kilde: Guan et al, 2011

Bilag 3:



Bilag 4:

<p>Forberedelse</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ansøgning til regional videnskabskomité • Nærmere aftale med Dr. Ove Wiborg vedr. Laboratorie Stress Test • Planlægning vedr. specifikke datoer til projektudførelse med Suresh Rattan 	<p>Varighed: 1 måned</p>
<p>1. fase (Human cellekultur)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anskaffelse af oxytocin • Forarbejde forinden opstart af human cellekultur - bl.a. anskaffelse af hud fibroblaster • Opstart af human cellekultur • Udtagelse af prøver til analyse 	<p>Varighed: 1,5 måned</p>
<p>2. fase (Laboratorie Stress Test)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anskaffelse af rotter, passende til de specifikke krav • Forarbejde forinden opstart af Laboratorie Stress Test • Udførelse af eksperiment 	<p>Varighed: 1 uge</p>
<p>3. fase (Telomere analyse)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Prøver sendes til Belgien og analyseres af StratiCELL® • Standby indtil dataene modtages 	<p>Varighed: 1 måned</p>
<p>Resultatbehandling</p> <ul style="list-style-type: none"> • Behandling af data fra StratiCELL® • Analyse af samlet datamængde med projektgruppe • Der tages stilling til yderligere forskning • Skrivning af videnskabelig artikel til tidsskrift 	<p>Varighed: 2 uger</p> <p>Samlet tidsvurdering: 4 måneder og 1 uger</p>

*Dette er et overslag, da tidsrummet kan varieres meget i forhold til hastigheden af analyse og anskaffelse af det fornødne materiale.