

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Rola fotoperiodu i stanu odżywienia organizmu w regulacji przechodzenia leptyny przez barierę krew-mózg**

2. Czas trwania projektu: 24 miesiące

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) **leptynooporność, bariera krew-mózg, leptyna, fotoperiod, metabolizm**

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.

Badania naszego zespołu wykazały, że niewrażliwość na podwyższoną koncentrację leptyny występuje u zwierząt wykazujących sezonowość rozrodu, w tym owiec. Zwierzęta te, przejawiają roczne zmiany cykli rozrodczych, apetytu i masy ciała. Wzrost poboru pokarmu i masy ciała podczas długich dni (wiosna-lato) wiąże się z wysoką koncentracją obwodowej leptyny. Co istotne, zjawisko to charakteryzuje się silnym obniżeniem wrażliwości neuronów podwzgórza na działanie leptyny w tym okresie. Doświadczenia przeprowadzone zostaną na owcach karmionych i głodzonych przez 72 h, w dwóch sezonach świetnych - w czasie skracającego i wydłużającego się dnia. W eksperymentach zbadamy rolę rezystyny w powstawaniu niewrażliwości na leptynę w mózgu, która do tej pory powiązana była ze zjawiskiem oporności na insulinę. Przede wszystkim jednak głównym celem zaplanowanych doświadczeń będzie określenie przyczyn zaburzenia przechodzenia leptyny przez barierę krew-mózg. Model badawczy jakim są owce pozwoli na prześledzenie zmian w przepuszczalności barier mózgu na czynnik doświadczalny jakim jest leptyna ze szczególnym uwzględnieniem wpływu długości dnia. Ostatnim celem projektu będzie wykorzystanie analogu leptyny - tzw. MTS-leptyny, zmienionej cząsteczki białka, tak, by ta szybciej przechodziła przez bariery mózgowia. Wyniki badań nie tylko poszerzą wiedzę na temat zjawiska niewrażliwości na leptynę, a więc będą dalszym krokiem w zrozumieniu udziału różnych czynników w

zakłóceniami przekazywania sygnału od leptyny do swojego receptora w mózgu, pozwolą na weryfikację hipotez związanych ze zmienną przepuszczalnością barier mózgu na białka przez nie przechodzące, oddziałujące na ośrodki położone w podwzgórzu. "Przeciekanie" barier mózgu obserwuje się w chorobach o podłożu neurodegeneracyjnym, zrozumienie zatem od czego zależy szczelność barier mózgu i ich "otwarcie" na przechodzące czynniki w zależności od stanu odżywienia czy pory roku będzie ciekawym spostrzeżeniem i punktem wyjścia do podjęcia kolejnych badań.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Owce - Ovis aries, polska owca długowłnista, 65 sztuk, maciorki

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasada zastąpienia

W przypadku proponowanego badania neuroendokrynologicznego – określaniu zmian stężenia hormonów we krwi obwodowej, czy przenikania związków przez barierę krew-mózg/mózg-krew oraz badaniu mechanizmów przekazywania sygnału dla hormonu działającego przez ośrodkowy układ nerwowy, nie ma niestety metod alternatywnych. Złożoność i zależność wspomnianych procesów od statusu metabolicznego, fizjologicznego organizmu oraz wpływu fotoperiodu, nie pozwalają na zastosowanie modelu komórkowego, gdyż wymagana jest odpowiedź ze strony całego organizmu. Planowanego eksperymentu nie można również w pełni odwzorować na innym modelu doświadczalnych, tj. kręgowcach we wczesnej fazie rozwoju, bezkręgowcach lub niższych kręgowcach.

Zasada ograniczenia:

Liczba zwierząt wykorzystanych w doświadczeniu oparta jest o liczbę pełnowartościowych próbek krwi, podwzgórza, przysadki mózgowej, splotu naczyniówkowego niezbędnych do analizy profilu białkowego i statystycznie ważne wyniki. Zastosowane techniki laboratoryjne oceny pobranego materiału biologicznego charakteryzują się najwyższą czułością i swoistością, co pozwoliło na znaczną redukcję liczby osobników wykorzystanych w doświadczeniu. Pobrane w trakcie badania inne narządy uśmiercanych zwierząt (w tym m.in. wątroba, jajniki, tkanka mięśniowa oraz tkanka tłuszczowa) zostaną zamrożone w ciekłym azocie i będą długotrwale przechowywane w temperaturze poniżej -80°C w celu ich dalszej, późniejszej analizy histologicznej oraz molekularnej w innych projektach naukowych.

Zasada udoskonalenia:

W proponowanym doświadczeniu zostanie zastosowana najmniej inwazyjna metoda iniekcji rezystyny, leptyny czy analogu leptyny – poprzez venflon - dożylnie. Metoda ta pozwala na dotarcie iniekowanego związku do obszarów mózgu na zasadzie przechodzenia przez bariery mózgowia. Alternatywne metody wymagają przeprowadzenia operacji chirurgicznych polegających na implantacji stalowych kaniul do III lub IV komory mózgu. Wymienione metody są inwazyjne i wiążą się z kilkutygodniowym okresem rekonwalescencji, podczas,

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

którego zwierzęta doświadczają stresu pooperacyjnego.

Przez cały okres trwania doświadczeń zwierzęta będą utrzymywane w warunkach zgodnych z wytycznymi dla danego gatunku, stanowiska w owczarni zostaną wyposażone we wzbogacenia takie jak słoma i lizawki mineralne. Owce będą miały dostęp do pastwiska lub okólnika, które sprzyjają dobremu rozwojowi i samopoczuciu zwierząt. Wszystkie procedury będą wykonywane przez odpowiednio wyszkolony personel. Nad przebiegiem eksperymentu przez cały czas czuwał będzie lekarze weterynarii.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ xNIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.