

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Czy zegar biologiczny tyka w układzie odpornościowym ryb? Mechanizmy okołodobowej regulacji odpowiedzi immunologicznej ryb karpiowatych”
2. Czas trwania projektu 36 miesięcy
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) zegar biologiczny, układ odpornościowy, ryby, geny i białka zegara, przeżywalność
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) A. 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.

Zegary biologiczne regulują przebieg wielu procesów życiowych organizmów, zarówno biochemicznych, fizjologicznych, jak i behawioralnych. Istotnie oddziałują one na różnych poziomach, począwszy od cyklicznych zmian ekspresji odpowiednich genów w komórkach i tkankach, a skończywszy na zachowaniu zwierzęcia. Centralny zegar biologiczny u ryb znajduje się w szyszynce, która odpowiada za przetwarzanie informacji świetlnej na sygnały nerwowe i neuroendokrynne. U ryb obecne są także ortologi najważniejszych genów zegara biologicznego. Okazuje się, że tzw. zegary

peryferyczne u ssaków zlokalizowane są m.in. w obrębie układu odpornościowego, a liczne funkcje immunologiczne wykazują okołodobowe wahania. Istnieją przesłanki wskazujące, że zaburzenia rytmów okołodobowych skutkują nieprawidłowym przebiegiem mechanizmów odpornościowych. Dlatego też niezwykle ważne jest lepsze poznanie regulacji układu odpornościowego przez zegar biologiczny.

Planowane doświadczenia dotyczą identyfikacji ewolucyjnie konserwatywnych mechanizmów, które leżą u podstaw wzajemnych oddziaływań pomiędzy zegarem biologicznym i układem odpornościowym u ryb karpiowatych. Badania opierają się na założeniu, że układ odpornościowy ryb jest regulowany przez sygnały docierające z zegarów biologicznych. W celu zweryfikowania postawionej hipotezy będą prowadzone badania ekspresji genów i białek zegara biologicznego w układzie odpornościowym karpia i danio pręgowanego. Analizowane będzie również to czy ekspresja wspomnianych genów i białek jest regulowana przez światło i/lub podczas infekcji (procedura 1-4). Badania pozwolą także określić rytm odpowiedzi immunologicznej oraz przeżywalności ryb podczas infekcji (procedura 1-4) w różnych warunkach oświetlenia.

Uzyskane w wyniku realizacji badań odkrycia naukowe przyczynią się do lepszego zrozumienia mechanizmów obronnych aktywowanych podczas infekcji u ryb. To z kolei stworzy możliwość opracowania nowoczesnych technik zapewniających skuteczne i precyzyjne określanie statusu zwierząt poddawanych niekorzystnym warunkom środowiska, w którym dochodzi do wzrostu zanieczyszczenia światłem. Zaplanowane badania dostarczą również niezbędnej wiedzy, która przyczyni się do poprawy warunków prowadzenia akwakultury i pomoże zapobiec negatywnym skutkom zaburzeń rytmów okołodobowych u ryb, a w przyszłości także u innych kręgowców, w tym ludzi.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

| |
|---|
| Karp (<i>Cyprinus carpio</i> L.), 1320 osobniki, danio pręgowane (<i>Danio rerio</i>), 1320 osobniki |
|---|

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przed zaplanowaniem badań dokonano wnikliwego przeglądu literatury w piśmiennictwie naukowym. Z literatury wynika, że tzw. zegary peryferyczne zlokalizowane są między innymi w obrębie układu odpornościowego (w jego komórkach i narządach), a wiele funkcji immunologicznych wykazuje okołodobowe wahania. Jednakże pomimo wysiłków naukowców wiele kwestii związanych ze wzajemnym oddziaływaniem zegara biologicznego i układu odpornościowego ciągle pozostaje niewyjaśnionych. Istnieją przesłanki wskazujące, że zaburzenia rytmów okołodobowych skutkują nieprawidłowym przebiegiem mechanizmów odpornościowych. Dlatego też niezwykle ważne jest lepsze poznanie regulacji układu odpornościowego przez zegar biologiczny, w tym zidentyfikowanie konserwatywnych ścieżek i cząsteczek sygnalizacyjnych wykazujących okołodobowe oscylacje zarówno w stanie fizjologicznym, jak i podczas infekcji bakteryjnej i wirusowej.

W proponowanym wniosku uwzględniono zasadę 3 R:

W myśl zasady zastąpienia część badań doświadczalnych przewidzianych w przedstawionym projekcie postanowiono przeprowadzić metodami alternatywnymi – badania *in vitro*, co pozwoli ograniczyć liczbę zwierząt potrzebnych do przeprowadzenia badań, przy jednoczesnym wykonaniu maksymalnej liczby analiz z wykorzystaniem każdego osobnika uwzględnionego w doświadczeniu. Te same zwierzęta wykorzystane w danym eksperymencie posłużą do przeprowadzenia maksymalnej liczby testów, zwłaszcza u karpia, ze względu na wielkość/liczbę narządów/komórek.

Liczbę zwierząt niezbędnych do przeprowadzenia badań ograniczono do niezbędnego minimum umożliwiającego uzyskanie rzetelnych wyników badań popartych prawidłową analizą statystyczną.

Zasady udoskonalania będą stosowane przez cały okres życia zwierząt wykorzystywanych w procedurach naukowych, począwszy od uwzględnienia w eksperymentach wyłącznie zwierząt pochodzących z certyfikowanych hodowli, jak również poprzez stosowanie metod łagodzenia bólu, cierpienia i dystresu (dzięki zastosowaniu znieczulenia, zniesienia czucia bólu) oraz określenie humanitarnych zakończeń.

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

Dla przestrzegania powyższych zasad nie bez znaczenia pozostaje fakt, że wykonawcy posiadają duże, udokumentowane publikacjami, doświadczenie w technikach i metodach doświadczalnych, co powoduje, że każde z zaplanowanych w doświadczeniu zwierząt zostanie w pełni wykorzystane do uzyskania wiarygodnych wyników.

Dodatkowo zabezpieczony podczas eksperymentów materiał badawczy będzie mógł być wykorzystany w kolejnych badaniach naukowych, co umożliwi ograniczenie użycia zwierząt w eksperymentach.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

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