

Szyszynka ptaków, razem z siatkówką i jądrami nadskrzyżowania, stanowi jeden z elementów centralnego, endogennego zegara biologicznego, generującego okołodobowe rytmy wielu procesów fizjologicznych. Dobowe zmiany aktywności tych procesów są zależne od dobowych zmian syntezy i wydzielania melatoniny – hormonu wytwarzanego w szyszynce. Ponadto, we wszystkich dotychczas przebadanych grupach kręgowców stwierdzono wzajemne oddziaływania między szyszynką, a układem odpornościowym. Wykazano, że rozwój reakcji zapalnej modyfikuje aktywność biosyntetyczną szyszynki, a szyszynka, poprzez melatoninę, moduluje przebieg reakcji zapalnej. Przez wiele lat sądzono, że są to najważniejsze funkcje pełnione przez szyszynkę. Jednak w ostatnich latach przeprowadzono badania, które wykazały, że szyszynka jest miejscem szczególnie intensywnej syntezy neurosteroidów, będących pochodnymi cholesterolu, w mózgu. Jest w niej syntetyzowanych co najmniej 11 różnych neurosteroidów, a wśród nich do najważniejszych zaliczamy: pregnenolon,  $7\alpha$ -hydroksypregnenolon,  $7\beta$ -hydroksypregnenolon, allopregnanolon i epipregnanolon. Badania wykazały, że  $7\alpha$ -hydroksypregnenolon reguluje aktywność lokomotoryczną u ptaków i traszek, prawdopodobnie poprzez aktywację neuronów dopaminergicznych w mózgu. Stwierdzono, że allopregnanolon wykazuje właściwości neuroprotektcyjne w mózgu młodych ptaków. Związek ten chroni komórki Purkiniego przed apoptozą. Przypuszcza się, że we wczesnym okresie rozwoju postembrionalnego związek ten pełni kluczową funkcję w formowaniu sieci neuronalnej w mózdzku. Ponadto u ludzi wykazano korelację między zmianami poziomu allopregnanolonu w mózgu, a rozwojem niektórych zaburzeń neuropsychiatrycznych takich jak depresja, stany lękowe czy napady paniki.

Mimo, iż badania dotyczące syntezy neurosteroidów są prowadzone od lat, wciąż niewiele wiadomo na temat molekularnych mechanizmów regulacji ekspresji genów kodujących enzymy uczestniczące w ich syntezie. Dlatego celem niniejszego projektu jest: (1) zbadanie czy ekspresja genów kodujących enzymy uczestniczące w syntezie neurosteroidów ma charakter rytmiczny w ciągu doby i czy pozostaje pod kontrolą zegara molekularnego; (2) zbadanie czy rozwijająca się w organizmie reakcja zapalna moduluje ekspresję tych genów; (3) wytypowanie czynników transkrypcyjnych, które mogą brać udział w regulacji ekspresji badanych genów przez czynniki zapalne oraz (4) przetestowanie wpływu wytypowanych czynników w warunkach *in vitro*.

Badania będą prowadzone na szyszynkach pozyskanych od 16-dniowych samców kury domowej rasy Hy-Line hodowanych w kontrolowanych warunkach oświetlenia oraz na hodowlach pierwotnych pinealocytów. W badaniach zastosujemy techniki biologii molekularnej oraz inżynierii genetycznej, m. in.: reakcję PCR w czasie rzeczywistym, klonowanie i przeprowadzanie badań funkcjonalnych promotorów genów, stosując systemy reporterowe.

Zrealizowanie badań zaplanowanych w niniejszym projekcie przyniesie wiele korzyści o charakterze poznawczym, a być może także aplikacyjnym. Po pierwsze, pozwoli zrozumieć mechanizmy regulacji syntezy neurosteroidów u ptaków. Po drugie, stworzy podstawy do prowadzenia dalszych, bardziej szczegółowych badań na poziomie molekularnym i funkcjonalnym. Po trzecie, mamy nadzieję, że umożliwi lepsze poznanie mechanizmów rozwoju zapalenia i odpowiedzi immunologicznej u ptaków, co wydaje się szczególnie ważne ze względu na pojawiające się epidemie np. ptasiej grypy czy kokcydiozy – choroby pasożytniczej dziesiątkującej fermę drobiu i powodującej olbrzymie straty ekonomiczne.