

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Badanie wpływu płytek krwi na funkcje wydzielnicze wysp trzustkowych**

2. Czas trwania projektu **5 lat**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) **cukrzyca, płytki krwi, komórki  $\beta$ , insulina**

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.

Sekrecja insuliny oraz rozwój komórek  $\beta$  trzustki kontrolowane są przez dostarczanie składników odżywczych, centralny układ nerwowy oraz wydzielane hormony. Płytki krwi przechowują w swoich ziarenkach białka, aminy i puryny, które wydzielają pod wpływem aktywacji. Zaobserwowano, iż myszy z defektami w funkcjonowaniu płytek krwi wykazują obniżoną tolerancję glukozy, dlatego też postawiono hipotezę, iż obniżona reaktywność płytek krwi prowadzi do upośledzenia zdolności wydzielniczych komórek  $\beta$  trzustki.

W celu określenia zależności pomiędzy aktywacją płytek krwi a tolerancją na glukozę, wykorzystane zostaną myszy z genetycznymi defektami w aktywacji i degranulacji płytek: myszy z globalnym nokautem genu *Unc13d*, *Gp6* lub *Nbeal2*, a także myszy z tkankowo specyficznym podwójnym nokautem *Ga $\alpha$*  i

Gα13 w płytkach krwi. Wykorzystanie wyżej wymienionych zwierząt, a także modelu farmakologicznego z użyciem Clopidogrel'u, pozwoli na zbadanie mechanizmu poprzez który płytki krwi regulują sekrecję insuliny, co w przyszłości może przyczynić się do rozwoju terapii przeciwko cukrzycy.

W eksperymencie 1. zwierzęta będą karmione standardową dietą laboratoryjną oraz dietą wzbogaconą w tłuszcz. W trakcie trwania eksperymentu myszom będzie podawany supernatant zbadanych płytek myszy typu dzikiego lub aminy wydzielane przez płytki. Aby sprawdzić czy podane substancje zmieniają metabolizm myszy, przeprowadzone zostaną: test tolerancji glukozy, test wrażliwości na insulinę, określanie poziomu insuliny oraz amin stymulowanych glukozą. Test tolerancji glukozy oraz określanie poziomu insuliny i amin stymulowanych glukozą będą poprzedzane całonocnym głodzeniem (16h). Natomiast test wrażliwości na insulinę będzie poprzedzony 6 h głodzeniem zwierząt.

W celu badania wpływu płytek krwi na rozwój cukrzycy przeprowadzone zostaną eksperymenty 2 i 3, w którym myszom zostanie podana streptozotocyna, jednorazowo (eksperyment 2) oraz wielokrotnie (eksperyment 3), prowadząca do rozwoju cukrzycy. Podczas trwania eksperymentu 2. i 3. przeprowadzony zostanie test tolerancji glukozy oraz określanie poziomu insuliny stymulowanej glukozą.

Wybrane tkanki oraz krew będą pobierane po wcześniejszym uśmierceniu zwierząt. Planowane procedury wykorzystania zwierząt zaliczane są do umiarkowanej kategorii dotkliwości.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa: 2240 osobników.
------------------------------

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę dotyczącą zagadnienia przedstawionego we wniosku badawczym, w takich dostępnych bazach danych jak: PUBMED; Google Scholar oraz ScienceDirect.

Wykorzystane zostały takie słowa kluczowe jak: diabetes /  $\beta$ -cell failure / platelets / glucose tolerance / amines / serotonin / tyramine /  $\beta$ -phenyletylamine / GP6 / Nbeal2 / Unc13d /  $G\alpha_q$  /  $G\alpha_{13}$  / insulin secretion / Clopidogrel.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że brak jest danych naukowych dotyczących roli płytek krwi w regulacji funkcji wydzielniczej trzustki.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na lepsze zrozumienie mechanizmów regulujących proces sekrecji insuliny w odpowiedzi na glukozę, rozwój nietolerancji glukozy oraz cukrzycy. Na podstawie wyników zaplanowanych eksperymentów będzie można lepiej zrozumieć zależności pomiędzy poziomem reaktywności płytek krwi a wrażliwością tkanek obwodowych na insulinę oraz funkcjonowaniem komórek  $\beta$  w stanie fizjologicznym i w cukrzycy typu 2. Co więcej, badania te przyczynią się do zidentyfikowania potencjalnych efektów ubocznych Clopidogrel'u jako leku powszechnie używanego klinicznie w odniesieniu do różnych aspektów zespołu metabolicznego i cukrzycy.

W niniejszym wniosku wnosimy o liczebność zwierząt wynoszącą 20 zwierząt/grupę eksperymentalną. Jest to minimalna ilość zwierząt pozwalająca na uzyskanie odpowiedniej ilości materiału do badań celem przeprowadzenia kompletnego zestawu zaplanowanych analiz oraz statystycznej wiarygodności wyników. Niemniej jednak, jeżeli uzyskamy odpowiednią ilość materiału do analiz bądź uzyskamy wystarczającą ilość danych eksperymentalnych przy użyciu mniejszej liczby myszy, to pozostałe zwierzęta nie zostaną przez nas wykorzystane.

W zaplanowanym projekcie istnieje szereg doświadczeń/analiz, do których nie będą wykorzystane zwierzęta. Dotychczas przeprowadziliśmy szereg doświadczeń na modelach in vitro, tj. na stabilnych liniach komórek  $\beta$  trzustki: MIN6 oraz INS1. Uzyskane wyniki wykazały, że supernatant z aktywowanych płytek powoduje wzrost sekrecji insuliny przez komórki INS1 oraz MIN6 [dane nieopublikowane]. Poza tym, równocześnie z badaniami na zwierzętach kontynuowane będą dalsze badania z użyciem modeli in vitro.

Jednakże należy zwrócić uwagę, że badania z wykorzystaniem linii komórkowych nie odzwierciedlają pełnego tła metabolicznego organizmu oraz interakcji między różnymi rodzajami komórek w tkankach i narządach, niezbędnego dla prawidłowego przebiegu procesów fizjologicznych i biochemicznych. Co więcej, linie komórkowe charakteryzują się odmiennym profilem genowym oraz białkowym od tkanek. Z tego względu uzyskane w doświadczeniach in vitro wyniki mogą okazać się specyficzne wyłącznie dla testowanej linii komórkowej i nie będą opisywać trafnie badanych przez nas zaburzeń metabolicznych. Ponieważ celem naszych badań jest zbadanie interakcji pomiędzy płytkami krwi a trzustką wykorzystanie zwierząt laboratoryjnych wydaje się konieczne. W celu minimalizacji stresu u wykorzystanych zwierząt, przewiduje się odpowiedni czas rekonwalescencji po poszczególnych testach metabolicznych.

Opisane przez nas modele myszy charakteryzują się obniżoną krzepliwością krwi, co jednak nie powinno wpłynąć negatywnie na ich codzienne funkcjonowanie. Dodatkowo zwierzęta będą codziennie monitorowane pod kątem szybkiego wykrycia ewentualnych osobniczych zadrapań/zranień, które mogłyby powodować ewentualny dystres. Dlatego też myszy, u których rany zostaną wykryte, będą niezwłocznie wyłączone z eksperymentu. Co więcej, jeżeli którakolwiek z planowanych procedur spowoduje niepokojące objawy u zwierząt, zostanie wezwany weterynarz aby zbadać myszy, a eksperyment zostanie przerwany.

#### 8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

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

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.