

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Korzystny wpływ witaminy D na metabolizm, stres oksydacyjny oraz atrofię w mięśniach szkieletowych, podczas długotrwałego podwyższenia poziomu glikokortykoidów.**
2. Czas trwania projektu: **36 miesięcy**
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **witamina D, atrofia mięśniowa, mięsień szkieletowy, glikokortykoidy, stres oksydacyjny**
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **B (PT27 i PT31)**
  - 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.

Stres jest jednym z najbardziej alarmujących problemów zdrowotnych we współczesnym świecie. Wyjaśnia to pilną potrzebę poszukiwania mechanizmów i szlaków molekularnych łączących zagadnienia stresu i zdrowia. Fizjologicznie główną rolę w odpowiedzi na stres odgrywają glikokortykoidy (GK).

Kataboliczne działanie GK jest dobrze znane, a destrukcyjne działanie GK przede wszystkim nasila się między innymi w mózgu, kościach, wątrobie, sercu i mięśniach szkieletowych. Mięśnie szkieletowe stanowią około 40% masy ciała i są główną tkanką docelową dla działania GK. W warunkach stresowych lub patologicznych, takich jak głód, chłód lub choroba nowotworowa, poziom krążących

GK znacznie się podwyższa, co z kolei zmniejsza szybkość syntezy białek oraz potęguje proteolizę. Jednym z celów takiego działania jest wytworzenie aminokwasów służących jako prekursorzy wątrobowej glukoneogenezy. W mięśniach szkieletowych prowadzi to do niepożądanych działań takich jak nadprodukcja reaktywnych form tlenu (RFT), stres oksydacyjny oraz zanik masy mięśni szkieletowych z zaburzeniem ich funkcji. Efekty indukowane przez GK mogą być wywołane i regulowane niezależnie, na wielu poziomach kontroli, przez receptor glikokortykoidowy (GR) i/lub aktywność dehydrogenazy  $11\beta$ -hydroksysteroidowej typu 1 ( $11\beta$ -HSD-1). Jak wskazują dane, wzrost aktywności  $11\beta$ -HSD-1 w mięśniach szkieletowych wiąże się ze spadkiem masy mięśniowej i podwyższoną ekspresją genów związanych z atrofią mięśni. Ponadto, wysoki poziom zawartości GR w mięśniach szkieletowych może wywoływać równie niepożądane efekty związane z GK, takie jak atrofia. Jednym z postulowanych środków terapeutycznych stosowanych w celu zmniejszenia niekorzystnego działania GK jest witamina D. Chociaż dokładny wpływ, jaki GK mają na metabolizm witaminy D, pozostaje dyskusyjny.

Liczne wyniki badań sugerują pozytywną rolę witaminy D w zapobieganiu sarkopenii i hamowaniu atrofi mięśni poprzez tłumienie aktywności transkrypcyjnej czynnika FOXO1. Dodatkowo, część badań sugeruje, że witamina D wykazuje działanie antyoksydacyjne, zarówno w ośrodkowym układzie nerwowym, jak i w mięśniach szkieletowych. Mechanizm zmian w mięśniu szkieletowym za pośrednictwem witaminy D nie jest w pełni wyjaśniony, jednak wiadomo, że witamina D działa głównie poprzez swoiste wiązanie z wewnątrzkomórkowym VDR, oddziałując ze specyficznymi sekwencjami nukleotydowymi dla ponad 60 genów docelowych. Co więcej, interakcja witaminy D z innymi receptorami nadrodziny receptorów steroidowych, w tym GR jest potencjalnie możliwa. Niemniej jednak dane wyraźnie pokazują wspólne działanie witaminy D i GK w modulowaniu ekspresji genów, co implikuje potencjalne możliwości zmniejszenia niekorzystnego wpływu nadmiaru GK (podczas suplementacji witaminą D).

Postawiliśmy hipotezę, że suplementacja witaminą D w przewlekłych warunkach stresowych normalizuje poziom witaminy D w surowicy, zmniejsza szkodliwe konsekwencje przewlekłego stresu związane z działaniem RFT, zaburzeniami energii mitochondriów i atrofią w mięśniach szkieletowych. **Głównym celem niniejszego projektu jest określenie wpływu przewlekłej reakcji stresowej na stężenie witaminy D w surowicy, stres oksydacyjny, zaburzenie metabolizmu energetycznego mitochondriów oraz atrofię mięśni szkieletowych. Celem badania jest również ustalenie**

**możliwego(-ych) mechanizmu(-ów) tych zmian związanych z mięśniami szkieletowymi.**

Pomimo podstawowego charakteru planowanych doświadczeń wykazanie skuteczności działania witaminy D w planowanym doświadczeniu, otworzyłoby drogę do dalszych badań, pozwalających na wykorzystanie tej witaminy jako suplementu wspomagającego terapię wielu zaburzeń związanych z negatywną działalnością glikokortykoidów.

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

**64 szczur stała niekrewniaczego Wistar (samce)**

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

**Zasada 3R została uwzględniona w oparciu o zalecenia wydawane przez European Animal Research Association (EARA), a także na podstawie danych z literatury, odpowiednich dla tego typu badań.**

Podczas przygotowywania niniejszego projektu przeszukano między innymi bazy danych: PUBMED, Google Scholar, Science Direct w zakresie tematyki objętej wnioskiem badawczym. Wykorzystano słowa kluczowe: witamina D, atrofia mięśniowa, stres, glikokortykoidy, FOXO-1, deksametazon, 11 $\beta$ -HSD-1, stres oksydacyjny.

**REDUCTION:** Planuje się zastosować najmniejszą możliwą liczebność zwierząt zapewniającą minimalną ilość wyników wymaganą do przeprowadzenia wiarygodnej analizy statystycznej. Liczbę zwierząt oszacowano w sposób maksymalnie redukujący ich ilość do wymaganego statystycznie minimum dla każdej z procedur. Ponadto, w doświadczeniu zamierza się pobrać jak największą ilość narządów i tkanek w celu wykonania oznaczeń kompleksowych. W planowanych badaniach stosowane będą nowoczesne metody badawcze w jednostce wyposażonej w odpowiednią infrastrukturę.

**REFINEMENT:** Aby ograniczyć **dystres** zwierząt podczas wykonywania wyżej wymienionych czynności uwzględnia się staranne przeprowadzenie 7-dniowego *handlingu*, mającego na celu

---

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

przyzwyczajanie zwierząt do osoby eksperymentatora oraz oswojenie z procedurą. Czas trwania poszczególnych etapów doświadczenia został skrócony do niezbędnego minimum.

**REPLACEMENT: Brak jest alternatywnych metod badawczych, które umożliwiłyby charakterystykę ogólnoustrojowej odpowiedzi na badaną substancję w warunkach stresowych. W badaniach *in vitro* lub *in situ* nie jest możliwe pełne odzwierciedlenie rzeczywistych interakcji pomiędzy różnymi czynnikami decydującymi o przebiegu odpowiedzi na stres.**

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.