

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

## 1. Tytuł projektu

• *Badania nad mechanizmami hipoglikemicznego działania glikozydów stewiolowych, bez i w obecności L-argininy i chromu(III)*

## 2. Czas trwania projektu

• 5 lat (od 02.10.2019 r. do 01.10.2024 r.)

## 3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów)

• glikozydy stewiolowe, L-arginina, chrom(III), właściwości przeciwcukrzycowe

## 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.

Celem podstawowym 2-etapowych badań na zwierzętach jest wyjaśnienie mechanizmów działania glikozydów stewiolowych(GS), bez i w obecności L-argininy(ARG) i chromu(III)(Cr3), na metabolizm glukozy i lipidów u szczurów doświadczalnych z wywołaną cukrzycą typu 2.

W doświadczeniu (1) (70 szczurów/7 równolicznych grup) samce szczurów (szczur wędrowny (*Rattus norvegicus*) stado niekrewniacze Wistar) zostaną poddane interwencji żywieniowej, polegającej na

podaniu doustnym (z dietą) GS (stewiozydu i rebaudiozydu A) na 2 różnych poziomach (0,5% i 2,5% diety). Cukrzyca zostanie wywołana u 60 zwierząt poprzez karmienie *ad libitum* dietą wysokotłuszczową (HF) oraz dootrzewnową iniekcję streptozotocyny (STZ). 3 grupy kontrolne będą karmione kolejno: dietą AIN-93M (grupa odniesienia), dietą wysokotłuszczową oraz dietą wysokotłuszczową z dodatkiem metforminy (grupy cukrzycowe).

W doświadczeniu (2), gdy najskuteczniejsza dawka oraz rodzaj GS będą już znane, weźmie udział 110 (11 równolicznych grup) szczurów. Interwencja żywieniowa będzie polegała na podaniu doustnym kombinacji GS, ARG i Cr3 (w diecie) na różnych poziomach. Cukrzyca zostanie wywołana u 100 zwierząt, podobnie jak w doświadczeniu (1). Następnie 3 grupy kontrolne będą karmione kolejno: dietą AIN-93M (grupa odniesienia), dietą wysokotłuszczową oraz dietą wysokotłuszczową z dodatkiem metforminy (grupy cukrzycowe).

Ostatnim elementem obu doświadczeń będzie uśpienie zwierząt za pomocą mieszaniny powietrza i CO<sub>2</sub> (30:70%) w celu pobrania krwi i narządów wewnętrznych do kompleksowych analiz biochemicznych i histologicznych.

Wyniki doświadczeń pozwolą na wyjaśnienie mechanizmów działania badanych substancji (indywidualnie i w skojarzeniu) na metabolizm glukozy i lipidów, co będzie podstawą do dalszych badań nad możliwością wykorzystania w/w substancji w badaniach klinicznych z udziałem pacjentów chorych na cukrzycę typu 2.

Szkody dla zwierząt:

W doświadczeniach (1) i (2) zostaną zapewnione maksymalne warunki zachowania dobrostanu zwierząt, a chwilowy dyskomfort może wystąpić podczas iniekcji streptozotocyny i pobierania kropli krwi z ogona. Niemniej jednak wywołanie hiperglikemii w w/w sposób jest przyjętą i powszechnie stosowaną metodą w tego typu modelach doświadczalnych. Oba doświadczenia zakończą się uśmierceniem zwierząt biorących w nich udział.

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

Liczba: 180 samców (♂)

Gatunek: Szczur wędrowny (*Rattus norvegicus*) stado niekrewniacze Wistar

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

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych, takich jak: EBSCO, PUBMED, Google Scholar, AGRICOLA, ScienceDirect, Web of Science (JCR). Wykorzystałem następujące słowa kluczowe: Stevia / Steviol glycosides/ L-arginine/Chromium(III)/ insulin signaling/ diabetes/ rat/ mice/human. Na podstawie przeglądu istniejącej literatury, stwierdzam że informacje na temat mechanizmów działania glikozydów stewiolowych na szlak insulinowy, w warunkach zaburzonej gospodarki węglowodanowej (cukrzycy) są zaledwie fragmentaryczne i niejednoznaczne oraz odnoszą się do różnych modeli doświadczalnych (in vitro, i in vivo). Głównym celem niniejszego projektu jest poznanie mechanizmów działania glikozydów stewiolowych (bez z w obecności L-argininy i Cr3) w warunkach zaburzonej gospodarki węglowodanowej (cukrzycy) u szczura. Eksperymenty pozwolą ponadto na zweryfikowanie potencjału hipoglikemicznego testowanych substancji podawanych osobno oraz w skojarzeniu. W przypadku potwierdzenia hipotezy o skuteczności indywidualnego lub skojarzonego działania tych czynników u szczurów doświadczalnych, następnym etapem będą badania kliniczne z udziałem osób chorych na cukrzycę (po uzyskaniu zgody odp. Komisji Bioetycznej). Podsumowując należy stwierdzić, iż wyniki zaplanowanych doświadczeń przyczynią się do uzupełnienia wiedzy na temat mechanizmów działania glikozydów stewiolowych (bez i w obecności L-argininy i Cr3) oraz ewentualnego wykorzystania tych substancji do konstruowania receptury suplementów wspomagających leczenie cukrzycy typu 2 u człowieka.

W 2 doświadczeniach zaplanowanych w w/w projekcie uwzględniono zasadę 3R, w szczególności:

Zastąpienie: Zgodnie z założeniem eksperymentów, substancje badane będą podawane szczurom

---

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

doustnie (wraz z dietą), zatem niezbędne jest zbadanie kompleksowej reakcji ogólnoustrojowej organizmu na te czynniki, w tym poznanie efektów żywieniowych (trawienie, wchłanianie, wydalanie, wskaźniki wzrostowe, efektywność żywienia), metabolicznych (badania hematologiczne i biochemiczne krwi oraz wielokierunkowa analiza histologiczna, biochemiczna i toksykologiczna). Z powyższych względów uzyskanie oczekiwanych wyników jest możliwe tylko z użyciem modelu in vivo.

Ograniczenie: W 2 doświadczeniach zaplanowano użycie łącznie 180 szczurów (samców) Wistar, które zostaną podzielone (zgodnie z wymaganiami modelu 2- i 3-czynnikowego) na grupy doświadczalne. W każdej grupie będzie po 10 szczurów, co jest podyktowane zarówno specyfiką planowanej interwencji (indywidualną reakcją szczura na dietę wysokołuszczoową, działanie STZ i czynniki testowe) jak i wymaganiami statystycznymi (istotność na poziomie 0,05), przy założeniu, że odchylenie standardowe wyników będzie równe połowie wartości odchylenia standardowego między grupami.

Udoskonalenie: W eksperymentach 2- i 3-czynnikowych zostanie przebadane działanie testowanych substancji podanych doustnie (z dietą), modele te są bardziej efektywne niż model jednoczynnikowy, gdyż pozwalają na uzyskanie większej ilości informacji, przy użyciu mniejszej liczby zwierząt, przy jednoczesnym zapewnieniu wymaganej istotności statystycznej wyników. Z powyższych względów zastosowane modele eksperymentalne są udoskonalone i dostarczają nowych informacji o mechanizmach działania badanych substancji.

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.