

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Potencjał terapeutyczny trimetyloglicyny (betainy) w zaburzeniach metabolicznych i towarzyszącym im zmianach funkcji kognitywnych związanych z plastycznością glutaminergiczną.**

2. Czas trwania projektu: **od 14.10.2019 do 14.10.2021**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **betaina, receptor NMDA, otyłość, szczur**

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.

Otyłość, cukrzyca i zaburzenia metaboliczne wpływają zarówno na funkcje mózgu, jak i metabolizm obwodowy, prowadząc do różnych powikłań w wielu narządach i układach, w tym w układzie krążenia, płucach, nerkach, siatkówce oka oraz w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN). Wyniki badań na modelach zwierzęcych coraz częściej wskazują, że otyłość i cukrzyca wywołują dysfunkcje poznawcze i utratę pamięci. Warto zauważyć, że długotrwałe podwyższone stężenie glukozy we krwi, a także podwyższone stężenie kwasów tłuszczowych mogą powodować uszkodzenia struktury hipokampu, części mózgu o kluczowym znaczeniu dla procesu uczenia się i zapamiętywania. Dlatego leczenie otyłości powinno być pomocne nie tylko w eliminacji zaburzeń metabolicznych, ale także poważnych powikłań w układzie nerwowym, a tym samym przyczyniać się do poprawy jakości życia osób chorych.

Aminokwas będący pochodną glicyny - trimetyloglicyna, zwany potocznie betainą, występuje naturalnie w organizmach roślin (np. buraku czerwonym), a także zwierząt i człowieka. Człowiek może

m.in. przyswajając pochodne glicyny z diety. Niektóre zespoły badawcze wykazały, że suplementacja betainy w diecie poprawia metabolizm węglowodanowy, a także zmniejsza akumulację lipidów w wątrobie. Nie wykazano jednak, czy może poprawiać także metabolizm tkanki tłuszczowej. Badania innych zespołów dowiodły możliwości pozytywnego wpływu betainy na te struktury mózgu, które odpowiadają za powstawanie pamięci i uczenie się. Choroby metaboliczne jak otyłość i cukrzyca mogą być związane z zaburzeniami OUN i pogorszeniem zdolności uczenia się i zapamiętywania. Nie podjęto dotychczas badań wpływu betainy na funkcjonowanie OUN u zwierząt z chorobami metabolicznymi.

Hipoteza badawcza zakłada, że betaina ma potencjał terapeutyczny w leczeniu otyłości i jej powikłań związanych z funkcjonowaniem OUN. Celem badań będzie ocena terapeutycznej aktywności betainy jednocześnie pod względem poprawy parametrów metabolicznych (głównie metabolizmu tkanki tłuszczowej) jak i poprawy zdolności uczenia się i zapamiętywania u zwierząt - szczurów z otyłością wywołaną dietą wysokotłuszczową (HFD). 30 szczurów zostanie podzielonych na trzy grupy, w tym: zwierzęta kontrolne, otrzymujące normalną dietę, szczury otrzymujące dietę HFD zawierającą 30% tłuszczu oraz szczury otrzymujące dietę HFD oraz betainę w postaci roztworu wodnego 2%. W trakcie trwania eksperymentu u zwierząt zostaną przeprowadzone testy oceniające pamięć i uczenie się – test rozpoznawania obiektu i test rozpoznawania lokalizacji obiektu. Po 10 tygodniach eksperymentu zwierzęta zostaną uśmiercone, po czym pobrane zostaną tkanki do analiz parametrów metabolicznych, ekspresji genów oraz izolacji komórek tłuszczowych.

Korzyścią dla nauki jest poznanie możliwości działania łatwo dostępnego w diecie związku jakim jest betaina, jednocześnie - w dysfunkcjach OUN oraz chorobach metabolicznych. Szkodą dla zwierząt jest spożywanie diety wysokotłuszczowej, która prowadzi do dysregulacji metabolizmu, a także przeprowadzenie testów behawioralnych. Obie czynności mogą wywołać u zwierząt dystres, jednak nie naruszają w sposób istotny ich dobrostanu. Oczywiście szkodą dla zwierząt będzie ich uśmiercenie na końcu doświadczenia.

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

**Szczur wędrowny *Rattus norvegicus*, stado niekrewniacze Wistar – wiek 8 tygodni/samce – 30 zwierząt.**

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

ZASTĄPIENIE (ang. Replacement): Zastosowany zwierzęcy model doświadczalny jest niezbędny dla realizacji celu doświadczenia – nie ma dotychczas modelu *in vitro* lub podobnego, który pozwoliłby odtworzyć złożone regulacje na poziomie całego organizmu – w doświadczeniu badany będzie wpływ betainy jednocześnie na metabolizm – którego parametry określone będą w kilku tkankach: wątrobie, mięśni i krwi - oraz funkcje kognitywne – które określone będą na podstawie testów behawioralnych

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

oraz badania ekspresji kilku białek hipokampu. O wpływie czynnika badawczego na proces zapamiętywania można na razie wnioskować tylko na podstawie badań na żywych zwierzętach. Ponadto, wyizolowanie z tkanki tłuszczowej komórek i sprawdzenie jak betaina zmienia ich metabolizm stwarza bardziej wiarygodny obraz funkcji tkanki tłuszczowej. Komórki będą świeżo wyizolowane od chorych zwierząt, które przez 10 tygodni otrzymywały betainę. Takiego stanu nie można odtworzyć z zastosowaniem linii komórkowych, ponieważ nie można ich tak długo inkubować.

**OGRANICZENIE (Reduction):** Zaplanowano wykorzystanie optymalnej liczby zwierząt -10 osobników w grupie – by, z jednej strony uwzględnić zmienność osobniczą występującą w rozwijających się chorobach metabolicznych, a z drugiej strony, by ilość tkanki tłuszczowej wystarczyła do pozyskania komórek tłuszczowych wystarczających na przygotowanie 5 wariantów doświadczalnych. Ponadto zrezygnowano z jednej grupy kontrolnej zwierząt, w której zwierzęta na normalnej diecie miały mieć podawaną betainę oraz miały być poddane testom behawioralnym.

**UDOSKONALENIE (ang. Refinement):** Udoskonaleniem jest wybór testów behawioralnych ORT i OLT, które, przy stosunkowo małym działaniu stresogennym, pozwolą na skuteczne określenie pamięci u szczurów, której zaburzenia mogą wystąpić w przypadku chorób metabolicznych. Testy te przy niewielkich modyfikacjach pozwalają na badanie pamięci zarówno krótko- jak i długotrwale u zwierząt, a także poszczególnych faz uczenia się. Ponadto, w celu zmniejszenia stresu związanego z badaniem, zwierzęta przed właściwym testem będą przez 3 dni po 5 minut przyzwyczajane do przebywania na arenie.

Wybrano też mało inwazyjny sposób podania betainy zwierzętom – zamiast podania dożołądkowego przy pomocy sondy, związek planuje się podać w wodzie pitnej, co nie zmienia, ani smaku wody, ani objętości płynu pobieranego dziennie przez zwierzęta i jak wykazują badania opisane w literaturze<sup>1</sup> – jednocześnie może wywoływać łagodzący wpływ na niekorzystne skutki zmienionego metabolizmu. Ponadto badania toksykologiczne dowiodły, że spożywanie przez szczury 1% roztworu betainy nie wywołuje w ich organizmie żadnych szkodliwych zmian.

Zwierzęta z dwóch grup będą spożywały dietę zawierającą 30% tłuszczu. W tego typu doświadczeniach, gdzie wywołuje się otyłość i insulinooporność bez ingerencji farmakologicznej dieta jest jedyną możliwością wywołania takiego stanu bez narażania zwierząt na zbyt duży dystres, czy dolegliwości bólowe. Zwierzęta w doświadczeniu zostaną uśmiercone po 10 tygodniach, co oznacza, że nie zdąży rozwinąć się u nich większość następstw, która mogły by powodować odczuwalne naruszenie dobrostanu. .

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.