

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Desaturaza stearoilo-CoA 1 jako regulator biogenezy i magazynowania kropli lipidowych w indukowanej kwasami tłuszczowymi dysfunkcji komórek beta trzustki.

2. Czas trwania projektu: 21 styczeń 2016 – 20 styczeń 2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): desaturaza stearoilo-CoA 1, cukrzyca typu 2, lipotoksyczność, krople lipidowe, komórki β trzustki

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 i cukrzyca typu 2 to ogromne wyzwania stawiane współczesnemu zdrowiu publicznemu na całym świecie. Patogenezę cukrzycy typu 2 determinuje spadek wrażliwości na insulinę w tkankach obwodowych oraz zaburzenie w wydzielaniu tego hormonu wskutek dysfunkcji komórek β trzustki. Długotrwała ekspozycja organizmu na wysokie stężenia kwasów tłuszczowych (np. utrzymująca się otyłość) działa niekorzystnie na wyspy trzustkowe poprzez zaburzenie zdolności wydzielniczych oraz zmniejszoną przeżywalność komórek β . Z uwagi na specyfikę działania, komórki β dysponują ograniczoną zdolnością wewnątrzkomórkowego magazynowania związków lipidowych w tzw. kroplach lipidowych. Wyniki badań uzyskane na komórkowych i zwierzęcych modelach cukrzycy wskazują, iż zwiększona aktywność enzymu desaturazy stearoilo-CoA 1 (SCD1) jest niezbędna w zapobieganiu dysfunkcji komórek β . W oparciu o uzyskane wyniki wstępne, postawiono hipotezę, iż SCD1 uczestniczy w przywróceniu wewnątrzkomórkowej homeostazy lipidów regulując ich magazynowanie w kroplach lipidowych, co w konsekwencji, odgrywa istotną rolę w przywróceniu prawidłowego działania komórek β . Głównym celem projektu jest określenie molekularnych i komórkowych mechanizmów związanych z zależną od SCD1 biogenezą i regulacją metabolizmu kropli lipidowych dla funkcjonowania komórek β w stanie fizjologicznym i w cukrzycy typu 2. Zrozumienie znaczenia SCD1 dla dynamiki procesów

związanych z kształtowaniem i przemianami kropli lipidowych pozwoli zaproponować nowe strategie terapeutyczne, służące przeciwdziałaniu dysfunkcji komórek β i leczeniu cukrzycy typu 2.

W celu określenia funkcjonalnych zależności pomiędzy SCD1 a dynamiką metabolicznych procesów wewnątrz kropli lipidowych komórek β , zwierzęta będą karmione dietą wzbogaconą w tłuszcz (wywołanie powiązanej z otyłością cukrzycy typu 2), jak również dietą bogatą w kwas oleinowy (wzmożenie produkcji kropli lipidowych). W trakcie trwania eksperymentów przeprowadzony zostanie test tolerancji glukozy. Po zakończeniu doświadczenia zostaną pobrane do analizy trzustka, mięśnie szkieletowe, serce, wątroba, tkanka tłuszczowa oraz krew.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek	Liczba
Myszy C57BL/6J	600
Myszy SCD1-/-	600
Myszy <i>ob/ob</i>	600
SUMA	1800

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PUBMED; Google Scholar; AGRICOLA; ScienceDirect.

Wykorzystałam słowa kluczowe: stearoyl-CoA desaturase 1/ lipophagy / lipid droplets / lipotoxicity / neutral lipids/ phospholipids / pancreatic β cells.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że brak jest danych naukowych odnoszących się do komórkowych i molekularnych mechanizmów związanych z zależną od SCD1 biogenezą, kompozycją i regulacją metabolizmu kropli lipidowych dla funkcjonowania komórek β w stanie fizjologicznym i w cukrzycy typu 2.

Tematyka badań podjętych w projekcie doskonale wpisuje się światowe trendy w tej dziedzinie nauki. Pomimo zintensyfikowanych wysiłków wielu badaczy, cukrzyca typu 2 jako choroba wielosystemowa zdążyła już uzyskać miano pandemii. Otyłość i cukrzyca typu 2 to obecnie jedno z największych wyzwań stawianych zdrowiu publicznemu na całym świecie, zarówno pod względem ekonomicznym, jak i społecznym. Zrozumienie znaczenia SCD1 dla dynamiki procesów związanych z kształtowaniem i aktywnością kropli lipidowych w lipotoksyczności komórek β pozwoli wskazać na nowe cele terapeutyczne i farmakologiczne, służące przeciwdziałaniu dysfunkcji komórek β i leczeniu cukrzycy typu 2.

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 kompletu analiz oraz statystycznej wiarygodności wyników. Ponieważ efektywność procedury

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

izolacji wysp trzustkowych jest uzależniona od jakości przeprowadzenia perfuzji trzustki, natomiast dostępność materiału biologicznego jest ograniczona ze względu na postępujący efekt lipotoksyczności na komórki β trzustki, jak również fakt, iż krople lipidowe pod względem metrycznym są bardzo niewielkimi kompartmentami komórkowymi. Niemniej jednak, jeżeli uzyskamy odpowiednią ilość materiału do analiz już przy użyciu np. 10 myszy, to pozostałe zwierzęta nie zostaną wykorzystane.

W zaplanowanym projekcie istnieje wiele analiz, do których nie jest konieczne wykorzystanie zwierząt (m.in. badanie współwystępowania wybranych białek w komórkach, weryfikacja wewnątrzkomórkowego wbudowania znakowanego kwasu palmitynowego w specyficzne grupy lipidów; analiza biochemiczna mitochondriów), dlatego też zamiennie zostaną one wykonane w kulturze *in vitro* hodowli komórkowych INS-1E. **Należy zauważyć, iż przeprowadzenie ewentualnych analiz na modyfikowanych genetycznie lub chemicznie liniach komórkowych *in vitro* nie odzwierciedla pełnego tła metabolicznego organizmu, niezbędnego dla prawidłowego przebiegu procesów fizjologicznych i biochemicznych. Uzyskane w ten sposób wyniki mogą okazać się specyficzne wyłącznie dla testowanej linii komórkowej i nie reprezentować żadnych wartości aplikacyjnych dla eliminacji zespołu chorobowego w przyszłości.** Ponieważ celem projektowanych badań jest określenie roli jaką pełni SCD1 w patogenezie dysfunkcji komórek β *in vivo*, wykorzystanie zwierząt laboratoryjnych jest konieczne.