

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Ocena czynności motorycznej u myszy db/db z hiperglikemią

2. Czas trwania projektu: 01.09.2019 – 01.09.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): cukrzyca, hiperglikemia, czynność motoryczna

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): kategoria A. PB3 Układ nerwowy.

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.

Cel doświadczenia: Określenie czy u myszy db/db z hiperglikemią zmniejszona aktywność ruchowa jest związana ze zmianami w obrębie mózgdzku. Docelowo wyniki planowanych badań mogą przyczynić się do wyjaśnienia patogenezy zaburzeń ruchu w przebiegu cukrzycy typu 2.

U myszy db/db obserwuje się m.in.: nadmierne łaknienie, otyłość, zwiększone stężenie glukozy we krwi (hiperglikemię), a w konsekwencji cukrzycę typu 2. U zwierząt, które są wykorzystywane jako modele cukrzycy oraz u pacjentów z cukrzycą typu 2 stwierdza się gorszą koordynację i zmniejszoną aktywność ruchową.

Doświadczenie zostanie przeprowadzone na 32 myszach (GRUPA I – myszy db/db, GRUPA II – myszy kontrolne). Co tydzień, od 10 tyg. życia myszy będą ważone, co umożliwi monitorowanie ich kondycji. W celu potwierdzenia hiperglikemii u myszy db/db, co tydzień będzie wykonywany pomiar stężenia glukozy we krwi.

U połowy myszy w 14 tyg. życia (GRUPA IA i IIA), a u połowy w 19 tyg. życia (GRUPA IB i IIB) będą wykonane testy sprawdzające zachowanie i aktywność ruchową, aby ocenić różnice między grupami i w czasie:

1. splash test, sprawdzający występowanie zaburzeń depresyjnych;
2. open field test, oceniający aktywność ruchową i zachowania lękowe;
3. rotarod test, mierzący koordynację ruchową;
4. podnoszenie ciężarków, mające na celu pomiar siły mięśniowej;
5. walking test, oceniający koordynację chodu;
6. test chodzenia po drążkach, oceniający koordynację ruchową.

Po wykonaniu testów behawioralnych zwierzęta zostaną uśmiercone, w celu pobrania tkanek do dalszych badań. Mózdzek jest częścią mózgu, której funkcja polega na kontroli ruchu, dlatego w mózdkach myszy planowane jest określenie występowania białek odpowiedzialnych za plastyczność neuronalną (zdolność tworzenia nowych połączeń między komórkami nerwowymi).

Planuje się pobranie od myszy kropli krwi do oceny stężenia glukozy. W tym celu u myszy będzie odcięty koniuszek ogona, co może spowodować chwilowy dyskomfort. Powstała rana będzie niewielka, a po pobraniu krwi zostanie zabezpieczona środkiem antyseptycznym.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

32 myszy domowe

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując doświadczenie, sprawdzono aktualny stan wiedzy w zakresie objętym wnioskiem w bazach danych: PubMed, EBSCO, Google Scholar, Science Direct.

Wykorzystano słowa kluczowe: type 2 diabetes, hyperglycemia, db/db mice, BDNF, cerebellum, motor activity, behavior test

Na podstawie literatury stwierdzono, że:

Niedobory leptyny mogą być związane ze zmniejszeniem objętości mózdzku (Matochlik et al. 2005) oraz

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

nieprawidłową aktywnością niektórych typów komórek mózdkowych (Oldreive et al. 2008).

Kontrola ruchu – koordynacja, precyzja, napięcie mięśniowe, należy do kluczowych funkcji mózdku.

U pacjentów z cukrzycą typu 2 i hiperglikemią obserwuje się pogorszenie koordynacji i zmniejszoną aktywność ruchową. Wykazano, że u osób z cukrzycą typu 2 występuje zmniejszona ilość połączeń anatomicznych w obrębie mózdku i między mózdkiem a innymi strukturami ośrodkowego układu nerwowego (Fang et al. 2017).

W badaniach w modelu cukrzycy u szczurów wykazano, że rozwojowi cukrzycy towarzyszy zmniejszenie aktywności ruchowej i pogorszenie siły mięśniowej, a to związane jest ze zmianami morfologicznymi i molekularnymi w obrębie mózdku (Nagayach et al. 2014).

W zaburzeniach poznawczych i behawioralnych towarzyszących hiperglikemii obserwuje się w hipokampie zmniejszoną ilość niektórych białek odpowiedzialnych za tworzenie nowych połączeń między komórkami nerwowymi (Stranahan et al. 2009).

Wydaje się, że hiperglikemia i cukrzyca typu 2 mogą prowadzić do zmniejszenia ekspresji niektórych białek w mózdku oraz wiązać się z jego nieprawidłowym rozwojem i zaburzonymi czynnościami ruchowymi, które obserwuje się również u myszy db/db (Sharma et al. 2010).

Zasada zastąpienia

Badania przeprowadzone zostaną na najniższych uorganizowanych zwierzętach. Na podstawie literatury stwierdzono, że myszy db/db są jednym z najczęściej stosowanych modeli cukrzycy typu II u ludzi.

Zasada ograniczenia

Przyjęto najmniejszą liczbę zwierząt w grupie, która umożliwi wiarygodną analizę statystyczną.

Zasada udoskonalenia

Zwierzęta będą utrzymywane w sposób odpowiedni dla gatunku przez doświadczony personel i monitorowane przez lekarza weterynarii. Testy behawioralne zostaną wykonane przez osoby mające wieloletnie doświadczenie w pracy ze zwierzętami. Podjęte będą wszelkie starania, aby ograniczyć dyskomfort zwierząt. W przypadku zaobserwowania dyskomfortu czy powikłań, zwierzęta zostaną poddane wcześniejszej humanitarnej eutanazji. Myszy trzymane będą w klatkach po 4, aby umożliwić kontakt międzysobniczy poprawiający komfort zwierząt oraz zapewnić aktywność fizyczną. Zastosowane będzie wzbogacone środowisko, a żywienie będzie dostosowane do wieku i potrzeb zwierząt.

Piśmiennictwo:

Matochik JA, London ED, Yildiz BO, Ozata M, Caglayan S, DePaoli AM, Wong ML, Licinio J. Effect of leptin replacement on brain structure in genetically leptin-deficient adults. 2005, J Clin Endocrinol Metab. 90:2851-4

Oldreive CE, Harvey J, Doherty GH. Neurotrophic effects of leptin on cerebellar Purkinje but not granule neurons in vitro. 2008, Neurosci Lett. 438:17-21

Sharma AN, Elased KM, Garrett TL, Lucot JB. Neurobehavioral deficits in db/db diabetic mice. 2010, Physiol Behav. 101:381-8

Fang P, An J, Tan X, Zeng LL, Shen H, Qiu S, Hu D. Changes in the cerebellar and cerebro-cerebellar circuit in type 2 diabetes. 2017, Brain Res Bull. 130:95-100

Nagayach A, Patro N, Patro I. Experimentally induced diabetes causes glial activation, glutamate toxicity and cellular damage leading to changes in motor function. 2014, Front Cell Neurosci. 8:1-15

Stranahan AM, Lee K, Martin B, Maudsley S, Golden E, Cutler RG, Mattson MP. Voluntary exercise and caloric restriction enhance hippocampal dendritic spine density and BDNF levels in diabetic mice. 2009, Hippocampus.19:951-61

Komori T, Morikawa Y, Nanjo K, Senba E. Induction of brain-derived neurotrophic factor by leptin in the ventromedial hypothalamus. 2006, Neurosci. 139:1107-15

Deacon, R.M. Measuring the Strength of Mice. 2013, J Vis Exp. 76:e2610.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.