

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Opracowanie diety deficytowej w witaminę K dla gryzoni”
2. Czas trwania projektu: 12 miesięcy
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): myszy C57BL/6J, myszy apoE/LDLR^{-/-}, śródbłonek, deficyt witaminy K, dieta
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) 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.

Najnowsze badania donoszą, że działanie biologiczne różnych form witaminy K może być różne. Konieczne jest przeprowadzenie doświadczenia oceniającego wpływ działania pochodnych witaminy K na funkcje śródbłonna. Istnieje zatem potrzeba stworzenia optymalnego modelu genetyczno-żywieniowego wywołującego deficyt witaminy K przy zachowanych parametrach krzepnięcia krwi.

W tym celu przeprowadzone zostanie doświadczenie żywieniowe z udziałem myszy kontrolnych C57BL/6J oraz myszy zmodyfikowanych genetycznie apoE/LDLR^{-/-}. Zwierzęta będą żywione zmodyfikowanymi dietami: kontrolną, ryżową, sojową oraz dietą z antybiotykiem. Skład diet będzie opierał się na surowcach o najniższej zawartości witaminy K. Diety będą zawierały jako źródło tłuszczu olej słonecznikowy. Dieta ryżowa zostanie zmodyfikowana poprzez zastąpienie skrobi kukurydzianej ryżem i nasionami soi, dodatkowo zostanie obniżona

ilość kazeiny oraz zbilansowana ilość α -celulozy. W diecie sojowej źródłem białka będzie preparat białka sojowego. Na podstawie analizy zawartości witaminy K₁ i K₂ w dietach, zostanie wybrana dieta zawierająca najmniejszą ilość witaminy K₁. Dieta ta, będzie podawana dodatkowo z antybiotykiem, aby zminimalizować endogenną syntezę witaminy K w jelicie. W ramach eksperymentów *in vivo* zaplanowano: ocenę dystrybucji witaminy K w tkankach, parametrów biochemicznych krwi, ocenę dysfunkcji śródbłonna, ocenę generacji trombiny, ocenę histologiczną wielkości i składu blaszki miażdżycowej. Uzyskanie wyników z proponowanego projektu badawczego pozwoli na późniejsze określenie rodzaju oraz ilości witaminy K, mogących wspomagać prawidłowe funkcjonowanie układu krwionośnego. Wpłynie to zarówno na poszerzenie wiedzy teoretycznej w tym zakresie, jak i przyczyni się do bezpośredniego wykorzystania jej we wspomaganiu leczenia chorób układu krążenia. W związku z powyższym zaplanowane obecne badania muszą być wykonane na odpowiednim, przeznaczonym do tego celu modelu zwierzęcym.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Planowane doświadczenie zostanie wykonane przy użyciu zwierząt z gatunku mysz domowa C57BL/6J czterdzieści samic (n=40) oraz mysz domowa apoE/LDLR^{-/-} czterdzieści samic (n=40).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Myszy są jednym z podstawowych gatunków zwierząt modelowych, powszechnie stosowanych w badaniach mechanizmów i odpowiedzi organizmu na aplikowane substancje bioaktywne o potencjale prozdrowotnym. Myszy zmodyfikowane genetycznie są obecnie najlepszym i wiarygodnym zwierzęcym modelem miażdżycy stosowanym w badaniach nad funkcjami śródbłonna naczyniowego. U myszy apoE/LDLR^{-/-} blaszka miażdżycowa rozwija się spontanicznie, bez konieczności podawania diet aterogennych. Ponadto powstała blaszka jest strukturalnie podobna do zmian miażdżycowych rozwijających się u ludzi. Równolegle zostanie wykonane doświadczenie na myszach kontrolnych C57BL/6J.

Liczba zwierząt planowanych do użycia w doświadczeniu została określona na podstawie znajomości odchylenia standardowego wybranych parametrów, które zostało oszacowane na podstawie poprzednich doświadczeń oraz danych literaturowych. Czynności zaplanowane w doświadczeniu, według aktualnego stanu wiedzy, są możliwie

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

najmniej dotkliwe dla zwierząt.

W czasie trwania doświadczenia żywieniowego, zwierzęta przebywać będą w grupach, w klatkach wyłożonych specjalną ściółką dla zwierząt laboratoryjnych, w pomieszczeniu o kontrolowanej temperaturze (20-24°C) i wilgotności powietrza (55±10%), z 12-godzinnyim cyklem dnia i nocy. W klatkach zostaną użyte elementy wzbogacające środowisko bytowania (gryzaki i domki wypoczynkowe). Pomieszczenie, w którym przebywać będą zwierzęta, posiada wentylację mechaniczną z 17-krotnym cyklem wymiany powietrza w ciągu godziny. Zwierzęta będą miały nieograniczony dostęp do pożywienia oraz wody. Na podstawie wieloletniej praktyki wybrano dopuszczoną przez ustawodawcę metodę uśmiercenia, która pozwala na prawidłowe pobranie materiału biologicznego niezbędnego do analizy funkcji śródbłonka naczyniowego i zmian miażdżycowych. Niewykorzystane tkanki zostaną zabezpieczone (zamrożone -80°C) w celu ograniczenia wykorzystania zwierząt w przyszłości.

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.