

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: Ocena możliwości zastosowania wzbogaconego miąższu dyni (*Cucurbita L.*) w prewencji i wspomaganiu leczenia osteoporozy pomenopauzalnej

2.Czas trwania projektu: 06.01.2020-20.12.2021

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) owariektomia, wapń, dynia, alendronian, osteoporoza pomenopauzalna

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.

Osteoporoza jest poważną chorobą, w przebiegu której dochodzi do zmniejszenia gęstości tkanki kostnej, prowadzącej do wzrostu częstotliwości złamań, a w konsekwencji także do utraty zdolności samodzielnego poruszania się. Na całym świecie cierpi na nią ponad 200 mln ludzi, a szczególnie narażone na jej rozwój są kobiety w wieku postmenopauzalnym. Wyniki badań wskazują, że odpowiednio zbilansowana dieta może istotnie zmniejszyć ryzyko rozwoju osteoporozy. Szczególnie ważne jest spożywanie żywności funkcjonalnej, która zawiera zarówno wapń jak i karoteny oraz wiele innych aktywnych związków, które działają synergistycznie na metabolizm kości. Dlatego głównym celem badań jest sprawdzenie wpływu spożywania wzbogaconego miąższu dyni (*Cucurbita L.*) w związki wapnia na stan kośćca, a tym samym występowanie zmian osteoporotycznych w zwierzęcym modelu osteoporozy po menopauzie.

Aby osiągnąć cel badań u szczurów zostanie przeprowadzony zabieg owariektomii tj. zabieg obustronnego usunięcia jajników. Celem zabiegu jest zmniejszenie stężenia estrogenów w organizmie szczurów a niedobór estrogenów sprzyja rozwojowi osteoporozy. Następnie szczury zostaną podzielone

na 11 grup (po 10 zwierząt w grupie). Jedna grupa (kontrolna) będzie spożywała dietę pełnowartościową AIN 93M. Natomiast 10 grupom podawana będzie dieta deficytowa w wapń z różną kompozycją dodatków: 1) bez dodatków, 2) z dodatkiem niewzbogaconej dyni, 3) z dodatkiem dyni wzbogaconej w węglan wapnia, 4) z dodatkiem dyni wzbogaconej w mleczan wapnia, 5) z dodatkiem węglanu wapnia, 6) z dodatkiem mleczanu wapnia, 7) z dodatkiem bisfosfonianów oraz mleczanu wapnia, 8) z dodatkiem bisfosfonianów oraz węglanu wapnia, 9) z dodatkiem bisfosfonianów z dynią wzbogaconą w mleczan wapnia, 10) z dodatkiem bisfosfonianów z dynią wzbogaconą w węglan wapnia. Doświadczenie będzie trwało 12 tygodni, po zakończeniu którego, szczury zostaną poddane eutanazji przez dekapitację, pobrana zostanie krew oraz narządy wewnętrzne do analiz biochemicznych. W tkankach oznaczone zostanie stężenie wapnia, osteokalcyny, N-końcowego propeptydu prokolagenu typu I (PINP), parathormonu (PTH) i estradiolu (E2).

W doświadczeniu dynia zostanie wzbogacona w węglan i mleczan wapnia, gdyż są to związki o najlepszej i porównywalnej przyswajalności wapnia. W planowanym badaniu działanie wzbogaconej dyni zostanie porównane z alendronianem (bisfosfonian), który jest dobrze tolerowanym lekiem stosowanym w leczeniu osteoporozy po menopauzie oraz z powodzeniem stosowany w badaniach modelowych osteoporozy pomenopauzalnej.

Wykazanie korzyści wynikających ze spożywania dyni wzbogaconej w wapń będzie stanowić narzędzie pomocne w projektowaniu żywności o działaniu prozdrowotnym, stanowiącej ważny element profilaktyki i wspomagania leczenia osteoporozy, a tym samym ograniczenia wydatków na jej farmakologiczne leczenie.

Przewidywane szkody podczas proponowanego doświadczenia mogą wiązać się z dystresem zwierząt związanym z przeprowadzeniem ovariectomii, jednak wszystkie czynności w procedurze zostały zaplanowane z jak najmniejszą inwazyjnością. Szkodą dla zwierzęcia jest również jego śmierć.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

110 dorosłych szczurów wędrownych *Rattus norvegicus*, stado niekrewniacze Wistar (110 samic dojrzałych płciowo).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy dokonano przeglądu literatury w bazach danych i stwierdzono brak badań dotyczących wpływu wzbogaconej wapniem dyni na gospodarkę wapnia i metabolizm kostny. W projekcie uwzględniono zasadę 3R: zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia.

Zasada zastąpienia:

Z uwagi na podobieństwo fizjologiczne szczury są polecanym gatunkiem do badań żywieniowych. Badań żywieniowych nie można przeprowadzić w warunkach *in vitro*, dlatego nie można zastosować innej metody badawczej.

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

Zasada ograniczenia:

Liczba zaplanowanych zwierząt uwzględnia 10 zwierząt w każdej badanej grupie. Liczba zaplanowanych grup badawczych i liczby wykorzystywanych w nich zwierząt została ograniczona do poziomu niezbędnego, aby osiągnąć cel badania z zastosowaniem odpowiednich metod statystycznych przy uwzględnianiu zmienności występującej w populacji szczurów (ANOVA, testy post-hoc, istotność różnic na poziomie $p < 0,05$). Również dane literaturowe wskazują, że w doświadczeniach z wykorzystaniem badań modelowych osteoporozy pomenopauzalnej stosowano minimum 10 zwierząt w grupie (Jiang et al., *J. Oral. Pathol. Med.* 2016, doi:10.1111/jop.12499; Li et al., *Biosci Rep.* 2019, doi: 10.1042/BSR20191011; Guo et al., *Biosci Rep.* 2019, doi: 10.1042/BSR20190432). Liczba zwierząt została ograniczona do niezbędnej, aby osiągnąć rzetelne wyniki analiz statystycznych.

Wcześniej przeprowadzono badania in vitro, w których oceniono biodostępność wapnia z różnych związków organicznych i nieorganicznych i wybrano dwa do dalszej analizy (mleczan i węglan). Poza tym w badaniach in vitro analizowane są różne gatunki dyni wzbogacone w wapń i wybrany będzie jeden o najlepszych właściwościach po wzbogaceniu. Badania in vitro pozwalają zastosować minimalną ilość zwierząt w doświadczeniu.

Zasada udoskonalenia:

Zaplanowano metody minimalizujące ból, cierpienie i dystres zwierząt do minimum.

Wybrane procedury i czynności zakładają wykorzystanie najmniejszej liczby zwierząt, przy największym prawdopodobieństwie osiągnięcia planowanego wyniku.

Zwierzęta będą utrzymywane w odpowiednich warunkach temperatury i wilgotności. Osoby uczestniczące w eksperymencie są przeszkolone i mają duże doświadczenie w pracy ze zwierzętami. Zwierzęta będą spożywały paszę i wodę ad libitum.

Wzbogacona dynia, związki wapnia i leki będą podawane z paszą, aby zminimalizować stres zwierząt. Dawki stosowanych związków wapnia umożliwiają uzupełnienie niedoborów w organizmie, zarówno dawki związków wapnia jak i leków nie są toksyczne dla szczurów. W zabiegu owariektomii zostaną wykorzystane nici rozpuszczalne, aby wyeliminować stres związany z usuwaniem szwów.

Zwierzęta będą pod opieką weterynaryjną.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

X NIE

Sformatowano: Wcięcie: Z lewej: 0,63 cm, Bez punktów lub numeracji

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