

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

## 1. TYTUŁ PROJEKTU

**Ocena właściwości przeciwmiażdżycowych fermentowanej soi natto jako źródła długolącuchowych pochodnych witaminy K<sub>2</sub>**

## 2. CZAS TRWANIA PROJEKTU **24** miesiące

## 3. SŁOWA KLUCZOWE (maksymalnie 5 słów)

**witamina K<sub>2</sub>, menachinon, natto, miażdżycy, myszy ApoE/LDL<sup>-/-</sup>**

## 4. CEL PROJEKTU (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **A**

### **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.

Celem naukowym projektu jest określenie wpływu produktów żywnościowych będących źródłem witaminy K<sub>2</sub> na rozwój zmian miażdżycowych. W badaniu wykorzystana zostanie fermentowana soja natto, charakteryzująca się najwyższą zawartością witaminy K<sub>2</sub> spośród

produktów spożywczych. Planowane doświadczenie stanowi badania podstawowe w zakresie funkcjonowania układu sercowo-naczyniowego.

Termin witamina K odnosi się do grupy związków chemicznych, które ze względu na różnice strukturalne mogą wykazywać różne działanie biologiczne. W przypadku długołańcuchowych pochodnych witaminy K<sub>2</sub> wykazano pozytywny wpływ na procesy kalcyfikacji naczyń krwionośnych, często współtowarzyszące dysfunkcji śródbłónka i miażdżycy. Z tego względu zasadnym jest podjęcie badań oceniających wpływ witaminy K<sub>2</sub> na rozwój zmian miażdżycowych. W tym celu przeprowadzone zostanie doświadczenie żywieniowe z udziałem myszy ApoE/LDL<sup>-/-</sup>, żywionych dietami z dodatkiem natto, w ilości dostarczającej 0,03; 0,1; 1 mg/kg m.c./dobę witaminy K<sub>2</sub> oraz dietami zawierającymi równoważne ilości soi niefermentowanej (nie zawierającej witaminy K<sub>2</sub>).

Doświadczenie żywieniowe przeprowadzone zostanie na zwierzętach w wieku 4 miesięcy z rozwiniętymi zmianami miażdżycowymi.

Po zakończeniu wszystkich czynności eksperymentalnych, zwierzęta zostaną poddane eutanazji w celu pobrania tkanek i narządów do badań biochemicznych i histologicznych.

Znaczenie wyników powyższego projektu jest istotne m.in. ze względu na fakt, że obecne normy żywienia odnoszą się jedynie do witaminy K<sub>1</sub> i jej funkcji w regulowaniu krzepnięcia krwi, pomijając aktywność biologiczną witaminy K<sub>2</sub>. Kolejną przesłanką jest skala zachorowalności na choroby układu krążenia, które stanowią obecnie główną przyczynę zgonów na świecie.

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

**samice myszy ApoE/LDL<sup>-/-</sup>; liczba zwierząt: 70**

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Planując powyższe doświadczenie, dokonana została analiza dotychczasowej wiedzy literaturowej i eksperymentów naukowych dotyczących wpływu witaminy K<sub>2</sub> na funkcje śródbłónka i rozwój chorób układu krążenia w następujących bazach danych:

PUBMED, Google Scholar, Web of Science, Science Direct.

W poszukiwaniach wykorzystano następujące kluczowe słowa:

*witamina K<sub>2</sub>, menachinon, natto, miażdżycy, śródbłonek, myszy ApoE/LDL<sup>-/-</sup>*

Uzyskane dane literaturowe wskazują, że witamina K posiada właściwości wspomagające prawidłowe funkcjonowanie układu krwionośnego m.in. poprzez wpływ na procesy krzepnięcia

krwi oraz kalcyfikację naczyń krwionośnych. Brak jest jednak danych dotyczących wpływu witaminy K na rozwój zmian miażdżycowych.

Uzyskanie wyników z planowanego projektu badawczego pozwoli na określenie czy witamina K<sub>2</sub> może wspomagać prawidłowe funkcjonowanie układu krwionośnego. Wpłynie to zarówno na poszerzenie wiedzy teoretycznej w tym zakresie, jak i przyczyni się do bezpośredniego wykorzystania wiedzy we wspomaganiu leczenia chorób układu krążenia.

Wyniki powyższego doświadczenia będą wykorzystane do analizy wpływu witaminy K<sub>2</sub> na funkcje śródbłonna w odniesieniu do ludzi. Doświadczenie takie planuje się zrealizować w kolejnym etapie badań. W związku z powyższym planowane obecnie badania muszą być wykonane na odpowiednim, przeznaczonym do tego celu modelu zwierzęcym. Myszy ApoE/LDL<sup>-/-</sup> są obecnie najlepszym modelem zwierzęcym wykorzystywanym w tego typu badaniach. Zastosowanie tego modelu badawczego jest w pełni zgodne z **zasadą zastąpienia**.

Liczba zwierząt planowanych do użycia w doświadczeniu została określona na podstawie znajomości odchylenia standardowego wybranych parametrów, które zostało oszacowane na podstawie poprzednich doświadczeń (m. in. doświadczenia przeprowadzonego na podstawie zgody LKE nr 207/2015) oraz danych literaturowych. Wykorzystanie takiej liczby zwierząt ma na celu zminimalizowanie wpływu zmienności międzyosobniczej na wyniki planowanego badania, a także ograniczenie wystąpienia błędu I rodzaju. Liczba zwierząt planowanych do wykorzystania w powyższym eksperymencie jest optymalna dla uzyskania wiarygodnych wyników planowanych analiz wg **zasady ograniczenia**.

W powyższym doświadczeniu nie planuje się przeprowadzania czynności mogących wywołać u zwierząt dotkliwy ból czy dystres.

W celu złagodzenia u zwierząt stresu związanego z cotygodniowymi pomiarami masy ciała, przed eksperymentem zwierzęta będą stopniowo przyzwyczajane do obecności eksperymentatora oraz chwytania i przenoszenia.

Pobranie krwi z żyły ogonowej myszy jest najmniej inwazyjną i powszechnie stosowaną metodą pomiaru poziomu glukozy we krwi zwierząt laboratoryjnych. Czynność ta wykonana zostanie w osobnym, wyznaczonym do tego miejscu bezpośrednio przed eutanazją.

Uśmiercanie zwierząt laboratoryjnych ketaminą z ksylazyną jest dopuszczoną do stosowania przez ustawodawcę metodą. Na podstawie wieloletniej praktyki wybrano tą metodę uśmiercania. Pozwala ona na prawidłowe pobranie materiału biologicznego niezbędnego do analizy rozwoju zmian miażdżycowych przy jednoczesnym zminimalizowaniu stresu i bólu u badanych zwierząt. Uśmiercanie zwierząt odbędzie się pojedynczo, w osobnym, przeznaczonym do tego celu pomieszczeniu, czynność wykonana zostanie przez przeszkolone osoby z długoletnim stażem pracy.

Zgodnie z **zasadą udoskonalenia**, powyższe działania mają na celu zminimalizowanie lub całkowite wyeliminowanie odczuwania przez zwierzęta stresu, dystresu oraz bólu.