

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu Ocena wpływu syropu fruktozowo-glukozowego i nieutwardzonego rafinowanego tłuszczu palmowego na wybrane parametry metabolizmu węglowodanowo-lipidowego i płodność samic szczura.

1.Czas trwania projektu **2 lata: 01.08.2019-01.08.2021**

2.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): płodność, metabolizm węglowodanowo-lipidowy, samice szczura, HFCS, rafinowany nieutwardzony olej palmowy,

3.Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **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.

Cel naukowy: określenie wpływu diety zawierającej syrop fruktozowo-glukozowy (HFCS – High Fructose Corn Syrup) i nieutwardzony rafinowany tłuszcz palmowy na wybrane parametry metabolizmu węglowodanowo-lipidowego i płodność samic szczura.

Doświadczenie zostanie przeprowadzone na 40 trzymiesięcznych samicach szczura. Zwierzęta, po dwutygodniowym okresie kondycjonowania, zostaną podzielone na cztery grupy, żywione do woli granulowanymi paszami, zawierającymi syrop fruktozowo-glukozowy (w ilości 15% wartości energetycznej diety) i/lub nieutwardzony rafinowany tłuszcz palmowy (w ilości 8% energetycznej diety) (+grupa kontrolna żywiona paszą Labofeed B).

Modyfikacje składu pasz mają na celu odzwierciedlenie sposobu żywienia młodych kobiet.

Podczas trwania doświadczenia u zwierząt zostanie określona długość i regularność przebiegu cyklu płciowego. Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta zostaną poddane eutanazji przez przedawkowanie środka znieczulającego po uprzedniej sedacji. Następnie pobrane zostaną krew i tkanki. W osoczu krwi oznaczone zostaną stężenia hormonów płciowych, insuliny, glukozy, cholesterolu i triacylogliceroli. We krwi, wątrobie, macicy i jajniku oznaczona zostanie aktywność enzymów antyoksydacyjnych. Wykonane zostaną również badania histopatologiczne jajnika oraz składu chemicznego wątroby i mięśni.

Uzyskane wyniki pozwolą na odpowiedź, czy długotrwałe spożywanie niewielkich ilości HFCS i/lub

nieutwardzonego rafinowanego tłuszczu palmowego (popularnych składników diety), wywiera istotny wpływ na wybrane parametry metabolizmu węglowodanowo-lipidowego i płodność u samic szczura.

Przewidywane szkody, jakie doświadczenie może spowodować u wykorzystywanych zwierząt:

Planowane badania należą do badań podstawowych, a przewidywaną kategorię dotkliwości zakwalifikowano do kategorii umiarkowanej. Zwierzęta uczestniczące w badaniu mogą być narażone na krótkotrwały, umiarkowany ból i dystres, związane z pobieraniem wymazów z pochwy i zastosowaniem składników diety, które mogą wpłynąć na zwiększenie odkładania okołonarządowej tkanki tłuszczowej. W miejscu pobierania wymazów może (choć nie powinno) pojawić się zaczerwienienie i podrażnienie tkanki.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczur wędrowny (*Rattus Norvegicus*) stado niekrewniacze Wistar 40 osobników (samice)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem, w bazach danych: EBSCO; PUBMED; Google Scholar; AGRICOLA; ScienceDirect; Web of Science (JCR); Scopus.

Wykorzystano słowa kluczowe: rat, fertility, HFCS, palm oil, carbohydrate-lipid metabolism.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzono że:

A. Nadmierne spożycie cukrów dodanych (30% WED) i nasyconych kwasów tłuszczowych (40% WED) jest przyczyną zaburzeń metabolicznych i prowadzi do otyłości.

B. Brak jest danych dotyczących wpływu długotrwałego podawania mniejszych, typowych dla diety zachodnich społeczeństw, ilości HFCS (15% WED) i nieutwardzonego tłuszczu palmowego (8% WED) na metabolizm i płodność samic.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku określenia wpływu długotrwałego podawania mniejszych, typowych dla diety zachodnich społeczeństw, ilości HFCS i nieutwardzonego rafinowanego tłuszczu palmowego na wybrane parametry metabolizmu węglowodanowo-lipidowego i płodność samic.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy, polegające na doprecyzowaniu zaleceń żywieniowych i projektowanie żywności o składzie zmodyfikowanym zgodnie z tymi zaleceniami.

W trakcie przygotowania doświadczenia zastosowano się do zasad 3R (Replacement, Reduction, Refinement).

Replacement (zastąpienie/zastępowanie):

Zaplanowany szeroki zakres badań, obejmujący oznaczenia biochemiczne zachodzące w żywym organizmie oraz analizę tkanek, nie jest możliwy do przeprowadzenia *in vitro* na hodowlach komórkowych lub tkankowych lub *in silico* w postaci symulacji komputerowej, nie jest możliwe też zastąpienie szczurów zwierzętami o niższym stopniu ewolucji lub wprowadzenie modeli narządów. Zaplanowane badania nie mogą być także przeprowadzone metodami ankietowymi lub przyżyciowymi u ludzi. Spośród różnych zwierzęcych modeli doświadczalnych badania wykonywane z udziałem szczurów stad niekrewniaczych Wistar są wiarygodne, ponieważ te gryzonie dobrze odpowiadają na różne manipulacje dietetyczne, a przemiany metaboliczne składników odżywczych przebiegają u nich w sposób zbliżony do obserwowanego u człowieka. Możliwe jest też pobranie odpowiednich ilości tkanek do analiz

Reduction (zmniejszenie/ograniczenie):

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

Liczbę zwierząt w grupie ograniczono do ilości niezbędnej do uzyskania wiarygodnych wyników z uwzględnieniem zmienności osobniczej, szerokiego zakresu planowanych analiz oraz zróżnicowania oznaczanych parametrów - zaplanowano minimalną liczbę zwierząt, która umożliwi analizę statystyczną. Przedstawiane doświadczenie jest nowym projektem, dlatego brak jest wyników wstępnych, które ułatwiłyby oszacowanie zmienności osobniczej w zakresie ocenianych parametrów. Ustalając liczebność należy się więc oprzeć na ogólnych zaleceniach zapewniających wiarygodność statystyczną uzyskanych wyników, a z drugiej strony na zasadzie maksymalnego ograniczenia liczby zwierząt laboratoryjnych.

Do określenia liczebności próby wykorzystano:

1. narzędzie multimedialne ze strony: www.biomath.info. pozwalające wyliczyć niezbędną, najmniejszą liczbą osobników przy największym prawdopodobieństwie uzyskania wiarygodnych wyników

2. możliwości pakietu Statistica® - moduł Analiza mocy testu i estymacja przedziałowa, zakładając moc testu na poziome 0,8 (minimalną przyjętą w badaniach akceptowalną moc testu), poziom istotności 0,05, analiza Anova

3. wzór ogólny (podany przez Andryszek C., Martini-Fiwek J. w Zbiór zadań z zastosowań statystyki w medycynie. Łódź, 1997) na szacowanie wielkości próby $n = u_{\alpha}^2 / 4d^2$ (gdzie: u_{α} —dla rozkładu normalnego i $1-\alpha=0,95$ wynosi 1,96; d - założony błąd 20%) z redukcją liczby zwierząt o ponad 50%

4. aktualną literaturę naukową z zakresu wpływu składników diety na przemiany metaboliczne u szczurów, w której liczba zwierząt waha się od 6-8 dla szczepów wsobnych do 10-12 dla szczepów nie krewniaczych. Użycie mniejszej liczby zwierząt mogłoby spowodować niepowodzenie całego doświadczenia i konieczność jego powtórzenia.

Refinement (udoskonalenie):

Zgodnie z zasadą udoskonalenia, staramy się, zredukować dyskomfort, stres i ból u zwierząt. Dlatego zwierzęta będą przebywały w klatkach min. po 3 osobniki, wymazy z ujścia pochwy będą pobierane jałowym wacikiem (uzasadnione metodycznie w literaturze przedmiotu) zamiast pipetą z plastikową końcówką, jak wskazuje część metodyk. Ilości testowanych składników diety są typowe, zgodne z pobraniem ich przez ludzi (w przeliczeniu na kg masy ciała i udział w wartości energetycznej diety), nie będą też zmieniały akceptowalności sensorycznej paszy. W przypadku stwierdzenia nietypowego zachowania, podejrzenia odczuwania bólu lub cierpienia po konsultacji z lekarzem weterynarii niezwłocznie zastosowane zostaną odpowiednie środki farmakologiczne (Butorfanol).

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.