

## NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Opracowanie modelu *in vitro* ketozy żywieniowej
2. Czas trwania projektu: 02.01.2021 - 30.09.2024
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): dieta ketogeniczna, ketoza żywieniowa, ketogeneza *in vitro*, ciała ketonowe
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

Dieta ketogeniczna charakteryzuje się ograniczeniem spożycia węglowodanów oraz wzrostem spożycia tłuszczów, prowadząc do wzmożonej produkcji ciał ketonowych, będących dodatkowym substratem energetycznym dla organizmu. Od prawie stu lat jest ona wykorzystywana w terapii padaczki. Obecnie prowadzone są badania dotyczące wykorzystania diety ketogenicznej w terapii cukrzycy, otyłości, chorób neurologicznych (m. in. chorobie Alzheimera, chorobie Parkinsona, stwardnieniu zanikowym bocznym) oraz wspomagająco w leczeniu niektórych nowotworów.

W licznych badaniach zaobserwowano, że stosowanie diety ketogenicznej skutkuje obniżeniem czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w tym hiperglikemii, hiperlipidemii, hipercholesterolemii, nadciśnienia. Obserwuje się również działanie neuroprotekcje tej diety. Brak jest wystarczających danych pozwalających na wyjaśnienie mechanizmów warunkujących korzystne efekty tej diety. Ograniczenia stosowania diety ketogenicznej związane są z jej dużą uciążliwością dla użytkownika oraz brakiem wystarczającej liczby badań pozwalających ocenić potencjalne działania niepożądane związane z długookresowym stosowaniem tej diety.

Lepsze poznanie komórkowych i molekularnych mechanizmów leżących u podłoża działania diety ketogenicznej może przyczynić się do opracowania nowych terapii naśladujących efekt ketozy żywieniowej. Ponadto jest niezbędne dla zrozumienia podłoża potencjalnych działań niepożądanych związanych ze stosowaniem diety.

Aktualnie prowadzone badania mające na celu zgłębienie mechanizmów działania ketozy żywieniowej prowadzone są z użyciem zwierząt eksperymentalnych. Duża część tych badań prawdopodobnie może zostać przeprowadzana z użyciem modelu *in vitro*. Dotychczas nie opracowano modelu *in vitro* ketozy żywieniowej. Celem projektu jest opracowanie modelu służącego do badania mechanizmu działania diety ketogenicznej w warunkach hodowli komórek *in vitro*. Opracowany model może przyczynić się do poszerzenia wiedzy o

mechanizmach działania diety ketogenicznej przy jednoczesnej redukcji zwierząt eksperymentalnych, czasu i kapitału finansowego poniesionych na przeprowadzenie eksperymentów.

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

W doświadczeniu planuje się wykorzystać 90 dorosłych osobników z gatunku: mysz domowa (*Mus musculus*) szczep C57BL6

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Przygotowując projekt badawczy, Wnioskodawca sprawdził aktualny stan wiedzy w zakresie, który obejmuje cel naukowy badania w bazach danych naukowych: PUBMED; Google Scholar;

Wykorzystano następujące słowa kluczowe: ketogenic diet; ketogenic diet molecular mechanism, ketogenic diet in therapy, ketogenic diet *in vitro*; nutritional ketosis *in vitro*; ketogenesis *in vitro*, ketogenesis of primary hepatocytes;

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzono, że:

W ostatnich latach prowadzone są liczne badania oceniające skuteczność stosowania diety ketogenicznej w terapii różnych schorzeń w tym: otyłości, cukrzycy, niektórych chorób nowotworowych oraz chorób neurologicznych tj. choroby Alzheimera, choroby Parkinsona i stwardnienia zanikowego bocznego. W licznych badaniach zaobserwowano, że stosowanie diety ketogenicznej skutkuje obniżeniem czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w tym hiperglikemii, hiperlipidemii, hipercholesterolemii, nadciśnienia. Obserwuje się również działanie neuroprotekcje tej diety. Brak jest wystarczających danych pozwalających na wyjaśnienie mechanizmów warunkujących korzystne efekty tej diety. Ograniczenia stosowania diety ketogenicznej związane są z jej dużą uciążliwością dla użytkownika oraz brakiem wystarczającej liczby badań pozwalających ocenić potencjalne działania niepożądane związane z długookresowym stosowaniem tej diety.

Lepsze poznanie komórkowych i molekularnych mechanizmów leżących u podłoża działania diety ketogenicznej może przyczynić się do opracowania nowych terapii naśladujących efekt ketozy żywieniowej. Ponadto jest niezbędne dla zrozumienia podłoża potencjalnych działań niepożądanych związanych ze stosowaniem diety.

Aktualnie prowadzone badania mające na celu zgłębienie mechanizmów działania ketozy żywieniowej prowadzone są z użyciem zwierząt eksperymentalnych. Duża część tych badań prawdopodobnie może zostać przeprowadzana z użyciem modelu *in vitro*. Dotychczas nie opracowano modelu *in vitro* ketozy żywieniowej z zastosowaniem pierwotnych mysich hepatocytów.

### Zastąpienie

Autorzy proponowanego doświadczenia planują wykorzystać pierwotne hodowle hepatocytów do stymulacji produkcji ciał ketonowych a następnie przy użyciu pierwotnych komórek mięśniowych ocenić wpływ ketozy na szlaki metaboliczne tych komórek. Hodowle pierwotne pozwalają na dokładne odwzorowanie modelu *in vivo*, gdyż komórki niezbędne do ich założenia pozyskiwane są bezpośrednio ze zwierząt i nie są w żaden sposób

---

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

modyfikowane przed wyłożeniem na pożywkę. Pozwala to na zachowanie ich funkcji i właściwości fizjologicznych. W opisanym doświadczeniu nie mogą zostać użyte linie komórkowe hepatocytów, gdyż komercyjnie dostępne są jedynie linie unieśmiertelnione, głównie pochodzenia nowotworowego. Użycie takich linii najprawdopodobniej prowadziło do zmian w metabolizmie badanych komórek, co mogłoby prowadzić do mylnych interpretacji wyników. Co więcej modyfikacje niezbędne do immortalizacji linii komórkowych mogą prowadzić do zmiany fenotypu oraz genotypu komórek, a to związane może być z utratą właściwości fizjologicznych hepatocytów niezbędnych do przeprowadzenia proponowanego doświadczenia. Ponadto często poruszaną kwestią w badaniach z użyciem linii komórkowych jest ich kontaminacja innym rodzajem linii komórkowej lub mykoplazmą, co może mieć bezpośredni wpływ na uzyskane rezultaty, dlatego niezbędna jest weryfikacja tych wyników z użyciem pierwotnych komórek.

### Ograniczenie

W planowanych badaniach liczba wykorzystanych zwierząt została ograniczona do minimum pozwalającego na zrealizowanie zamierzonych celów. W badaniach zostanie wykorzystanych łącznie 90 dorosłych osobników do założenia pierwotnych hodowli hepatocytów i komórek mięśniowych. Taka liczba zwierząt jest niezbędna do opracowania modelu *in vitro* ketozy żywieniowej, przeprowadzenia badań w trzech powtórzeniach biologicznych oraz do przeprowadzenia testów statystycznych.

### Udoskonalenie

Doświadczenia zaplanowano z zastosowaniem metod, które pozwalają na uzyskanie wysokiej jakości wyników przy jednoczesnym ograniczeniu do minimum dystresu zwierząt. Zwierzęta wykorzystane w badaniach będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku zgodnie z przyjętymi zasadami obowiązującej dyrektywy 2010/63/EU. Wszelkie czynności związane z humanitarnym uśmierceniem będą wykonywane zgodnie z przyjętymi zasadami obowiązującej dyrektywy 2010/63/EU.

W przypadku pojawienia się alternatywnych modeli (zadowalających pod względem naukowym), zastąpią one modele zaplanowane w badaniu, z zastrzeżeniem, że nie będzie to miało wpływu na wiarygodność uzyskanych dotychczas wyników.

### 8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

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

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.