

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu

Wpływ diety z różnym poziomem witaminy K₁ na dystrybucję filochinonu i menachinonów w tkankach myszy ApoE/LDLR^{-/-} oraz C57BL/6J

2. Czas trwania projektu: 60 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) miażdżyca, witamina K, suplementacja, deficyt, dystrybucja

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

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.

Witamina K jest związkiem posiadającym wiele korzystnych dla zdrowia funkcji. Znany jest jej udział w procesie krzepnięcia krwi, jak i w zapobieganiu kalcyfikacji naczyń krwionośnych, co wspomaga prawidłowe funkcjonowanie układu naczyniowego. Jednakże, witamina K to grupa związków chemicznych, których działanie biologiczne może być różne.

Wstępne badania własne wykazały odmienną dystrybucję różnych form witaminy K w tkankach myszy C57BL/6J po zastosowaniu diety deficytowej w witaminę K₁. W dostępnej literaturze brak jest informacji nt. dystrybucji witaminy K zastosowanej w wysokich dawkach. Nie są dostępne również wyniki opisujące badane zjawisko u myszy miażdżycowych. Celem planowanych doświadczeń jest ocena dystrybucji filochinonu i menachinonów w tkankach modelowych zwierząt oraz wpływ na rozwój zmian miażdżycowych u myszy ApoE/LDLR^{-/-}.

Dwadzieścia myszy (n=20) C57BL/6J oraz czterdzieści myszy (n=40) ApoE/LDLR^{-/-} zostanie losowo przydzielonych do 6 grup doświadczalnych. Zwierzęta (samice) żywione będą zmodyfikowaną dietą z różnymi dawkami witaminy K₁. Po 5 i 10 tygodniach żywienia myszy zostaną poddane eutanazji.

W ramach eksperymentów *in vivo* zaplanowano m.in.: ocenę dystrybucji witaminy K w tkankach, analizę profilu lipidowego, morfologii krwi, aktywności enzymów wątrobowych, ocenę histologiczną wielkości i składu blaszki miażdżycowej. Uzyskanie wyników z proponowanego projektu badawczego pozwoli na 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 wiedzy we wspomaganiu leczenia chorób układu krążenia. Wyniki przeprowadzonych badań zostaną upowszechnione w postaci publikacji naukowych i stanowiąc będą podstawę do ewentualnych dalszych poszukiwań korzyści płynących z działania witaminy K.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa ApoE/LDLR^{-/-}, czterdzieści (n=40) myszy (samice)
Mysz domowa C57BL/6J, dwadzieścia (n=20) myszy (samice)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

W czasie planowania eksperymentu, dokonano przeglądu literatury dotyczącej tematyki suplementacji diet zwierząt witaminą K na organizm zwierzęcia oraz człowieka (bazy danych: PUBMED, Google Scholar, Web of Science, Science Direct, EBSCO, AGRICOLA). Wykorzystano następujące słowa kluczowe: miażdżycy, witamina K, suplementacja, deficyt, dystrybucja.

Na podstawie analizy literatury stwierdzono, iż dotychczas nie przeprowadzono kompleksowych badań dotyczących wpływu różnych dawek witaminy K na dystrybucję filochinonu i menachinonów w tkankach oraz rozwój miażdżycy.

Uwzględniając **zasadę zastąpienia** zdecydowano o wykorzystaniu myszy ApoE/LDLR^{-/-} w planowanych badaniach jako najlepszego i najbardziej wiarygodnego zwierzęcego modelu miażdżycy. Model badania *in vivo* nie może zostać zastąpiony przez techniki *in vitro*, gdyż tylko takie badania zapewniają możliwość wyjaśnienia skomplikowanych mechanizmów zachodzących w organizmie żywym. Według dostępnej obecnie wiedzy niemożliwe jest wykorzystanie do tego zwierząt o niższym stopniu rozwoju.

Liczba zwierząt planowanych do użycia w doświadczeniu została określona na podstawie znajomości odchylenia standardowego wybranych parametrów, które zostało oszacowane na podstawie

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

poprzednich doświadczeń 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 (**zasada ograniczenia**).

Kierując się **zasadą udoskonalenia** doświadczenie zostanie przeprowadzone przez wykwalifikowanych i doświadczonych naukowców, którzy standaryzowali stosowane metody badawcze. Doświadczenie zostanie przeprowadzone w sposób eliminujący lub, kiedy jest to niemożliwe, obniżający do minimum stres i ból u zwierząt. 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 ogólnie znaną i dopuszczoną do stosowania przez ustawodawcę metodą. Na podstawie wieloletniej praktyki wybrano tą metodę uśmiercania. Pozwala ona na prawidłowe pobranie materiału biologicznego niezbędnego do określenia zmian miażdżycowych. W celu ograniczenia stresu zwierzęcia planuje się zastosowanie poniższych metod łagodzących, tj. pomiar poziomu glukozy oraz uśmiercanie zwierząt będzie wykonywany pojedynczo, w osobnym, przeznaczonym do tego celu pomieszczeniu. W przekonaniu eksperymentatorów to wszystko sprawia, iż wszystkie zwierzęta w eksperymencie będą miały zapewniony odpowiedni dobrostan przez cały okres trwania badania. W klatkach zostaną użyte elementy wzbogacające środowisko bytowania. Jako wzbogacenie środowiska będzie zastosowany drewniany klocek/ materiał gniazdowy. Będą one wymieniane każdorazowo przy zmianie ściółki lub kiedy będą zniszczone.

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.