

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

## 1. TYTUŁ PROJEKTU

**Wpływ restrykcji kalorycznych na profil lipidowy (myszy C57BL/6) oraz rozwój zmian miażdżycowych (myszy ApoE/LDLr<sup>-/-</sup>) żywionych dietą standardową i aterogenną**

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

## 3. SŁOWA KLUCZOWE (maksymalnie 5 słów)

**restrykcje kaloryczne, miażdżyca, myszy C57, myszy ApoE/LDLr<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

Celem naukowym projektu jest określenie wpływu restrykcji kalorycznych (CR) na profil lipidowy (myszy C57BL/6J) oraz rozwój zmian miażdżycowych (myszy ApoE/LDLr<sup>-/-</sup>) żywionych standardową i aterogenną dietą. CR jest definiowana jako zmniejszenie spożycia, zazwyczaj o 30-40% w odniesieniu do żywienia ad libitum (AL), bez niedożywienia.

Zmiany miażdżycowe stanowią podstawę rozwoju chorób układu krążenia, które stanowią główną przyczynę zgonów na świecie. Nadmiar tkanki tłuszczowej, będący wynikiem dodatniego bilansu energetycznego, jest jednym z czynników ryzyka rozwoju miażdżycy. Publikacje naukowe wskazują że restrykcje kaloryczne mogą pozytywnie wpływać na długość życia zwierząt laboratoryjnych. Również dane epidemiologiczne wskazują iż długość życia jest negatywnie skorelowana z BMI.

W związku z pozytywnymi efektami wprowadzania restrykcji kalorycznych celowe wydaje się określenie ich wpływu na profil lipidowy oraz rozwój zmian miażdżycowych.

W tym celu planuje się przeprowadzenie doświadczenia żywieniowego z udziałem myszy C57BL/6J oraz ApoE/LDLr<sup>-/-</sup>. 2-miesięczne samce myszy C57BL/6J (n=36) oraz ApoE/LDLr<sup>-/-</sup> (n=36) zostaną losowo przydzielone do 6 równolicznych grup doświadczalnych:

- **Grupa 1 (AL.)** – grupa ad libitum żywiona do woli dietą standardową AIN 93G
- **Grupa 2 (sAL)** – grupa ad libitum poddana stresowi (dieta standardowa AIN 93G oraz stres związany z indywidualnym przetrzymaniem w klatkach)
- **Grupa 3 (CR)** – grupa restrykcji kalorycznej (CR) (dieta AIN 93G otrzymująca 30% mniej pożywienia w porównaniu do grupy AL).
- **Grupa 4 (AL<sub>ATH</sub>)** – grupa ad libitum żywiona dietą aterogenną
- **Grupa 5 (sAL<sub>ATH</sub>)** – grupa ad libitum poddana stresowi (dieta aterogenna oraz stres związany z indywidualnym przetrzymaniem w klatkach)
- **Grupa 6 (CR<sub>ATH</sub>)** – grupa restrykcji kalorycznej (CR) (dieta aterogenna otrzymująca 30% mniej pożywienia w porównaniu do grupy AL<sub>ATH</sub>)

W czasie trwania eksperymentu prowadzony będzie bilans spożycia diety. Pierwsza grupa będzie otrzymywać dietę ad libitum (bez ograniczeń). Druga będzie żywiona tak, jak grupa AL i dodatkowo będzie narażona na stres związany z indywidualnym trzymaniem zwierząt w klatkach. Jest to grupa kontrolna dla CR (grupy 3). Zwierzęta są trzymane indywidualnie w klatkach co może mieć wpływ na badane parametry. W grupie trzeciej zwierzęta będą otrzymywać 30% diety mniej w porównaniu do kontroli. Codziennie będą sprawdzane klatki pod względem niedojadów. Dodatkowo raz w tygodniu wykonywany będzie pomiar masy ciała zwierząt.

Po 8 tygodniach żywienia myszy poddane zostaną eutanazji w celu pobrania materiału biologicznego (serce, aorta, wątroba, BCA, nerki, tkanka tłuszczowa, krew) do dalszych analiz. Przed eutanazją zwierzęta będą głodzone przez 4 godziny w celu oznaczenia poziomu glukozy we krwi. Na pobranym materiale wykonane zostaną badania biochemiczne (m.in. profil lipidowy) i histologiczne.

Wyniki przeprowadzonych badań przyczynią się do ustalenia wpływu restrykcji kalorycznych na rozwój zmian miażdżycowych. Rezultaty zostaną upowszechnione w postaci publikacji naukowych.

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

**samce myszy ApoE/LDL<sup>-/-</sup> - liczba zwierząt: 36**

**samce myszy C57/BL6 - liczba zwierząt: 36**

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I

## UDOSKONALENIA

W czasie planowania eksperymentu, dokonano przeglądu literatury dotyczącej tematyki restrykcji kalorycznych (bazy danych: PUBMED, Google Scholar, Web of Science, Science Direct)

W poszukiwaniach wykorzystano następujące kluczowe słowa:

- restrykcje kaloryczne, miażdżyca, myszy C57, myszy ApoE/LDLr<sup>-/-</sup>,

Na podstawie analizy literatury stwierdzono iż nie przeprowadzono do tej pory badań nad wpływem restrykcji kalorycznych na rozwój zmian miażdżycowych. Są jedynie pojedyncze badania określające wpływ na profil lipidowy.

Uzyskane wyniki pozwolą na określenie wpływu restrykcji kalorycznych na rozwój zmian miażdżycowych.

Uwzględniając **zasadę zastąpienia** zdecydowano o wykorzystaniu myszy ApoE/LDLr<sup>-/-</sup> w planowanych badaniach, jako najlepszego i najbardziej wiarygodnego zwierzęcego modelu miażdżycy. Według dostępnej obecnie wiedzy niemożliwe jest wykorzystanie do tego zwierząt o niższym stopniu rozwoju. Myszy C57BL/6 są zwierzętami kontrolnymi.

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

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:

- pomiar poziomu glukozy oraz uśmiercanie zwierząt pojedynczo, w osobnym, przeznaczonym do tego celu pomieszczeniu