

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Badanie wpływu probiotyków produkujących witaminę K2 na procesy nowotworowe jelita grubego z wykorzystaniem modelu zwierzęcego.

2. Czas trwania projektu: 36 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): vitaminum K2, colorectal cancer

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): F

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.

Wiadomo jest, że zmiany w prawidłowym składzie jelitowej flory bakteryjnej muszą prowadzić do deregulacji wielu procesów zachodzących w świetle jelita, włączając w to również procesy, które doprowadzają do wywołania nowotworów. Do substancji wytwarzanych przez bakterie przewodu pokarmowego należą m.in. witaminy z grupy K2. Przewiduje się, że ze względu na obecność w budowie chemicznej witaminy K2 pierścienia chinonu (czyli grupy funkcjonalnej występującej również w wielu chemioterapeutykach) może być stosowana w prewencji, a nawet w leczeniu wybranych chorób nowotworowych. Wydaje się to wręcz niemożliwe, a jednak w oparciu o wstępne badania na ludzkich liniach nowotworowych żołądka i wątroby wykazano takie działanie jednego z syntetycznego homologa K2-MK4. Stosunkowo mało poznanym jest inny homolog K2-MK7, który w największej ilości syntetyzowany jest naturalnie przez bakterie. Obecnie w oparciu o myszy model raka jelita grubego planowane jest porównanie przeciwzapalnego i antynowotworowego działania syntetycznej formy K2-MK7 podanej drogą doustną, w stosunku do pofermentacyjnego ekstraktu zawierającego największe ilości naturalnej formy K2-MK7 wraz z probiotycznymi bakteriami przeprowadzającymi ten proces fermentacji. W tym celu planuje się wywołać guzy okrężnicy u myszy, którym przez okres 20 tygodni będzie podawana naturalna oraz syntetyczna witamina K2-MK7. Po tym okresie zwierzęta zostaną poddane eutanazji, aby przeprowadzić szczegółowe badania pośmiertne. Zaobserwowane zmiany w obrazie klinicznym i histopatologicznym jelita grubego pozwolą odpowiedzieć na pytanie: czy u zwierząt zaobserwuje się

antynowotworowe działanie witaminy K2-MK7 oraz czy będą istniały biologiczne różnice pomiędzy syntetyczną, a naturalną formą K2-MK7. Odpowiedź na te pytania jest w chwili obecnej bardzo istotna, gdyż obserwuje się lawinowy wzrost ilości spożywanej syntetycznej formy witaminy K2-MK7.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa, 75 szt.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazie danych Web of Science (JCR) oraz PUBMED.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na ocenę wpływu fermentowanych produktów probiotycznych syntetyzujących witaminę K2 MK7 na rozwój nowotworów jelita grubego.

Zasada zastąpienia. Uwzględniając zasadę zastąpienia zdecydowano o wykorzystaniu w planowanym doświadczeniu myszy jako uznanego, popularnego i wiarygodnego modelu zwierzęcego do badań nad nowotworami jelita grubego. W czasie całego projektu, przed opisanym doświadczeniem przy użyciu modelu zwierzęcego, zostało wykonanych szereg doświadczeń na komórkach nowotworowych *in vitro*. Jednak procesy nowotworzenia, a także związane z nimi działania profilaktyczne i lecznicze są bardzo złożone i trudno jest całkowicie odtworzyć *in vitro* warunki, jakie panują wewnątrz organizmu. Dlatego badania te zostały zaplanowane, kiedy nasza wiedza dotycząca roli konkretnych szczepów probiotycznych produkujących witaminę K2 MK7 i ich wpływu na komórki nowotworowe jest już bardzo zaawansowana. Doświadczenie to pozwoli na przetestowanie takich suplementacji w naturalnych warunkach panujących w organizmie zwierzęcia.

Zasada Ograniczenia. Przeprowadzono analizę liczebności próby na podstawie dostępnej literatury, w której opisywano myszy model wywoływania nowotworu jelita grubego. Ustalono maksymalną liczebność grupy na 15 zwierząt. Taka liczba zwierząt w grupie opisana jest w tego typu badaniach naukowych i okazała się być właściwa w tego typu badaniach.

Zasada Udoskonalenia. Ze względu na dobrostan zwierząt, przez cały okres doświadczenia myszy przebywać będą w standardowych klatkach, wyłożonych ściółką i ze wzbogaceniem środowiska bytowania. Dodatkowo zwierzęta będą oswajane, poprzez wcześniej zastosowany „handling”. Przed zaplanowaniem opisanego doświadczenia przy użyciu modelu zwierzęcego zostało przeprowadzonych szereg doświadczeń na hodowlach tkankowych. Dla linii komórkowych nabłonka jelitowego oraz linii makrofagów przeprowadzono testy, w których badano biologiczną zależność pomiędzy częstością występowania określonego homologu witaminy K2, a zjawiskiem apoptozy, nekrozy oraz procesu zapalnego. Przebieg doświadczenia zaplanowano tak, aby ograniczyć stres i dyskomfort odczuwany przez zwierzęta. Procedury na zwierzętach przeprowadzane będą przez osoby doświadczone, do których zwierzęta zostały wcześniej przyzwyczajone. Wszystkie procedury wykonywane będą w osobnym, przygotowanym do tego celu pomieszczeniu. Zwierzęta nie będą niepokojone ponad niezbędną konieczność, procedury zostały tak zaplanowane, aby maksymalnie skrócić czas ich trwania. W przypadku jakichkolwiek oznak bólu, zwierzęciu będzie podawany lek przeciwbólowy.

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

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.