

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu: Wpływ bioaktywnych związków izolowanych z mleka i matrycy białkowo-tłuszczowej na: procesy fizjologiczne, mikrobiom oraz biodostępność m.in. związków mineralnych w kontekście zmiany w strukturze tkanki kostnej szczura

1. Czas trwania projektu 01.10.2019-28.02.2022

2. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): dodatki funkcjonalne, mikrobiom, biodostępność, szczur

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

Konsekwencją zmieniających się trendów i nawyków żywieniowych jest wzrost zachorowalności na nowotwory oraz choroby dietozależne choroby metaboliczne, tj.: cukrzyca, hipercholesterolemia czy miażdżyca. W wielu opracowaniach naukowych wykazano, że mleko jest źródłem wielu bioaktywnych składników o prozdrowotnym działaniu.

Celem nadrzędnym projektu jest wyizolowanie i modyfikacja substancji bioaktywnych izolowanych z mleka. W celu ograniczenia ilości wykorzystywanych zwierząt wyizolowane i poddane modyfikacji substancje bioaktywne następnie poddane zostaną ocenie właściwości bioaktywnych z wykorzystaniem modeli *in silico* i *in vitro*. Celem naukowym badań będzie ocena 4 wybranych, we wcześniejszym etapie, składników bioaktywnych na: odpowiedź fizjologiczną organizmu, ze szczególnym uwzględnieniem układu pokarmowego, zmiany mikrobiomu treści jelita oraz biodostępność białka i związków mineralnych.

Konsekwencją realizacji badań z wykorzystaniem modeli *in vivo* z wykorzystaniem szczurów laboratoryjnych będzie lepsze poznanie mechanizmów oraz wyjaśnienie w jaki sposób pochodne laktozy, białek mleka i otoczki kuleczek tłuszczowych wpływają na parametry metaboliczne szczurów. Uzyskane wyniki będą miały również duże znaczenie poznawcze i skutkować będą istotnym poszerzeniem wiedzy w dyscyplinie technologia żywności i żywienie.

W badaniu żywieniowym obejmującym także okres bilansowy, szczury laboratoryjne będą żywione półsyntetycznymi dietami doświadczalnymi o ściśle określonym składzie. W grupach doświadczalnych, ze względu na dodatek składników

funkcjonalnych, dieta zostanie ponownie przeliczona celem uzyskania takiej samej proporcji białka i tłuszczu co w diecie kontrolnej. Zwierzęta biorące udział w doświadczeniu nie będą narażone na żadne szkody związane z oddziaływaniem substancji szkodliwych. Dieta tych zwierząt wzbogacona będzie o pochodne składników naturalnie występujących w mleku. Ponadto, pomimo podstawowego charakteru zaplanowanych badań będą one mogły stanowić wstęp do opracowywania nowych produktów przydatnych w profilaktyce dietozależnych chorób metabolicznych.

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

Szczur wędrowny, *Rattus norvegicus*, stado niekrewniacze Wistar, 72 samców.

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

Zgodnie z art. 4 Dyrektywy 2010/63/EU oraz art. 5 ust. 1 Ustawy z dnia 15 stycznia 2015 r. o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych: ochrona zwierząt podczas doświadczenia będzie zgodna z zasadami 3R (zmniejszenia, zastąpienia, udoskonalenia).

**zasada zmniejszenia** została spełniona poprzez następujące działania:

Z uwagi na realizację doświadczenia z wykorzystaniem żywych zwierząt laboratoryjnych jak również, aby uniknąć realizacji badań, które zostały już wcześniej wykonane i dobrze udokumentowane, **przed przystąpieniem do badań *in vivo* dokonano szczegółowej analizy bazy danych** (EBSCO; PUBMED; Google Scholar; AGRICOLA; ScienceDirect; Web of Science (JCR); HighWire; Springer; Wiley Online Library; DeGruyter) w zakresie przewidzianej do realizacji tematyki. **W procesie szukania wykorzystano następujące słowa kluczowe:** milk protein, protein milk-fat-globule membran, lactose, interaction, food ingredient, microbiome, digestion, nutrition-related chronic diseases, enzymatic modification, pro-health properties, metabolism, absorption, bioavailability, absorption interactions, gastrointestinal tract, Wistar rat.

\*W obliczeniach zostanie wykorzystana odpowiednia metoda statystyczna, m.in. dwuczynnikowa analiza wariancji oraz odpowiedni test post-hoc. Liczba zwierząt w grupie eksperymentalnej została określona z uwzględnieniem minimalnej liczby biorąc pod uwagę zastosowane podejście statystyczne (wieloczynnikowa ANOVA).

\*Dodatki, które zostaną wykorzystane jako składniki diet dla szczurów, są wystarczająco scharakteryzowane pod względem składu chemicznego, co pozwoli na uzyskanie zakładanego udziału w diecie biologicznie aktywnych składników. W związku z powyższym nie będzie konieczności powtarzania eksperymentu ze względu na złe zbilansowanie diety. Żadne zwierzę laboratoryjne nie będzie zatem zmarnowane powodu niedociągnięć na etapie planowania badań.

\*W planowanych badaniach zostały wykorzystane wyniki wcześniejszych badań własnych z wykorzystaniem produktów mleczarskich wzbogaconych w beta-glukany czy inulinę.

**zasada zastąpienia** została spełniona poprzez następujące działania:

\*Dotychczasowy stan wiedzy na temat tego typu badań pozwala na stwierdzenie, że wybór metod badawczych jest adekwatny do osiągnięcia zamierzonego celu i umożliwia otrzymanie wiarygodnych ze statystycznego punktu widzenia wyników (*Praktyczne aspekty szacowania liczebności próby w badaniach empirycznych – Janusz Wątroba, StatSoft Polska Sp. z o.o.*). Należy wyjaśnić, że warunkiem przyjęcia do druku pracy naukowej prezentującej wyniki tego typu badań do czasopisma o zasięgu światowym (tj. z indeksowanego w bazie JCR) jest ich uzyskanie w co najmniej dwóch niezależnych eksperymentach (powtarzalność wyników).

\*W pierwszym etapie badań aktywność biologiczna oraz wpływ pochodnych laktozy i białek mleka czy białek otoczek kuleczek tłuszczowych na biodostępność białka czy związków mineralnych oceniona zostanie z wykorzystaniem w pierwszej kolejności z wykorzystaniem modeli *in silico* a następnie *in vitro* (z wykorzystaniem linii komórkowych Caco-2). Uzyskana

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

w ten sposób wiedza skutkować będzie wybraniem konkretnego składnika oraz jego stężenia, zapewniającego jak najlepszą aktywność biologiczną oraz biodostępność. Jednakże wykorzystanie linii komórkowych czy też innych modeli *in vitro* związane jest z ograniczeniami i nie dostarczy pełnych informacji dotyczących wpływu wytworzonych, innowacyjnych składników diet na metabolizm organizmów wyższych. Z tych względów, testy *in vivo* są niezbędnym etapem badań.

**zasada udoskonalenia** została spełniona poprzez następujące działania:

\*Zgodnie z tą zasadą dokonano wyboru procedur i czynności, które skutkować będą otrzymaniem zakładanego efektu badawczego przy zapewnieniu minimalnego stresu oraz cierpienia badanych zwierząt.

\*Wcześniej realizowane badania z wykorzystaniem suplementacji diety standardowej żelami mlecznymi z polisacharydami nie wykazało pojawienia się cierpienia czy poważnych działań niepożądanych.

\*Zwierzęta będą utrzymywane w nowoczesnej zwierzętarni z kontrolowanymi warunkami środowiskowymi (temperatura  $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , wilgotność względna około 45-65%, wymiana powietrza  $20 \times / \text{h}$ , 12 h dnia i nocy) ze stałym dostępem do wody i diet doświadczalnych.

\*Od momentu urodzenia, zwierzęta są przyzwyczajane do ręki człowieka, tak aby następne manipulacje przysparzały jak najmniejszy poziom stresu.

\*Wszelkie czynności związane z anestezją i humanitarnym uśmiercaniem będą wykonywane zgodnie z przyjętymi zasadami obowiązującej Dyrektywy 2010/63/EU, przez przeszkolone osoby z długoletnim stażem pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi.

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.