

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Wpływ kompleksów błonnikowo-fenolowych diety o zróżnicowanych właściwościach fizyko-chemicznych na aktywność metaboliczną mikrobioty jelitowej szczura

2. Czas trwania projektu 02.05.2020-01.05.2024

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) mikrobiota jelitowa, aktywność enzymatyczna bakterii, fenole, błonnik pokarmowy, szczur

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) A Badania podstawowe

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.

Badania podstawowe (A) kategoria obejmująca wiele układów. Celem badań na szczurach laboratoryjnych (Wistar Cmdb:Wi samce; niezmienione genetycznie; urodzone na terenie UE) jest poznanie mechanizmów uwalniania enzymów z komórek bakteryjnych i związanych z tą aktywnością efektów formowania i poziomu wchłaniania metabolitów związków fenolowych z jelita grubego na skutek spożywania diety zawierającej kompleksy błonnikowo-fenolowe. Badane kompleksy błonnikowo-fenolowe będą zróżnicowane pod względem właściwości fizyko-chemicznych (błonnik rozpuszczalny i nierozpuszczalny; fenole o różnej wielkości cząsteczki charakteryzowanej stopniem polimeryzacji). Aktywność enzymatyczna mikrobioty jelitowej jest zazwyczaj niedostatecznie charakteryzowana bez określenia aktywności wewnątrz- i zewnątrzkomórkowej poszczególnych enzymów oraz czy jest to spowodowane zmianami ilościowymi, jakościowymi i/lub metabolicznymi bakterii. W badaniu żywieniowym (**procedura 1**) szczury laboratoryjne będą otrzymywały diety zróżnicowane pod względem typu błonnika (nierozpuszczalny, rozpuszczalny), typu fenoli (różny stopień polimeryzacji), oraz typu kompleksu błonnikowo-fenolowego. Wcześniejsze badania własne i innych zespołów* wykazały istotny wpływ zmiany składu diety na aktywność całkowitą i zewnątrzkomórkową enzymów bakteryjnych, w tym enzymów potencjalnie szkodliwych. W proponowanych badaniach, obok odpowiedzi fizjologicznej organizmu (m.in. analiza poziomu metabolitów fenolowych we krwi, tkankach i płynach ustrojowych), szczególny nacisk będzie położony na szybkość zmian profilu genetycznego i metabolicznego mikrobioty jelitowej pod wpływem zróżnicowania składu spożytej diety.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczur wędrowny, *Rattus norvegicus*, stado niekrewniacze Wistar, 192 samców.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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:

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

- przed przystąpieniem do badań in vivo na żywych zwierzętach laboratoryjnych dogłębnie przestudiowano literaturę naukową celem określenia tematyki i celów, których osiągnięcie poszerzy naszą wiedzę. Nie zostaną zatem powtórzone wcześniej wykonane i dobrze udokumentowane doświadczenia.

- 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).

- preparaty, 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. Nie będzie zatem potrzeby powtarzania doświadczenia z powodu nieodpowiedniego składu diety eksperymentalnej. Żadne zwierzę laboratoryjne nie będzie zatem zmarnowane powodu niedociągnięć na etapie planowania badań.

- w planowanych badaniach zostały wykorzystane wyniki wcześniejszych badań własnych z wykorzystaniem typów błonnika pokarmowego oraz związków polifenolowych.

Zasada zastąpienia została spełniona poprzez następujące działania:

- dostępne testy in vitro nie pozwalają właściwie ocenić wpływu składników diet na metabolizm organizmów wyższych. Z tych względów testy in vivo są niezbędnym etapem badań. Jednakże, na etapie planowania doświadczenia obszerny przegląd literatury dostarczył informacji, które źródła błonnika i polifenoli mają szansę dać wiarygodne wyniki.

Zasada udoskonalenia została spełniona poprzez następujące działania:

- zgodnie z tą zasadą dokonano wyboru procedur i czynności, które przynosząc zakładany efekt badawczy przysporzą zwierzętom jak najmniej stresu i cierpienia.

- nasze wcześniejsze badanie z użyciem różnych źródeł błonnika, polifenoli 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 $15 \times/h$, 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 najmniej 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.

- za wyjątkiem krótkiego okresu badania bilansowego, zwierzęta będą miały zapewnione urozmaicone warunki bytowania (zabawki, gryzaki, schowki), zgodnie z załącznikiem III Dyrektywy 2010/63/EU.

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.