

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Wpływ suplementacji probiotykiem na rozwój choroby zwyrodnieniowej stawów....
2. Czas trwania projektu28.02.2021-30.01.2026.....
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów)probiotyk, *Lactobacillus*, układ kostny, mikroflora przewodu pokarmowego, artroza.....
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

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.

Mikroorganizmy zasiedlające przewód pokarmowy wpływają na prawidłowy metabolizm tkanki kostnej. Prowadzone badania wykazały, że suplementacja probiotykiem wpływa w istotny sposób na BMD oraz właściwości kości beleczkowej. Jednak jak dotąd nie ma informacji, czy zmiany w mikrośrodowisku jelit wpływają a jeśli tak to w jaki sposób na metabolizm tkanki chrzęstnej.

Dlatego celem doświadczenia jest sprawdzenia czy suplementacja probiotykiem zawierającym mieszaninę trzech szczepów bakterii z rodzaju *Lactobacillus* oraz wit. D wpłynie w istotny sposób na tkankę chrzęstną oraz przyczyni się do zahamowania rozwoju choroby zwyrodnieniowej stawów.

Do doświadczenia wykorzystane będą 32 samce szczurów stada Wistar o wadze 250-300g, które losowa podzielone zostaną na 4 grupy:

Grupa 1 – grupa kontrolna + placebo

Grupa 2 – grupa kontrolna + probiotyk

Grupa 3 – grupa eksperymentalna + placebo

Grupa 4 – grupa eksperymentalna + probiotyk

Po procesie aklimatyzacji w dniu zero dniu w przypadku zwierząt z grupy 1 i 2 do lewego stawu kolanowego zostanie podana sól fizjologiczna w ilości 50μl. W przypadku pozostałych osobników z grupy 3 i 4 do lewego stawu kolanowego podany będzie 0,3 mg octan monojowy (MIA), który zostanie rozcieńczony w 50μl soli fizjologicznej, w celu wywołania w tym stawie choroby zwyrodnieniowej.

Zwierzęta codziennie będą ważone. Także ilość pobranej paszy i wody będzie codziennie kontrolowana. Po 7 tygodniach zwierzęta zostaną uśmiercone. Po zakończeniu tej czynności od wszystkich zwierząt zostaną pobrane tkanki oraz krew.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W eksperymencie wykorzystane będą 32 dorosłe szczury wędrowne stada Wistar płci męskiej, które zostaną podzielone na 4 grupy.

Eksperyment zostanie przeprowadzony z wykorzystaniem szczurów wędrownych stada Wistar. Ten gatunek gryzoni jest popularnym modelem zwierzęcym wykorzystywanym, w celu oceny wpływu różnych czynników doświadczalnych np. odpowiedniego żywienia czy suplementacji, na rozwoju artrozy. Szczury wykorzystuje się zarówno w modelach chirurgicznego jak i chemicznego wywołania choroby zwyrodnieniowej stawów. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że każda badana grupa doświadczalna powinna się składać z 8 osobników. Taka liczba osobników w grupie badawczej umożliwia wykonanie prawidłowej analizy statycznej wyników uzyskanych w trakcie doświadczenia.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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

W trakcie opracowywania projektu doświadczenia sprawdzono dostępne informacje związane z tym eksperymentem.

Sprowadzono następujące bazy danych: PubMed, Veb of Science, Google Scholar.

W trakcie poszukiwania wyżej wymienionych baz danych wykorzystano następujące słowa kluczowe: probiotics, *Lactobacillus*, gastrointestinal microflora, bone tissue, cartilage tissue, osteoporosis, osteoarthritis, model of inducing osteoarthritis, Monosodium acetate, rats.

Na przestrzeni ostatnich lat popularne stały się badania związanych z wpływem mikroflory jelit na organizm gospodarza, w tym także na układ kostny. Jednak należy zwrócić uwagę na fakt, że badania z tej tematyki są prowadzone od niedawna i nie ma pełnych informacji, w jaki sposób zmiany w mikrośrodku przewodu pokarmowego będą oddziaływać na procesy metaboliczne zachodzące w tkankach podporowych. Obecnie dostępną literaturę podaje, że suplementacji probiotykami zawierającymi różne bakterie probiotyczne, w tym bakterie z rodzaju *Lactobacillus* w istotny sposób wpływa na BMD oraz właściwości kości gąbczastej. Badania z wykorzystaniem zwierząt doświadczalnych w tym szczurów oraz myszy, u których wywoływano osteoporozę poprzez ovariectomię pokazują, że suplementacja probiotyki w pozytywny sposób oddziałuje na hamowanie rozwoju osteoporozy. Jednak brak jest szczególnych informacji. Nie ma wyników badania pokazujących, czy zmiany w mikrośrodku jelit wpływają na właściwości materiałowe kości, ich strukturę kolagenową. Brak jest także informacji na temat, czy zmiany w homeostazie przewodu pokarmowego spowodowane suplementacją probiotykami wpływają na metabolizm tkanki chrzęstnej. Tym bardziej nie ma wyników badań, które pokazują, w jaki sposób wpłynie suplementacja probiotykiem na rozwój choroby zwyrodnieniowej stawów. Dostępne są jedynie prace poglądowe, które zawierają informację, że zaburzenia w mikrośrodku jelit mogą właśnie, w istotny sposób wpłynąć na tkankę chrzęstną. Planowane doświadczenie dostarczy właśnie informacji na ten temat. Dlatego celem badania jest sprawdzenia czy suplementacja probiotykiem zawierającym mieszaninę trzech szczepów bakterii z rodzaju *Lactobacillus* wpłynie w istotny sposób na tkankę chrzęstną oraz przyczyni się do zahamowania rozwoju choroby zwyrodnieniowej stawów.

Uzyskane wyniki z zaplanowanego eksperymentu pozwolą między innymi na:

- poszerzenie wiedzy na temat wpływu suplementacji probiotykiem na układ kostny, a w szczególności na zdobycie wiedzy czy probiotyki wpływają na tkankę chrzęstną oraz rozwój choroby zwyrodnieniowej

stawów ponieważ, w obecnie dostępnej literaturze nie ma takich informacji,

- uzyskane wyniki badań posłużą jako badania wstępne do oceny czy probiotyki mogą być stosowane w praktyce klinicznej jako suplementy zapobiegające lub hamujące proces zwyrodnienia chrząstki stawowej.

W planowanym doświadczeniu zostały uwzględnione zasady zastąpienia, ograniczenia oraz udoskonalania (3R):

1. Zasada zastąpienia:

Zastąpienie zwierząt doświadczalnych w tym badaniu nie jest możliwe, ponieważ metody eksperymentalne *in vitro*, w których nie wykorzystuje się zwierząt, nie pozwolą na:

- wykonanie planowanych procedur, które przyczynia się do uzyskania odpowiednich wyników,
- na ocenę czy metoda indukowania choroby zwyrodnieniowej stawów z planowanym stężeniem MIA jest odpowiednia do tego typu badań,
- na ocenę czy badany probiotyk wpływa zarówno na metabolizm tkanki kostnej i chrzęstnej, oraz czy przyczynia się do hamowania degradacji chrząstki stawowej, która związana jest z rozwojem choroby zwyrodnieniowej stawów.

Dostępna informacje pokazują, że szczury stanowią odpowiedni model do tego typu doświadczeń.

2. Zasada ograniczenia:

Z zastosowaniem zasady ograniczenia liczba zwierząt wykorzystanych w planowanym doświadczeniu została ograniczona do minimum. Przeprowadzono badanie statystyczne z wykorzystaniem analizy mocy testu, która wykazała, że minimalna liczba osobników w każdej grupie to 8. Tak wielkość grup jest niezbędna do umożliwić przeprowadzenie poprawnej, rzetelnej i wiarygodnej analizy statystycznej uzyskanych wyników w trakcie eksperymentu.

3. Zasada udoskonalenia:

Wykorzystane zwierzęta doświadczalne będą utrzymywane w warunkach środowiskowych odpowiednich dla swojego gatunku. Środowisko zwierząt, w którym będą one utrzymywane zostanie

urozmaicone o domki i klocki drewniane, w celu umożliwia im przejawianie właściwego dla tego gatunku zwierząt behawioru. Przed wykonaniem każdej procedury zostanie zastosowany handling, który polega na przyzwyczajaniu zwierząt do zapachu i dotyku osób, które będą uczestniczy w eksperymencie oraz będą przeprowadzały zaplanowane procedury. Planowane procedury będą przeprowadzane sprawnie, tak aby jak najbardziej ograniczyć stres zwierząt związany z planowanym badaniem. W trakcie doświadczenia nie będą stosowane żadne leki przeciwbólowe, ze względu na ocenę postępowania rozwoju choroby zwyrodnieniowej stawów.

Wszystkie planowane czynności będą przeprowadzone przez osoby przeszkolone, które posiadają doświadczenie w pracy ze zwierzętami, aby zminimalizować stres, ból oraz cierpienie zwierząt. Wykorzystane w doświadczeniu zwierzęta będą pod stałą kontrolą lekarza weterynarii.

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.