

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Modulacja przewlekłych procesów zapalnych indukowanych procesami dysbiozy**
2. Czas trwania projektu: **01.09.2020 – 30.09.2025**
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **dysbioza, nieswoiste przewlekłe zapalenia jelit, mikrobiom jelitowy**
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): **kategoria B, badania translacyjne lub stosowane**
  - 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.

Dolegliwości towarzyszące przewlekłym stanom zapalnym jelit stają się coraz bardziej powszechne, znacznie obniżając komfort życia pacjentów, a coraz więcej badań wskazuje, że utrzymujące się zaburzenia mikrobioty jelit i towarzyszący temu stan zapalny mogą prowadzić do szeregu innych schorzeń takich jak obniżenie odporności, cukrzyca, czy depresja.

Stosowane obecnie terapie stanów zapalnych jelit wywołanych dysbiozą bazują na aminowych pochodnych salicylanów, glikokortykosteroidach, immunomodulatorach i inhibitorach TNF- $\alpha$ , ale efekty lecznicze są umiarkowane i obarczone szeregiem działań ubocznych.

**Celem naukowym planowanego doświadczenia** jest pozyskanie danych na temat efektywności działania: surowców biologicznych wyselekcjonowanych z pączków topoli, olejków eterycznych z koszyczków rumianku oraz liści mięty pieprzowej jako potencjalnych nowych terapeutyków w leczeniu dysbiozy jelit.

Dotychczas nie prowadzono badań nad wpływem wymienionych czynnych substancji roślinnych na florę jelitową i stany zapalne jelit.

Realizacja projektu stwarza szanse na opracowanie nowej skutecznej terapii opartej na substancjach pochodzenia roślinnego, nie obarczonej działaniami ubocznymi – oczekuje się, że potencjalne skutki uboczne będą niwelowane m.in. dzięki aktywności antyoksydacyjnej badanych związków.

W związku z powyższym jednoznacznie można założyć, że korzyści, jakie badanie przyniesie dla rozwoju medycyny (rozwój nowych terapii) znacznie przewyższą szkody, jakich doznają zaangażowane do doświadczenia zwierzęta.

Opisywany w przedkładanym wniosku eksperyment zaplanowany został na 110 samcach myszy domowej – szczepu wsobnego C57BL/6. Zwierzętom będą podawane substancje badane, po uprzednim wygenerowaniu u nich chronicznego nieżytu jelit. Preparaty podawane będą raz dziennie, codziennie przez okres 21 – 29\* dni. W trakcie badania będą pobierane próbki stolca i moczu. Wydaliny będą sukcesywnie przekazywane analiz. Po przeprowadzeniu doświadczenia zwierzęta zostaną uśmiercone, a ich tkanki pozyskane do dalszych badań.

\* Dokładna długość czasu podawania preparatów będzie znana po zakończeniu fazy badań *in vitro*.

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

110 osobników - mysz domowa (*Mus musculus*), szczep wsobny C57BL/6

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

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: PUBMED, Science Direct, ClinicalTrials.gov, EBSCO.

**Wykorzystałam słowa kluczowe:** dysbiosis, gut microbial dysbiosis, gut microbiota, ulcerative colitis, inflammatory bowel disease, animal model of IBD (ang. inflammatory bowel disease), metabolic pathways of IBD, concentration of: MMPs (ang. matrix metalloproteinases), TIMPs (ang. tissue inhibitors of metalloproteinases), TNF- $\alpha$ , (ang. Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ ), TL (ang. T lymphocyte), NOS (ang. Nitric oxide synthases) in intestinal epithelial cells, galangin, pinocembrin, pinostrobin, tektochrisin.

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

**Na podstawie istniejącej literatury stwierdzam,** że dane literaturowe z ostatnich lat wskazują na korzystne działanie niektórych flawonoidów w modelach stanów zapalnych indukowanych dysbiozą poprzez ich wpływ na wiele szlaków sygnalizacyjnych oraz zwiększanie liczby bakterii probiotycznych w mikrobiocie. Związki te występują w pączkach topoli będących bardzo bogatym źródłem związków flawonoidowych, szczególnie flawonoli i flawanonów i mogą być skuteczne w leczeniu stanów zapalnych jelit.

**Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie,** że patomechanizm rozwoju dysbiozy i powiązanych z nią niespecyficznych, chronicznych nieżytów jelit jest bardzo złożony i obejmuje wiele szlaków sygnalizacyjnych, które pomimo szeroko zakrojonych badań wciąż nie zostały do końca wyjaśnione. Obecnie w leczeniu stanów zapalnych jelit wywołanych dysbiozą stosowane są aminowe pochodne salicylanów, glikokortykosteroidy, immunomodulatory i inhibitory TNF- $\alpha$ , ale uzyskuje się jedynie umiarkowane efekty lecznicze, obarczone szeregiem działań ubocznych. Dowiedziono natomiast, że przywrócenie bądź przekształcenie stosunku bakterii w mikrobiomie na korzyść szczepów probiotycznych może zapobiegać i leczyć stany zapalne jelit. Wiadomo, że w regulacji składu mikrobiomu ważną rolę odgrywa dieta, więc w prewencji tego schorzenia poszukuje się naturalnych surowców o właściwościach przeciwzapalnych i przeciwbakteryjnych wobec szczepów patogennych. Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na wytypowanie wyselekcjonowanych związków do dalszych badań. Projekt zwiększa szansę na opracowanie bezpiecznej dla pacjentów terapii przewlekłych stanów zapalnych jelit powiązanych z dysbiozą. Wykorzystanie substancji roślinnych jako potencjalnych terapeutyków w leczeniu ww. schorzeń stwarza nowe możliwości opracowania terapii nie obciążonej działaniami ubocznymi, które mogą być niwelowane m.in. dzięki aktywności antyoksydacyjnej tych związków.

#### **Uwzględnienie zasad 3R (zastąpienie, ograniczenie i udoskonalenie):**

##### **Zasada ograniczenia:**

1. Redukcja ogólnej ilości zwierząt biorących udział w eksperymencie do wymaganego statystycznie minimum (na podstawie lektury przedmiotu oraz szacunkowej analizy statystycznej wykonanej na etapie planowania procedury), zapewniającego uzyskanie powtarzalnych wyników.
2. Dobór efektywnego modelu zwierzęcego. Chemiczny model przewlekłego stanu zapalnego jelit, wygenerowany na przedstawicielach szczepu C57BL/6 poprzez cykliczne podawanie kilkuprocentowego roztworu dekstranu siarczanu sodu (DSS) jest dobrze scharakteryzowany i powszechnie stosowany w celu m.in. oceny wpływu ksenobiotyków na stan zapalny jelit oraz bakteryjną mikroflorę jelitową.
3. Wykonanie pilotażu w celu ewaluacji efektywności chemicznego generowania przewlekłego nieżytu jelit u myszy szczepu C57BL/6 pochodzących z hodowli własnej TAZD – CBU GUMed pozwoli na zdobycie niezbędnych informacji w oparciu o działanie angażujące niewielką grupę zwierząt (20 osobników) i ewentualne odstępnie od działania na większej ilości zwierząt jeśli wyniki wstępnego badania okażą się niesatysfakcjonujące.
4. Wykonanie doświadczenia przez wysoko wykwalifikowany personel zminimalizuje ryzyko ewentualnego powtarzania procedury *in vivo*, a także zapewni właściwe traktowanie myszy w trakcie

eksperymentu.

**Zasada zastąpienia:** zastąpienie zwierząt jakimikolwiek metodami in vitro, ex vivo lub in silico nie jest możliwe na obecnym etapie rozwoju wiedzy, ze względu na złożoność procesów fizjopatologicznych, interakcji metabolicznych oraz odpowiedzi immunologicznej zachodzących w żywym organizmie kręgowca. Jak dotąd nie opracowano jakichkolwiek innych „niezwierzęcych” modeli badawczych, gwarantujących realną możliwość adekwatnego odwzorowania złożoności procesów, które wygenerować mogą procedury:

- chemicznego indukowania dysbiozy i przewlekłego nieżytu jelit u myszy domowej,
- leczenia zwierząt nowymi substancjami o potencjalnym działaniu przeciwzapalnym.

**Zasada doskonalenia:**

1. Wykonanie doświadczenia przez wysoko wykwalifikowany zespół, w tym podjęcie decyzji o przeprowadzeniu eksperymentu w TAZD – CBU GUMed.

Jednostka dysponuje nowoczesną infrastrukturą zapewniającą zwierzętom odpowiednie warunki bytowe, zgodne z wytycznymi Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 20/63/UE oraz ustawy z dnia 15 stycznia 2015 roku o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych. Wykwalifikowany, dbający o stałe podnoszenie kwalifikacji personel zwierzętarni oraz wysoko specjalistyczny sprzęt pozostający na wyposażeniu jednostki stanowi dodatkową gwarancję wysokiej jakości pracy.

2. Zastosowanie nowoczesnych metod statystycznych do opracowania uzyskanych wyników.

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.