

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „Wpływ zwiększonej podaży donorów grup metylowych w diecie i dodatku produkujących je bakterii probiotycznych na epigenetyczne mechanizmy regulujące rozwój zapalenia okrężnicy – badania modelowe na świniach”

2. Czas trwania projektu: 01.01.2021 – 31.12.2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): zapalenie jelita, świnia, metylacja DNA, witamina B₁₂, kwas foliowy

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.

Nieswoiste zapalenia jelita (choroba Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie okrężnicy) rozwijają się w wyniku złożonych oddziaływań czynników genetycznych, środowiskowych i mikrobioty jelitowej. U osób chorych występują niedobory składników pokarmowych takich jak witamina B₁₂ i kwas foliowy, które uczestniczą w metabolizmie grup metylowych. Odpowiedni poziom tych witamin w diecie może być kluczowy dla rozwoju zapalenia, gdyż wpływają one na strukturę DNA w komórkach. Witaminy te uczestniczą w biochemicznych szlakach modyfikacji struktury DNA (metylacji) i mogą wpływać na hamowanie ekspresji genów białek prozapalnych. Witamina B₁₂ i kwas foliowy są obecne w różnych pokarmach i suplementach diety, ale są też produkowane przez niektóre z probiotycznych bakterii, np. *Bifidobacterium bifidum* i *Lactobacillus reuteri*. Do tej pory nie wyjaśniono jednak wpływu tych witamin w diecie oraz probiotyków, które je syntetyzują, na łagodzenie stanu zapalnego w jelicie.

Celem badań będzie określenie wpływu zwiększonej podaży witaminy B₁₂ i kwasu foliowego w diecie oraz diety z dodatkiem syntetyzujących je bakterii (*Bifidobacterium bifidum* i *Lactobacillus reuteri*) na mechanizmy rozwoju zapalenia jelita u świń jako zwierząt modelowych.

Przeprowadzenie doświadczenia pozwoli na wyjaśnienie przeciwzapalnego działania tych witamin i probiotyków. Wyniki doświadczenia będą mogły zostać w przyszłości wykorzystane w medycynie i terapii nieswoistych zapaleń jelita.

Procedura wywołania zapalenia okrężnicy zostanie przeprowadzona tak, aby ograniczyć do minimum stres i cierpienie zwierząt. Doświadczenie może jednak spowodować u wykorzystywanych zwierząt szkody takie jak stres wynikający z odsadzenia od matek, zmiany warunków środowiska i zmiany paszy. Ten rodzaj stresu związany jest z zakupem prosiąt, jest normalny dla hodowli trzody chlewnej i podlegają mu wszystkie hodowane świnię. Procedura wywołania stanu zapalnego okrężnicy może również wywołać u zwierząt stres wynikający z konieczności schwywania, zważenia i wykonania iniekcji środków anestetycznych, a także szkody wynikające z rozwoju zapalenia. Rozwój zapalenia może spowodować u świń pogorszenie samopoczucia, osłabienie apetytu, apatię, tkliwość jamy brzusznej, wystąpienie biegunek lub zaparć, wystąpienie wymiotów oraz gorączkę. Objawy te zwykle występują po dłuższym czasie, gdy choroba jest bardzo zaawansowana. W związku z tym jest mało prawdopodobne, aby wystąpiły w czasie 7 dni od indukcji zapalenia do uśmiercenia zwierząt w celu pobrania krwi, narządów i treści pokarmowej do badań. Okres ten jest jednak wystarczający do tego, aby zaszyły zmiany na poziomie molekularnym i morfologicznym charakterystyczne dla zapalenia okrężnicy. Uśmiercenie jest również szkodą dla zwierzęcia, ale jest konieczne do tego, żeby można było pobrać próby do badań i nie narażać zwierząt na możliwość trwałego uszkodzenia organizmu.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Zaplanowano doświadczenie na **32 świniaach domowych**, mieszańcach dwurasowych Danbred x Duroc, podzielonych na 4 grupy po 8 zwierząt w każdej.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

ZASTĄPIENIE

Nie można zastosować metody badawczej zapewniającej osiągnięcie celu bez wykorzystania zwierząt. Nieswoiste zapalenie jelita charakteryzuje się m.in. zaburzeniami funkcjonowania układu immunologicznego jelita, patologicznymi zmianami morfologii oraz naciekiem neutrofili i makrofagów. Niemożliwe jest więc przeprowadzenie badań nad wpływem składników pokarmu na mechanizmy modulujące rozwój choroby, zachodzące zarówno w komórkach nabłonkowych jelita jak i w komórkach układu odpornościowego bez wykorzystania zwierząt.

OGRANICZENIE

Indywidualne utrzymanie świń w kojcach, dzięki możliwości dokładnego określenia ilości pobieranej paszy, pozwoli na zmniejszenie do niezbędnego minimum liczby zwierząt potrzebnych do wykonania doświadczenia. W doświadczeniach, w których czynnikiem doświadczalnym jest żywienie, spożycie paszy jest jednym z najważniejszych parametrów zootechnicznych poddawanych analizie statystycznej. Wpływa ono w największym stopniu na efektywność działania czynnika doświadczalnego, w związku z czym powinno być dokładnie określone. Liczebność grupy wynosząca 8 zwierząt zapewni odpowiednią precyzję analizy statystycznej. W przypadku spożycia paszy, utrzymywanie świń, np. parami w kojcach uniemożliwiłoby określenie ilości paszy pobranej przez każdą ze świń, ale przede wszystkim znacznie obniżyłoby precyzję analizy statystycznej, gdyż liczebność grupy zostałaby ograniczona do 4 kójców (kojec, a nie zwierzę, byłby jednostką doświadczalną). W celu zapewnienia odpowiedniej precyzji analizy, a tym samym wnioskowania, przy utrzymywaniu świń parami w kojcach należałoby więc zwiększyć liczbę zwierząt do 16 w każdej grupie (64 w całym doświadczeniu), co byłoby wbrew zasadzie ograniczenia. Liczebność zwierząt zostanie ograniczona do 32 świń w całym doświadczeniu również dzięki minimalizacji zmienności. Wszystkie zwierzęta będą pochodziły od jednego hodowcy, będą tej samej płci i rasy, w tym samym wieku i o podobnej masie ciała. W czasie doświadczenia świnię będą również utrzymywane w takich samych warunkach otoczenia.

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

DOSKONALENIE

W czasie doświadczenia świnię będą utrzymywane w odpowiednich dla nich warunkach, w zmodernizowanych pomieszczeniach. Indywidualne utrzymanie w kojcach zapewni każdemu zwierzęciu większą powierzchnię życiową oraz kontakt wzrokowy, słuchowy i dotykowy z innymi osobnikami. Taki sposób utrzymania świń ułatwi jednocześnie analizę statystyczną uzyskanych wyników oraz sformułowanie właściwych wniosków na ich podstawie. Metody badawcze zostały dobrane tak, żeby ograniczyć do minimum ból, cierpienie, dystres oraz możliwość trwałego uszkodzenia organizmu. W procedurze wywołania zapalenia okrężnicy zostaną użyte odpowiednie dla gatunku środki anestetyczne. Do wywołania stanu zapalnego z dostępnej literatury wybrano procedurę najlepszą z punktu widzenia dobrostanu zwierząt. W związku z planowaną procedurą chemicznej indukcji zapalenia okrężnicy, przez cały okres doświadczenia stan zdrowia zwierząt będzie codziennie monitorowany przez doświadczonego lekarza weterynarii. Stan zdrowia i samopoczucie świń oceniane będą na podstawie takich kryteriów jak: zachowanie (apatia, witalność), apetyt, występowanie odruchu wymiotnego, częstość oddawania kału, jakość kału (normalny, luźny, biegunka, krew w kale, śluz w kale), wynik badania palpacyjnego jamy brzusznej (tkliwość), stopień odwodnienia i temperatura ciała. Ze względu na stres związany z pomiarem temperatury ciała w odbycie, spowodowany koniecznością schwywania i unieruchomienia zwierzęcia, będzie ona mierzona tylko w sytuacji wyraźnego pogorszenia stanu zdrowia, tzn. gdy świnia będzie apatyczna, nie będzie miała apetytu i wystąpi biegunka lub zaparcie. W sytuacji gdy temperatura ciała przekroczy 39°C (norma dla świń), zwierzęciu zostanie podany lek przeciwgorączkowy i przeciwbólowy – paracetamol, 30 mg/kg masy ciała). Przy wystąpieniu zaparć świniom zostanie podana parafina ciekła lub czopki glicerynowe, natomiast w sytuacji biegunek zastosowany zostanie węgiel leczniczy, a okolice odbytu będą smarowane kremem Sudocrem przeciw odparzeniom. Na wymioty zastosowany zostanie lek przeciwwymiotny – metoklopramid (0,5 mg/kg masy ciała).

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.