

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Wpływ mikroflory jelitowej na rozwój nadciśnienia u szczurów”.

2. Czas trwania projektu 1.08.2018 – 1.08.2023

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) transplantacja kału, mikroflora jelitowa, metabolity bakteryjne, nadciśnienie tętnicze, choroby sercowo-naczyniowe

4. 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.

Celem projektu jest zbadanie czy przeszczepienie kału wpływa na zmiany ciśnienia tętniczego u szczurów. Badanie zostanie przeprowadzone na szczurach z prawidłowym ciśnieniem tętniczym krwi szczepu Wistar Kyoto (WKY) oraz na szczurach spontanicznie rozwijających nadciśnienie tętnicze (SHR).

Przeszczepienie mikroflory jelitowej, choć przez znaczną część społeczeństwa uznawane za kontrowersyjne budzi coraz większe zainteresowanie lekarzy w kontekście leczenia aktualnie występujących schorzeń m.in. infekcji *C. difficile*. W ostatnich latach, coraz więcej danych sugeruje, że homeostaza ssaków zależy od wzajemnych powiązań z bakteriami jelitowymi. Stwierdzono, że choroby metaboliczne i sercowo-naczyniowe, w tym nadciśnienie, są związane z dysbiozą mikroflory jelitowej.

Badanie obejmuje farmakologiczną indukcję nadciśnienia tętniczego u szczurów szczepu WKY, a następnie przeszczepienie kału szczurom normo i hipertensyjnym. W kolejnym etapie dokonana zostanie ocena zmiany ciśnienia tętniczego krwi po przeszczepieniu kału od szczurów szczepu WKY lub SHR szczurom normo i hipertensyjnym. Dokonywany będzie ciągły pomiar ciśnienia tętniczego krwi z wykorzystaniem zestawu telemetrycznego.

Proponowany projekt przyczyni się do uzyskania wiedzy na temat roli bakterii jelitowych i ich metabolitów w mechanizmach regulujących ciśnienie tętnicze krwi. Ponadto zdobyta wiedza może wykazać nowe metody terapii nadciśnienia tętniczego.

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

Badanie zostanie przeprowadzone na 64 szczurach, w tym na:

40 samcach szczurów z prawidłowym ciśnieniem tętniczym krwi – szczep Wistar Kyoto (WKY)

24 samcach szczurów spontanicznie rozwijających nadciśnienie tętnicze - szczep Spontaneously Hypertensive Rats (SHR)

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

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono dostępną wiedzę na temat mikroflory jelitowej i przeszczepienia kału na regulację układu krążenia i rozwój nadciśnienia tętniczego w następujących bazach danych: Google Scholar, PubMed, Web of Science.

Wykorzystano następujące słowa kluczowe: gut dysbiosis, fecal microbial transplantation, hypertension

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie,

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że: przeszczepienie mikroflory jelitowej stało się opcją terapeutyczną w leczeniu chorób (infekcje *C. difficile*,). Przeszczepienie mikroflory jelitowej (fecal microbiota transplantation, FMT) polega na wprowadzeniu zawiesiny kału pochodzącej od zdrowego dawcy do przewodu pokarmowego osoby chorej. W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie tą metodą leczenia, głównie ze względu na wzrost zakażeń o etiologii *Clostridium difficile* (*Clostridium difficile* infection, CDI) oraz coraz lepsze poznanie mikrobiomu człowieka, korzystnie wpływającego na zdrowie organizmu gospodarza.

Istnieje niewielka liczba badań, które łączą zaburzenia homeostazy mikroflory jelitowej z rozwojem nadciśnienia tętniczego. W badaniach eksperymentalnych istnieje niewiele doniesień na temat przeszczepień kału od szczurów hipertensyjnych szczurom normotensyjnym i odwrotnie oraz ich wpływu na zmiany ciśnienia tętniczego krwi. Do tej pory tylko dwie prace oceniały tę kwestię. Jednakże uzyskane wyniki są niejednoznaczne, a czas pomiarów hemodynamicznych był raczej krótki (7-20 dni). Ponadto eksperymenty przeprowadzono na unikalnych zwierzęcych modelach nadciśnienia (w szczurzym modelu obturacyjnego bezdechu sennego (OBS) i nadciśnieniu zależnym od soli), podczas gdy nie ma badań opublikowanych w modelu SHR i BHR/WKY, które są powszechnie stosowane jako modele nadciśnienia tętniczego i granicznego nadciśnienia tętniczego u ludzi.

B. Brak jest jednoznacznych danych dotyczących wpływu przeszczepienia mikroflory jelitowej na rozwój nadciśnienia tętniczego. Zastosowane modele badawcze pozwolą na długoterminowy pomiar ciśnienia tętniczego

---

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

krwi, a ponadto przeprowadzone badania genomiczne kału pozwolą na scharakteryzowanie różnic w składzie bakterii jelitowych pomiędzy dawcą i biorcą.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy na temat roli bakterii jelitowych i ich metabolitów w patogenezie rozwoju nadciśnienia tętniczego.

B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegającej na możliwości zastosowania przeszczepienia mikroflory jelitowej jako potencjalnej metody leczenia nadciśnienia tętniczego.

### **Replacement – Zastąpienie:**

Szczur jest modelem najlepszym dla wyżej opisanych badań. Badane zjawiska są wypadkową współdziałania wielu narządów, tkanek oraz hormonów, dlatego też niemożliwe jest zastosowanie metod alternatywnych tj. hodowle komórkowe, tkankowe. Nie jest możliwe również zastąpienie opisanego modelu zwierzętami o niższym rozwoju ewolucyjnym ze względu na różnice: anatomiczne dużych naczyń oraz fizjologiczne w reakcjach na podawane substancje, których efekty działania u innych grup organizmów niż ssaki nie mogą być w pełni odnoszone do uzyskiwanych u ludzi. Ponadto optymalna jest wielkość zwierząt i możliwość wykonywania zabiegów na naczyniach krwionośnych.

W niniejszym badaniu wykorzystane zostaną 2 szczepy szczurów: WKY – szczury normotensyjne, oraz SHR – szczury hipertensyjne.

Szczur wędrowny jest najczęściej używanym zwierzęciem laboratoryjnym w badaniach z zakresu kardiologii eksperymentalnej, dlatego uzyskane wyniki będzie można łatwo zweryfikować, odnieść do innych badań i wyciągnąć jak najpełniejsze wnioski.

### **Reduction - Ograniczenie:**

Oszacowana liczba zwierząt w grupie będzie wynosiła osiem ( $n=8$ ). Liczba 8 zwierząt dla pomiarów hemodynamicznych została określona na podstawie następujących zakładanych parametrów: różnica pomiędzy badanymi (grupami) 15 mmHg, średnie ciśnienie dla całej populacji 100 mmHg, wspólne odchylenie standardowe 8 mmHg, dla błędu alfa 0,05, moc testu 0,8 (kalkulator statystyczny <http://clincalc.com/stats/samplesize.aspx>).

Jeszcze większe ograniczenie liczebności grup może skutkować, w przypadku śmierci pojedynczych zwierząt, utratą istotności statystycznej w opisanych badaniach, a tym samym nieważność uzyskanych wyników.

### **Refinement - Udoskonalenie:**

Zespół badawczy ma duże doświadczenie w pracy ze szczurem wędrownym w zakresie chirurgii naczyniowej co gwarantuje zarówno bezpieczeństwo dla zwierząt w zakresie anestezji jak i samego zabiegu. Środowisko bytowania zwierząt wzbogacone będzie o drewniane gryzaki osikowe oraz rurki tekturowe.

Zwierzęta w czasie zabiegów będą poddane znieczuleniu ogólnemu. Zostanie zastosowana analgezja wyprzedzająca i pooperacyjna w przypadku procedur nieterminalnych. Przeprowadzane pomiary

hemodynamiczne będą również źródłem informacji o dobrostanie zwierząt (tętno, ciśnienie krwi) i umożliwią reagowanie na pojawiające się somatyczne objawy bólu, cierpienia lub stresu u zwierząt.

Codziennie będzie sprawdzany dobrostan zwierząt. Należy podkreślić, że antybiotyk (neomycyna) podawany będzie w wodzie do picia, co ograniczy dystres zwierząt związany z kontaktem z człowiekiem.

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.