

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu pt. „Wpływ czynników modyfikujących ryzyko sercowo-naczyniowe u ludzi na barierę jelito-krew i aktywność bakterii jelitowych u szczurów”

2. Czas trwania projektu od 5 lat

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) bakterie jelitowe, trimetyloamina, bariera jelito- krew, tlenek trimetyloaminy, indoksył

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 wpływu czynników modyfikujących ryzyko sercowo-naczyniowe u ludzi na barierę jelito-krew i aktywność bakterii jelitowych u szczurów. Dla każdej z procedur celem jest badanie podstawowe obejmujące wiele układów.

Projekt przeprowadzony będzie na zwierzętach należących do szczepu Sprague Dawley. Związki, które będą przedmiotem badania należą do związków modyfikujących ryzyko chorób sercowo- naczyniowych u ludzi (sól kuchenna, kofeina, teofilina, enalapril, simwastatyna).

Prawidłowe funkcjonowanie organizmu ssaków zależy w dużym stopniu od bakterii, które znajdują się w jelitach oraz związków przez nie wytwarzanych. Ostatnie badania wykazały związek pomiędzy dysbiozą (zanik niektórych gatunków bakterii jelitowych, wzrost innych) a rozwojem chorób sercowo-naczyniowych. Dotychczas nie jest znany wpływ czynników modyfikujących ryzyko sercowo-naczyniowe na metabolizm bakterii jelitowych i stężenie metabolitów bakterii jelitowych we krwi.

W proponowanym projekcie zwierzęta będą pojone roztworem jednego z powyższych związków modyfikujących ryzyko sercowo-naczyniowe lub antybiotykiem (neomycyna). W czasie badania będzie pobierany mocz, kał i krew w celu określenia stężenia metabolitów bakteryjnych. W kale zostanie również oznaczony skład flory bakteryjnej. Dodatkowo zostanie oznaczona przepuszczalność bariery jelito- krew (jej zadaniem jest selektywne przepuszczanie z jelit do krwi jednych substancji, a blokowanie innych), która wpływa na stężenie metabolitów bakterii jelitowych we krwi.

Korzyścią płynącą z powyższego badania jest uzyskanie danych określających wpływ czynników modyfikujących ryzyko sercowo- naczyniowe na barierę jelito- krew i aktywność bakterii jelitowych. Zmiany stężenia we krwi poszczególnych metabolitów bakteryjnych, a w szczególności trimetyloaminy i tlenu trimetyloaminy mogą wiązać się z wystąpieniem, bądź zapobieganiem wystąpienia nadciśnienia i innych chorób sercowo- naczyniowych.

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

Badanie zostanie przeprowadzone na 234 samcach szczurów szczepu Sprague- Dawley.

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

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono istniejącą wiedzę na temat wpływu czynników modyfikujących ryzyko sercowo-naczyniowe u ludzi na barierę jelito-krew i aktywność bakterii jelitowych u szczurów w następujących bazach danych: Google Scholar, PUBMED, Web of Science

Przy użyciu następujących słów kluczowych:

Gut bacteria, metabolites, TMA, TMAO, indoxyl, gut- blood barrier, sodium chloride

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że:

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

Flora bakteryjna jelit człowieka i zwierząt ulega zmianie przy chorobach takich jak otyłość i nadciśnienie. Metabolity tych bakterii przechodzą przez barierę jelitową, dzięki czemu przedostają się do krwi i oddziałują na organizm człowieka, zwierzęcia. Ostatnie badania wykazały, wzrost stężenia we krwi jednego z metabolitów bakteryjnych- trimetylo aminy (TMA) i tlenku trimetylo aminy (TMAO) u ludzi z chorobami sercowo-naczyniowymi. U osobników z rozwiniętym nadciśnieniem wzrasta przepuszczalność bariery jelito- krew.

B. Brak jest danych dotyczących:

Wpływu leków wykorzystywanych w terapii nadciśnienia (enalapril, statyny) na stężenie TMA i TMAO we krwi. Wpływu czynników zwiększających ryzyko wystąpienia chorób sercowo- naczyniowych (dieta bogata w sód, spożywanie kofeiny, teofiliny) na stężenie TMA i TMAO we krwi. Wpływu wyjałowienia przewodu pokarmowego, poprzez podanie neomycyny na stężenie TMA i TMAO we krwi. Brak jest również informacji dotyczących wpływu powyższych związków na funkcjonowanie bariery jelito- krew.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku:

Wpływu bakterii jelitowych, poprzez ich metabolity na regulację ciśnienia tętniczego i rozwój nadciśnienia. Projekt badawczy pozwoli ocenić czy czynniki modyfikujące ryzyko rozwoju chorób sercowo- naczyniowych wpływają na aktywność bakterii jelitowych i funkcjonowanie bariery jelito- krew.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na:

rozwoju nowych możliwości terapeutycznych w nadciśnieniu tętniczym, poprzez wpływ znanych już substancji na metabolizm i skład mikroflory jelitowej oraz funkcjonowanie bariery jelito- krew.

Replacement – Zastąpienie:

Wybrany model szczura 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. Również istota samych obserwacji jak produkcja metabolitów przez bakterie jelitowe, zmiana genomu bakterii jelitowych. zmiana przepuszczalności bariery krew- jelito, klirensu wątrobowego oraz reakcja na podawane substancje wymaga badań na żywym zwierzęciu. 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. Co ważne zespół badawczy ma doświadczenie w pracy ze szczurem wędrownym w zakresie chirurgii naczyniowej co gwarantuje zarówno bezpieczeństwo dla zwierząt w zakresie anestezji jak i samego zabiegu. 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. Należy podkreślić, że uzyskane wyniki mogą służyć dalszym badaniom klinicznym u pacjentów kardiologicznych i gastroenterologicznych.

Reduction - Ograniczenie:

Liczba zwierząt dla pomiarów metabolitów bakteryjnych została określona za pomocą kalkulatora statystycznego <http://clincalc.com/stats/samplesize.aspx>:

Średnie stężenie tlenku trimetyloaminy w osoczu, różnica pomiędzy badanymi grupami oraz wspólne odchylenie standardowe zostało określone na podstawie dostępnej literatury. Błąd alfa = 0,05, moc testu = 0,8

Należy podkreślić, że wykonywane zabiegi w minimalnym stopniu stwarzają ryzyko zgonu zwierzęcia. 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:

Aby ograniczyć kontakt zwierzęcia z człowiekiem badane związki będą podawane w wodzie do picia przez okres dwóch tygodni. Zwierzęta w czasie tych dwóch tygodni będą codziennie doglądane bez wyjmowania ich z klatek oraz raz w tygodniu ważone i poddawane badaniu klinicznemu: ilość oddechów, uderzeń serca, ocena błon śluzowych. Po dwóch tygodniach zwierzęta do eksperymentu będą znieczulane terminalnie.

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.