

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „Badanie wpływu *Lactobacillus plantarum* ATCC14917 na gospodarkę żelaza u szczurów na diecie wysokotłuszczowej”.

2. Czas trwania projektu: 01.03.2020-28.12.2022

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) żelazo, probiotyki, suplementacja, otyłość

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.

Jednym z powikłań otyłości jest nieprawidłowa gospodarka żelaza. Niedobór żelaza pogarsza stan zdrowia i przebieg chorób wynikających z nadmiernej masy ciała. Najnowsze badania wykazują, że organizmy probiotyczne wpływają korzystnie na przemianę żelaza w organizmie.

Celem naukowym projektu jest ocena *in vivo* zdolności kwasu p-hydroksyfenylolekowego (HPLA) syntetyzowanego przez probiotyczne bakterie *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 do zwiększenia biodostępności żelaza oraz określenie wpływu suplementacji tym probiotykiem na stan zapalny i stres oksydacyjny u szczurów na diecie wysokotłuszczowej.

Doświadczenie zostanie przeprowadzone na 70 szczurach wędrownych (*Rattus norvegicus*), stado niekrewniacze Wistar, 6-tygodniowych samicach. W pierwszym etapie doświadczenia (4 tygodnie) szczury podzielone zostaną losowo na dwie grupy: grupę HF (n=10) i grupę HFDEF (n=60). Szczury z grupy HF będą spożywały dietę wysokotłuszczową, szczury z grupy HFDEF- dietę wysokotłuszczową deficytową w żelazo. Po 4 tygodniach pierwszego etapu doświadczenia u szczurów z obu grup pobrana zostanie kropla krwi z ogona w celu określenia stężenia żelaza w surowicy i potwierdzenia jego niedoboru w grupie HFDEF. W drugim etapie doświadczenia (8 tygodni), szczury z grupy HF będą kontynuować pobieranie diety wysokotłuszczowej, natomiast szczury z grupy HFDEF zostaną zrandomizowane do 6 podgrup, po 10 szczurów w każdej podgrupie. Szczury w podgrupie HFDEF będą kontynuowały pobieranie diety wysokotłuszczowej deficytowej w żelazo. Szczury w podgrupie HFDEF_{Lp} będą karmione dietą wysokotłuszczową deficytową w żelazo z dodatkiem bakterii

probiotycznych *Lactobacillus plantarum*. Szczury w podgrupie HFDEFFe będą karmione dietą wysokotłuszczową deficytową w żelazo z suplementacją żelaza. Szczury w podgrupie HFDEFLpFe będą karmione dietą wysokotłuszczową deficytową w żelazo z suplementacją żelaza z dodatkiem bakterii probiotycznych *Lactobacillus plantarum*. Szczury w podgrupie HFDEFLc będą karmione dietą wysokotłuszczową deficytową w żelazo z dodatkiem bakterii probiotycznych *Lactobacillus curvatus*, a szczury w podgrupie HFDEFLcFe będą karmione dietą wysokotłuszczową deficytową w żelazo z suplementacją żelaza z dodatkiem bakterii probiotycznych *Lactobacillus curvatus*. Po zakończeniu doświadczenia szczury zostaną uśpione mieszaniną powietrza i dwutlenku węgla w celu pobrania krwi i narządów wewnętrznych do analiz biochemicznych i analizy zawartości składników mineralnych.

Wyniki pozwolą na wyjaśnienie mechanizmów działania probiotycznych bakterii *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 na metabolizm żelaza u szczurów na diecie wysokotłuszczowej, co będzie podstawą do dalszych badań nad możliwością wykorzystania ww. bakterii probiotycznych w badaniach klinicznych z udziałem pacjentów chorych na otyłość z niedoborami żelaza. W przyszłości może to skutkować wdrożeniem suplementacji probiotycznej jako metoda leczenia i prewencji niedokrwistości i zaburzeń gospodarki żelazowej u osób otyłych, co przyczyni się do zmniejszenia epidemii powikłań otyłości. Badanie pozwoli też lepiej poznać mechanizmy regulujące metabolizm żelaza w warunkach nadmiernej masy ciała.

Przewidywane szkody podczas proponowanego doświadczenia mogą wiązać się z dystresem zwierząt związanym z pobraniem próbki krwi z ogona, jednak wszystkie czynności w procedurze zostały zaplanowane z jak najmniejszą inwazyjnością. Szkodą dla zwierzęcia jest również jego śmierć.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

70 sześciotygodniowych szczurów wędrownych *Rattus norvegicus*, stado niekrewniacze Wistar (70 samic).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy dokonano przeglądu literatury w bazach danych i stwierdzono brak badań dotyczących suplementacji *Lactobacillus plantarum* ATCC14917 na gospodarkę żelaza i parametry stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego, zwłaszcza u osobników na diecie wysokotłuszczowej i z niedoborem żelaza.

W projekcie uwzględniono zasadę 3R: zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia.

Zasada zastąpienia:

Ze względów fizjologicznych, przede wszystkim dużego podobieństwa układu pokarmowego szczura i człowieka, właśnie te zwierzęta laboratoryjne są polecanym gatunkiem do badań żywieniowych. Badań żywieniowych i dotyczących suplementacji probiotycznej nie można przeprowadzić w warunkach *in vitro*, dlatego nie można zastosować innej metody badawczej.

Zasada ograniczenia:

W doświadczeniu zaplanowano 70 zwierząt podzielonych na 7 grup. Liczba zaplanowanych zwierząt uwzględnia 10 zwierząt w każdej analizowanej grupie. Liczba zwierząt została ograniczona do niezbędnej, aby osiągnąć rzetelne wyniki analiz statystycznych.

Na podstawie dokonanego przeglądu literaturowego wybrano jako suplementowany probiotyk *Lactobacillus*

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

plantarum ATCC 14917. Bakteria ta syntetyzuje kwas p-hydroksyfenylomlekowy (HPLA). W badaniach in vitro wykazano, że substancja ta może istotnie korzystnie wpływać na metabolizm żelaza. Na podstawie literatury wytypowano również bakterię probiotyczną, która nie syntetyzuje kwasu p-hydroksyfenylomlekowego (HPLA) jako organizm porównawczy. Dzięki temu ograniczono ilość szczurów, która byłaby potencjalnie potrzebna do poszukiwania organizmu probiotycznego, który mógłby istotnie wpływać na metabolizm żelaza oraz takiego, który nie wywiera podobnego wpływu.

Zasada udoskonalenia:

W planowanym doświadczeniu uwzględniono metody minimalizujące ból, cierpienie i dystres zwierząt do minimum. Wybrane procedury i czynności zakładają wykorzystanie najmniejszej liczby zwierząt, przy największym prawdopodobieństwie osiągnięcia planowanego wyniku. Zwierzęta będą utrzymywane w pomieszczeniach o odpowiedniej temperaturze i wilgotności. Przeszkolone, stałe osoby będą codziennie kontaktować się ze zwierzętami. Zwierzętom podawana będzie pasza i woda ad libitum. W każdej klatce umieszczone zostaną szklane miseczki jako wzbogacenie. Aby zminimalizować stres zwierząt wszystkie badane związki i produkty (suplement żelaza oraz bakterii probiotycznych) będą podawane razem z paszą (wykluczono stosowanie sondy dożołądkowej). Dawki stosowanych związków nie są toksyczne dla szczurów. Zwierzęta będą pod stałą opieką weterynaryjną.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

X NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.