

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Wpływ wybranych antagonistów dopaminy na rozród i odporność samic karasia pospolitego (*Carassius carassius* L.)**

2. Czas trwania projektu 01.08.2018 – 30.07.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): karaś pospolity, preparaty antydopaminowe, rozród, stres,

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 badań jest ocena wpływu wybranych substancji blokujących normalną pracę receptorów dopaminowych (antagonistów receptorów dopaminy, DA) na efekty rozrodu, funkcjonowanie osi HPG (podwzgórze - przysadka mózgowa - gonady), reakcję stresową i odporność karasia pospolitego (*Carassius carassius* L.) oraz określenie mechanizmów działania DA na te procesy.

Wzrastające zapotrzebowanie na wysokiej jakości materiał zarybieniowy oraz zdrową i bezpieczną żywność pochodzącą z akwakultury sprawiają, że poszukuje się nowych rozwiązań, które ograniczą zużycie m.in. antybiotyków i hormonów. Jednym z „wąskich gardeł” w akwakulturze jest przeprowadzanie kontrolowanego rozrodu ryb, którego nieodłącznym elementem, jak do tej pory, jest stymulacja tarlaków z zastosowaniem preparatów hormonalnych, prostych (np. gonadotropiny, gonadoliberyny) lub złożonych (zawierających gonadoliberyny i DA). Tendencja do zmniejszenia zużycia

hormonów stanowiła asumpt do podjęcia badań nad wykorzystaniem wyłącznie DA do stymulacji rozrodu ryb. Pierwsze badania nad rozrodem ryb karpiowatych z użyciem DA (preparat metoklopramid) dały pozytywne rezultaty (wywołano owulację oraz uzyskano poprawę jakości nasienia) ale kompleksowe działanie tych preparatów na organizm ryby jest nieznane. Proponowane badania dotyczące efektu działania wybranych DA na wiele układów organizmu ryby powinny tę lukę wypełnić.

Zamierzone cele zostaną osiągnięte poprzez badania o łagodnym stopniu dotkliwości, zgodnie z zasadą 3R. Utworzonych zostanie 5 grup doświadczalnych (tabela pkt 6). Testowane preparaty podane zostaną w formie iniekcji dootrzewnowej. Po 10 h od iniekcji od ryb pobrane zostaną tkanki (krew, mózg, przysadka mózgowa i gonady) w celu wykonania badań hematologicznych, biochemicznych, profili hormonalnych, ekspresji genów oraz dokonania oceny wpływu tych preparatów na dojrzewanie komórek jajowych. Wszelkie manipulacje będą przeprowadzane po wprowadzeniu ryb w stan znieczulenia ogólnego.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Liczba zwierząt: 75 - badania *in vivo*. Do badań planuje się utworzenie pięciu grup badawczych po 15 osobników każda (tabela poniżej). Zaplanowano wykorzystanie najmniejszej liczby zwierząt zapewniającej odpowiednią ilość wyników wymaganą do przeprowadzenia wiarygodnej analizy statystycznej dla badań tego rodzaju. Liczebność próby $n = 15$ oszacowano na podstawie danych literaturowych (wartości odchylenia standardowego dla badanych parametrów) i wzoru podanego przez Snedecora i Cohrana (1989):

$$n = 1 + 2C (s/d)^2$$

Grupa	K	OL	OM	M	D
Liczba ryb	15	15	15	15	15
Podawane substancje	Sól fizjologiczna	Ovopel	Ovaprim	Metoklopramid	Domperidon
Dawki na kg m.c.	1ml	2 granule	0,5 ml	20mg	5 mg
Pobierane tkanki	Krew, mózg, gonady	Krew, mózg, gonady	Krew, mózg, gonady	Krew, mózg, gonady	Krew, mózg, gonady

Proponowane badania zostaną przeprowadzone na **karasiu pospolitym** (*Carassius carassius* L.) ze względu na to, że jest to gatunek bardzo odporny na zmiany w środowisku, a niezwykle podatny na stres. Dotyczy to szczególnie dzikich tarlaków, pozyskiwanych ze środowiska naturalnego, których rozród kontrolowany bez przeprowadzenia stymulacji farmakologicznej jest niemożliwy. Warto również dodać, że w przypadku tego gatunku rekomendowane dawki hormonów są dwukrotnie wyższe od standardowych. Ponadto, wg danych literaturowych karaś pospolity jest jak dotąd jedynym gatunkiem karpiovatym, u którego podanie wyłącznie metoklopramidu (antagonisty receptora dopaminowego D2) umożliwiło uzyskanie owulacji.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Ze względu na złożony charakter procesów fizjologicznych zachodzących w organizmie, eksperyment przeprowadzony zostanie z użyciem żywych zwierząt (ryby). Dzięki badaniom na zwierzętach jesteśmy w stanie poznać wstępny metabolizm i ocenić kompleksowo działanie testowanych preparatów. Zaplanowana procedura należy do kategorii 2 (łagodna); proponowane dawki preparatów mieszczą się w granicach odpowiednich dla wielkości i gatunku ryby.

Badania zostaną przeprowadzone zgodnie z zasadą 3R. Replacement czyli zastąpienie doświadczeń na zwierzętach metodami *in vitro*; część zaplanowanych badań związanych z wpływem testowanych preparatów na odporność ryb (wybuch tlenowy, indeks fagocytny) zostanie wykonana na tkankach (pobranej krwi), co pozwoli na zmniejszenie liczby wykorzystanych zwierząt Reduction czyli zmniejszenie liczby zwierząt poprzez lepsze wykorzystanie metod statystycznych – w eksperymencie zostanie użyta minimalna liczba zwierząt zapewniająca uzyskanie minimalnej ilości danych wymaganych do przeprowadzenia wiarygodnej analizy statystycznej. Refinement czyli zmiana procedury eksperymentalnej na przysparzającą zwierzętom mniej cierpień – ryby przed pobraniem krwi zostaną znieczulone, a przed pobraniem tkanek znieczulone, a następnie uśmiercone poprzez przecięcie rdzenia kręgowego. Ryby, które podaniu leku i wybudzeniu będą wykazywały zmniejszenie aktywności ruchowej oraz nieprawidłową postawę ciała w wodzie (pływanie „na boku”), zostaną znieczulone w roztworze anestetyku, a następnie uśmiercone przez przecięcie rdzenia kręgowego (decyzja o uśmierceniu

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

zwierzęcia będzie konsultowana z właściwym lekarzem weterynarii

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.