

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Badanie wpływu ciągłego światła oraz suplementacji melatoniną na przebieg cyklu owulacyjnego samic szczurów**

2. Czas trwania projektu **5 lat**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) szczur, cykl owulacyjny, funkcjonalna pinealektomia, melatonina

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **H**

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.

Szczur jest gatunkiem poliestralnym, o cyklu owulacyjnym trwającym 4 – 5 dni. W trakcie cyklu występują kolejno cztery fazy: proestrus, estrus, metaestrus i diestrus, określa się na podstawie obrazu histologicznego wymazów pochwowych.

Przebieg cyklu jest kontrolowany przez hormony, w tym przez syntetyzowaną w szyszynce melatoninę. Pinealektomia, czyli usunięcie szyszynki, powoduje zaburzenia cyklu owulacyjnego, natomiast podawanie zwierzętom melatoniny, w postaci zastrzyków lub razem z wodą do picia, przywraca cykl. Podobny efekt można uzyskać trzymając zwierzęta w ciągłym świetle, co określa się jako funkcjonalną pinealektomię.

Celem projektu jest nauczanie studentów prawidłowego: **(1)** wykonywania wymazów pochwowych; **(2)** wybarwiania preparatów cytologicznych; **(3)** oceniania fazy cyklu owulacyjnego w warunkach normy

oraz w sytuacji jego zaburzenia; **(4)** sprawowania prawidłowej opieki nad szczurami. W konsekwencji studenci uczą się także: **(a)** prowadzenia długotrwałych doświadczeń; **(b)** przeprowadzania właściwej analizy i interpretacji wyników; **(c)** opracowywania wyników w formie artykułu naukowego.

3-miesięczne samice podzielimy na trzy grupy. Szczurzyce z pierwszej grupy zostaną umieszczone w fotoperiodzie L:D 12:12, natomiast pozostałe zwierzęta będą utrzymywane w ciągłym świetle, co rozreguluje cykl. Zwierzęta będą przyzwyczajane ich do warunków doświadczalnych i współpracy z ludźmi podczas handlingu. Następnie, przez 3 tygodnie, rano szczurzyce będą miały pobierane wymazy pochwowe. Po tygodniu połowa zwierząt przebywających w ciągłym świetle zacznie otrzymywać melatoninę z wodą do picia w nocy.

Funkcjonalna pinealektomia jest całkowicie odwracalna, dlatego planowane doświadczenia nie powodują trwałych szkód u zwierząt. Po doświadczeniu zwierzęta mogą trafić do adopcji.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczur stada Wistar, samice w wieku trzech miesięcy w chwili rozpoczęcia doświadczeń, 90 zwierząt.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Dane literaturowe wsazują, iż: **(1)** wykonywanie wymazów pochwowych za pomocą patyczków higienicznych jest powszechnie stosowaną i najmniej inwazyjną metodą oceny fazy cyklu owulacyjnego u samic szczurów; **(2)** chów szczurów przez kilka tygodni w ciągłym świetle jest skutecznym sposobem na zablokowanie biosyntezy melatoniny w szyszynce, co w literaturze określane jest jako funkcjonalna pinealektomia; **(3)** funkcjonalna pinealektomia jest całkowicie odwracalna po umieszczeniu zwierząt w warunkach fotoperiodu L:D 12:12; **(4)** podawanie zwierzętom egzogennej melatoniny odwraca efekt ciągłego światła i przywraca normalny przebieg procesów fizjologicznych w organizmie.

Zastosowanie alternatywnych metod oceny fazy cyklu owulacyjnego wiązałoby się nie tylko ze zwiększeniem stopnia inwazyjności metody, ale także wymagałoby zwiększenia liczby wykorzystywanych zwierząt. Byłoby to sprzeczne z zasadą ograniczenia. Najczęściej stosowaną alternatywną metodą oceny fazy cyklu owulacyjnego jest wykonywanie samicom irygacji pochwowych i wykonywanie wymazów z komórek pływających w wypłukanym z pochwy płynie fizjologicznym.

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

Metoda ta jest bardziej stresująca dla zwierząt, wykonywana przez niewprawną osobę mogłaby być bolesna. Ponadto, zastosowanie za dużej objętości soli fizjologicznej może powodować, że wymaz będzie nieczytelny, dlatego aby uzyskać odpowiednią liczbę wyników do opracowania statystycznego konieczne byłoby zwiększenie liczby zwierząt.

Metodą alternatywną dla funkcjonalnej pinealektomii wywoływanej przez utrzymywanie zwierząt w warunkach ciągłego światła jest operacyjne usunięcie szyszynki. Po takiej operacji oraz zakończeniu doświadczeń zwierzęta musiałyby być usłone, ponieważ jakość ich życia bez szyszynki uległaby znacznemu obniżeniu, a w dłuższej perspektywie mogłaby prowadzić do rozwoju różnych chorób.

Alternatywą dla badań na szczurach byłoby prowadzenie doświadczeń na myszach, jednak są one mniejsze, więc zrobienie wymazów byłoby trudniejsze technicznie, a studenci ucząc się powodowałiby większy stres i ból u zwierząt.

Brak jest danych dotyczących trwałego, negatywnego wpływu funkcjonalnej pinealektomii na jakość życia szczurów.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A/ Rozwinięcie poznawcze wiedzy studentów na temat mechanizmów regulujących przebieg cyklu owulacyjnego u samic ssaków. Jednocześnie studenci nauczą się sprawowania właściwej opieki nad zwierzętami (codzienna pielęgnacja, obserwacja zachowań zwierząt, umiejętne obchodzenie się ze zwierzętami, kontrola ich dobrostanu), co będą mogli wykorzystać w praktyce w kolejnych latach studiów.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na samodzielnym analizowaniu danych i wysuwaniu wniosków z otrzymanych własnoręcznie wyników.

Metody przewidziane w projekcie to standardowe sposoby postępowania w badaniach cyklu owulacyjnego i wpływu melatoniny na jego regulację.

Zastąpienie: Zakład dysponuje programami komputerowymi z wirtualnymi ćwiczeniami, które są wykorzystywane podczas zajęć dydaktycznych, jednak nie obejmują one wszystkich zagadnień omawianych ze studentami. Dlatego też w proponowanych doświadczeniach model szczurzy nie może zostać zastąpiony alternatywnymi metodami badawczymi, które nie wymagają wykorzystania zwierząt.

Ograniczenie: W doświadczeniach zaplanowano wykorzystanie minimalnej liczby zwierząt, która umożliwi przeprowadzenie analiz statystycznych. Analizując wyniki, studenci będą wykonywali wieloczynnikową analizę wariancji ANOVA z testem post-hoc Tukey'a, używając programu STATISTICA 13. Minimalna liczba „n” w testach parametrycznych to właśnie 6. Poza tym sumarycznie w jednym roku w procedurze uczestniczy 18 szczurzy. Oznacza to, że każdy student indywidualnie, podczas przypadających mu codziennych dyżurów wykona 36 wymazów. Jest to taka

liczba, która umożliwia efektywne nauczanie się prawidłowego wykonywania wymazów, w taki sposób, aby dana osoba mogła w przyszłości wykonywać je samodzielnie.

Udoskonalenie: Szczury będą utrzymywane w warunkach zapewniających im wysoki dobrostan. Zaplanowane procedury o kategorii dotkliwości łagodne zaprojektowano tak, by możliwie maksymalnie ograniczyć ból, cierpienie i stres zwierząt.

Z dotychczasowych obserwacji w ciągu kilkunastu lat wynika, że szczury podczas stosowania procedury doświadczalnej nie odnoszą uszczerbku na dobrostanie. Wprawdzie część zwierząt przez 6 tygodni przebywa w ciągłym świetle, ale ich zachowanie nie wskazuje na występowanie negatywnych skutków takich, jak depresja, agresja, zaburzenia pokarmowe itp. Przez cały czas trwania procedury samice normalnie jedzą, chętnie się bawią zarówno ze sobą, jak i z osobami przeprowadzającymi procedurę. Nie są też agresywne w stosunku do ludzi i towarzyszek w klatce. Ponadto, w przeszłości wprawdzie sporadycznie, ale zdarzało się, że po zakończeniu procedury zwierzęta były przekazywane do innych doświadczeń. Działo się to za zgodą lekarza weterynarii, który po zbadaniu zwierząt nie stwierdzał u nich żadnego uszczerbku na zdrowiu.

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.