

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Antyoksydacyjne i immunostymulujące oddziaływanie zróżnicowanych poziomów i wzajemnego stosunku lizyny, metioniny i argininy u indyków w indukowanym stanie zapalnym”

2. Czas trwania projektu Wrzesień 2020 - Czerwiec 2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) indyki rzeźne, immunomodulacja, zdrowotność jelit, *Clostridium perfringens*, *E. coli*

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

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.

Zgodnie z koncepcją aminokwasów funkcjonalnych, poziom argininy i metioniny w diecie indyków jest ważny ze względów odżywczych oraz wpływa na status immunologiczny organizmu. Jednak zależności te badano głównie na kurczętach, a nie prowadzono podobnych badań na indykach, które charakteryzują się większym zapotrzebowaniem na aminokwasy. Wstępne badania potwierdzają, że żywienie indyków dietami o prawidłowo zbilansowanej proporcji aminokwasów limitujących może korzystnie oddziaływać na procesy fizjologiczne. Aby zwiększyć prozdrowotny potencjał poszczególnych aminokwasów limitujących, konieczne jest równoczesne dostosowanie ich wzajemnej proporcji w diecie. Jednak precyzyjne poziomy (i/lub ich wzajemna proporcja) aminokwasów w diecie indyków, które pozwalają na korzystne wspomaganie procesów fizjologicznych (w tym głównie układu odpornościowego) nie zostały

dostatecznie zbadane na tym modelu. Ponadto, metabolizm aminokwasów limitujących u indyków przebiega w inny sposób w zależności od ich stanu fizjologicznego (np. podczas stanu zapalnego). W komercyjnym żywieniu indyków funkcjonują zalecenia odnośnie aminokwasów limitujących, które uwzględniają głównie osiągnięcie maksymalnych przyrostów, natomiast brak rekomendacji odnośnie wspomagania układu odpornościowego ptaków.

Wstępne wyniki naszych badań wskazują na regulacyjny wpływ różnej proporcji lizyny/metioniny/argininy w diecie na procesy fizjologiczne u indyków, w tym głównie na procesy regulujące integralność jelit, status oksydacyjny oraz immunologiczny organizmu. Ponieważ przewód pokarmowy ptaków wraz z zasiedlającą go mikroflorą stanowią pierwsze środowisko oddziaływania czynników żywieniowych na procesy metaboliczne oraz fizjologiczne organizmu, poprzez żywienie można wpływać na wzmocnienie odporności ptaków na czynniki stresowe. Stąd, zachodzi uzasadniona potrzeba zweryfikowania oddziaływania aminokwasów limitujących w warunkach stresowych u indyków.

Celem szczegółowym badań jest zweryfikowanie wpływu różnych proporcji aminokwasów limitujących w diecie na stan funkcjonalny przewodu pokarmowego oraz na układ odpornościowy indyków w indukowanym stanie zapalnym.

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

Doświadczenie zostanie przeprowadzone na 144 indykach (samice) (Brojlery indycze,

*Meleagris gallopavo gallopavo var. domesticus*)

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

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: PUBMED; Google Scholar; ScienceDirect; Wykorzystałem słowa kluczowe: turkey/gut function/LPS challenge/C. perfringens infection/immunomodulation/gut health/bioasecuration/feed utilization/performance/immune response/enteritic challenge/amino acid/gut permeability

---

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

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam, że wiedza w tym zakresie dotyczy innych modeli badawczych lub warunków *in vitro*, stąd jest ona niewystarczająca do sformułowania wniosków dotyczących potencjalnego wpływu oraz zweryfikowania zachodzących interakcji pomiędzy różnymi proporcjami aminokwasów limitujących w diecie oraz fizjologicznymi procesami u indyków w początkowym okresie wzrostu.

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: Negatywne procesy zachodzące w przewodzie pokarmowym ptaków spowodowane czynnikami stresowymi w tym głównie procesami zapalnymi mogą być w pewnym stopniu regulowane poprzez zastosowanie w diecie odpowiedniej proporcji aminokwasów limitujących, co może przyczynić się do zmniejszenia śmiertelności ptaków

B. Brak jest danych dotyczących: Oddziaływania poziomu i wzajemnej proporcji lizyny/metioniny/argininy na specyficzny przebieg stanu zapalnego (indukowanego przez podanie LPS lub bakterie *C. perfringens*) u indyków

Uzyskanie danych z proponowanych badań pozwoli na: zbadanie: (i) Specyficznej reakcji (w szczególności odpowiedzi układu immunologicznego związanego z przewodem pokarmowym) indyków na LPS/bakterie *C. perfringens* w zależności od różnej proporcji aminokwasów limitujących w diecie, (ii) zbadanie potencjału wspomagania immunokompetencji układu odpornościowego związanego z przewodem pokarmowym indyków poprzez zastosowanie specyficznych proporcji aminokwasów limitujących

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku poznania oddziaływania aminokwasów limitujących na mechanizmy warunkujące integralność jelit oraz odpowiedź układu immunologicznego w warunkach stresowych u indyków

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na opracowaniu działań mających na celu zapobieganie/ograniczanie występowania stanów zapalnych u indyków lub wspomaganie mechanizmów obronnych u ptaków. Uzyskana wiedza w wyniku realizacji niniejszych badań ma na celu dostarczenie istotnych wyników naukowych i może przyczynić się do opracowania strategii żywieniowej ukierunkowanej na poprawę dobrostanu indyków utrzymywanych w warunkach intensywnego odchovu i warunkach stresowych. Mając na uwadze intensywny wzrost produkcji drobiarskiej (a także dalszy spodziewany jej wzrost w najbliższych latach), istnieje konieczność opracowania skutecznych metod wspomagania odporności ptaków na warunki stresowe. Stąd, potencjalne korzyści z realizacji niniejszych badań znacznie przewyższają i uzasadniają w dużym stopniu wyrządzone szkody indykom doświadczalnym w aspekcie cierpienia, bólu i dystresu. Ponadto, uzyskane wyniki będą miały przełożenie

także na inne gatunki drobiu, gdyż badane zależności są w dużym stopniu konserwatywne u różnych gatunków drobiu (np. brojlery, kury nioski, przepiórki). Poświęcenie zaplanowanej liczby ptaków w niniejszej procedurze może przyczynić się do poprawy dobrostanu znacznie większej liczby ptaków utrzymywanych w warunkach intensywnego odchovu.

#### ZASTĄPIENIE

Nie ma możliwości zastąpienia indyków innym modelem badawczym, ponieważ nie byłoby możliwe określenie poszczególnego wpływu oraz interakcji między czynnikiem doświadczalnym na wykorzystanie składników pokarmowych, stan narządów wewnętrznych, zdrowotność ptaków, a w szczególności wpływu na odpowiedź immunologiczną u ptaków.

#### OGRANICZENIE

Utrzymywanie ptaków w pomieszczeniach grupowych (18 indyków w kojcu, na ściółce) pozwala na porównanie wpływu badanego czynnika doświadczalnego na wyniki odchovu, wykorzystanie składników pokarmowych, funkcjonalność i strukturę jelit oraz aktywność układu immunologicznego. Dzięki możliwości dokładnego zmierzenia ilości pobieranej paszy i przyrostu masy ciała, ptaki w pomieszczeniach stanowią powtórzenie, dlatego utrata nawet kilku ptaków w trakcie doświadczenia na skutek padnięcia lub zakłóceń zdrowotnych pozwala nadal na prawidłową ocenę statystyczną wyników odchovu. Liczba wyników analiz niezbędna do wyciągnięcia uzasadnionych statystycznie wniosków dotyczących badanych wskaźników powinna wynosić w grupie minimum 8-9 powtórzeń. Wyniki otrzymane od łącznej liczby 9 ptaków z grupy doświadczalnej pozwolą dokładnie zweryfikować postawioną hipotezę badawczą pod względem naukowym oraz praktycznym. Wykonanie procedury przy założonej liczbie ptaków w doświadczeniu gwarantuje możliwość uzyskania dokładnych, a zarazem wystarczających (w ujęciu statystycznym) wyników badań na małej populacji ptaków. Przeprowadzenie procedury w podobnym układzie, przy wykorzystaniu kojców zbiorczych wymagałoby poświęcenia co najmniej 320 ptaków (4 grupy doświadczalne/8 powtórzeń w grupie/10 ptaków w kojcu stanowiące 1 powtórzenie). Ponadto, planowany okres uśmiercenia ptaków (7 tydzień życia) w celu pobrania próbek do badań pozwoli na wykorzystanie w doświadczeniu tylko jednej płci ptaków (samice) ze względu na brak istotnych różnic w tym okresie w odpowiedzi badanych cech ze względu na płeć. Stąd, liczba ptaków wykorzystana w doświadczeniu będzie o połowę mniejsza niż w przypadku przeprowadzenia podobnych badań w późniejszych etapach wzrostu indyków, co wymagało by uwzględnienia w grupach 2 płci ze względu na występujące zmiany hormonalne u ptaków, co mogło by mieć wpływ na wyniki.

W doświadczeniu planowane jest pobranie i zabezpieczenie (post mortem) większej ilości tkanek i materiału biologicznego od ptaków, niż zaplanowana ilość w realizowanych badaniach. Ma to na celu wykonanie dodatkowych analiz/badań, np. w ramach działalności statutowej Jednostki, lub udostępnienie tego materiału biologicznego partnerom naukowym do dalszych badań. Działania te mają na celu ograniczenie liczby zwierząt, wykorzystywanych do przyszłych badań naukowych o podobnej tematyce.

#### DOSKONALENIE

Utrzymanie ptaków po 18 osobników w pomieszczeniu na ściółce zapewni każdemu z nich dużą powierzchnię życiową oraz umożliwi im kontakt wzrokowy, słuchowy i dotykowy. Taki sposób utrzymania ptaków ułatwia analizę statystyczną uzyskanych wyników oraz sformułowanie na ich podstawie właściwych wniosków. Zaplanowana procedura gwarantuje, że cel badań zostanie osiągnięty przy zastosowaniu najmniejszej liczby grup badanych (przy jednej grupie kontrolnej dla poszczególnego stosunku AA (1-4) będzie można zweryfikować regulacyjny ich wpływ w warunkach indukowanego stanu zapalnego zarówno przez LPS jak też bakterie *C. perfringens*).

#### 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.