

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Wpływ dojrzałości płciowej i stymulacji hormonalnej na funkcję pęcherzyków jajnikowych u loszek”
2. Czas trwania projektu 09.2020 – 12.2020r
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) altrenogest, powstawanie torbieli jajnikowych
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 doświadczeń jest zbadanie mechanizmu negatywnego wpływu, często stosowanych egzogennych gonadotropin na rozwój pęcherzyków jajnikowych u loszek. Bezpośrednią inspiracją do proponowanych badań są opublikowane ostatnio przez nas wyniki badań, wskazujące, że dotychczas stosowana tzw. klasyczna metoda stymulacji i kontroli owulacji świni (altrenogest, eCG i hCG) powoduje występowanie dużej ilości torbieli pęcherzyków jajnikowych u niedojrzałych płciowo loszek (66%) w porównaniu do dojrzałych (14%), a sama obecność torbieli pęcherzyków jajnikowych zarówno u loszek i loch wpływa na obniżenie liczby owulacji (ciałek żółtych), co bezpośrednio ogranicza wielkość miotu u świni. Wśród potencjalnych przyczyn zakłóconego rozwoju pęcherzyków jajnikowych wyróżnić możemy następujące czynniki: 1) stymulacja progestagenem niedojrzałych płciowo loszek; 2) użycie eCG (gonadotropiny

surowicy ciężarnej klaczy) do stymulacji wzrostu pęcherzyków (o powinowactwie do receptorów zarówno FSH- hormon folikulotropowy, jak i LH- hormon luteinizujący) i 3) zastosowanie hCG (ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej) o wielokrotnie dłuższym czasie biologicznego rozpadu świni, niż przysadkowy LH. Dotychczas nieznane są przyczyny oddziaływania w/w czynników na zakłócenie rozwoju pęcherzyków jajnikowych, szczególnie u niedojrzałych płciowo loszek oraz czas i miejsce zapoczątkowania przekształcania pęcherzyków jajnikowych w torbiele, dlatego w niniejszym projekcie chcemy dociec przyczyn tych zakłóceń.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Świnia domowa – 60 sztuk

W doświadczeniu zostanie wykorzystane 60 samic świni domowej - loszek o masie ciała ok. 80-120 kg podzielonych na 10 grup doświadczalnych. Eksperyment jest podzielony na trzy zadania badawcze:

Zadanie 1 - 4 grupy liczące po 6 zwierząt. Dwie grupy loszek niedojrzałych płciowo oraz dwie grupy po pierwszym cyklu rujowym. Wszystkim zwierzętom podawany będzie Altrenogest, a następnie eCG oraz hCG lub GnRH (Gonadoliberyna). Zabieg usunięcia jajników nastąpi w 30 h po podaniu hCG/GnRH.

Zadanie 2 - 4 grupy liczące po 6 zwierząt. Dwie grupy loszek niedojrzałych płciowo oraz dwie grupy po pierwszym cyklu rujowym. Wszystkim zwierzętom podawany będzie Altrenogest, a następnie eCG lub FSH. Śródoperacyjne pobranie jajników nastąpi 3-5 dni po podaniu eCG/FSH.

Zadanie 3 - 2 grupy liczące po 6 zwierząt. Loszki niedojrzałe płciowo będą otrzymywały Altrenogest przez 18 dni a następnie eCG i hCG. Ovariectomia zostanie wykonana w drugim dniu po iniekcji hCG.

Dla planowanej procedury jako parametr mierzalny wykorzystany do kalkulacji minimalnej wielkości grupy doświadczalnej wybrano różnicę w odsetku występowania torbieli pęcherzyków jajnikowych w grupach loszek dojrzałych i niedojrzałych płciowo, co pokazały wykonane przez nasz zespół badania pilotażowe.

Minimalną wielkość grupy doświadczalnej wyznaczono z wykorzystaniem zależności:

$$n \geq [(t_\gamma + t_{1-\alpha/2})^2 * s^2] / (\mu_1 - \mu_0)^2$$

gdzie: t_γ - dla standardowego rozkładu normalnego wynosi 0,68;

$t_{1-\alpha/2}$ - dla standardowego rozkładu normalnego (przy założonym błędzie $\alpha = 0,05$) wynosi 1,96;

s - szacowana wariancja (0,48);

μ_0 – odsetek występowania torbieli pęcherzyków jajnikowych u loszek dojrzałych płciowo (0,14);

μ_1 - odsetek występowania torbieli pęcherzyków jajnikowych u loszek niedojrzałych płciowo (0,66):

$$n \geq [(0,68 + 1,96)^2 * 0,48^2] / (0,66 - 0,14)^2;$$

$$n \geq 5,94$$

Mając na uwadze opisaną zmianę parametru kluczowego określono minimalną liczebność każdej grupy badawczej na n=6, co łącznie daje n=60 świń dla dziesięciu grup.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasada ograniczenia – zastosowanie minimalnej liczby zwierząt aby uzyskać odpowiednią istotność statystyczną wyników. Każda z grup doświadczalnych stanowić będzie 6 zwierząt, ale po uzyskaniu docelowego materiału z co najmniej 4 sztuk zwierząt w danej grupie, kolejne świni nie będą poddane badaniu. Liczba ta została wybrana na podstawie analizy dostępnej literatury dotyczącej badań z wykorzystaniem świni domowej jako modelu doświadczalnego. Mniejsza liczba zwierząt nie zapewniłaby uzyskania istotności statystycznej wyników.

Zasada zastąpienia – Nie ma możliwości zastosowania zasady zastąpienia, gdyż analizowany problem dotyczy tylko świni domowej (*Sus scrofa*) i nie ma porównywalnych badań na zwierzętach laboratoryjnych. Są to badania pionierskie i dopiero ich wyniki pozwolą na bardziej bezpośrednią eksplorację uzyskanych wyników na inne gatunki i człowieka. Najprawdopodobniej określenie w niniejszym doświadczeniu miejsca i czasu stygmatyzacji pęcherzyków jajnikowych w kierunku tworzenia się torbieli pozwoli na wyjaśnienie tych mechanizmów w badaniach *in vitro* na komórkach pierwotnych czy liniach komórkowych

Zasada udoskonalenia – Zapewnienie zwierzętom optymalnych warunków bytowych, w kojcach uniemożliwiających zranienie zwierząt z możliwością stałego przebywania z innymi osobnikami oraz z wystarczającą ilością materiału do grzebania (słoma i siano). W celu zapewnienia dobrego samopoczucia zwierząt zachowana będzie odpowiednia temperatura i wilgotność pomieszczeń. Zwierzęta będą odizolowane od ciągłego hałasu, przebywać będą w wentylowanych pomieszczeniach, będą miały dostęp do czystego miejsca do leżenia jak również stały dostęp do wody pitnej. Po operacji do chwili całkowitego wybudzenia zwierząt będą one przetrzymywane w oddzielnym pomieszczeniu. Okrycie z koca termicznego i włączona lampa podczerwona pozwolą uchronić zwierzęta przed hipotermią

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

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

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