

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Wpływ trzech anestetyków na parametry biochemiczne krwi oraz potencjalną toksyczność u karpia pospolitego (*Cyprinus carpio*) i pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*)”.

2. Czas trwania projektu 05.2018 – 09.2019

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) anesjacja, isofluran, MS-222, olejek goździkowy, karp pospolity, pstrąg tęczowy

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 doświadczenia będzie porównanie wpływu trzech środków znieczulających (metanosulfonianu trikainy, olejku goździkowego i isofluranu) na karpia pospolitego oraz pstrąga tęczowego. Środki znieczulające są powszechnie stosowane u ryb. Pozwalają ograniczyć stres towarzyszący zwierzętom w trakcie wykonywania czynności hodowlanych związanych z rozrodem, transportem, oraz podczas procedur związanych z doświadczeniami naukowymi. Jednak środki znieczulające to substancje, które mogą mieć negatywny wpływ na zdrowie ryb. Planowane do przeprowadzenia badanie ma na celu określenie, który z wybranych leków znieczulających jest najbardziej skuteczny do uspokajania zwierząt oraz który wywołuje u nich jak najmniejsze skutki uboczne, nawet przy kilkukrotnym podawaniu. Doświadczenie zakłada użycie metanosulfonianu trikainy, środka znanego pod nazwą handlową jako

MS-222, który jest lekiem zarejestrowanym do znieczulania ryb, olejku goździkowego, wykorzystywanego do uspokajania ryb przez hodowców oraz isofluranu, który jest środkiem zarejestrowanym do znieczulania ssaków, uznawanym za środek bezpieczny o stosunkowo niewielkiej ilości działań niepożądanych. Eksperyment obejmuje również porównanie działania środków znieczulających do grupy kontrolnej nie poddawanej działaniu anestetyków. Osobniki z grupy kontrolnej będą ogłuszane i uśmiercane poprzez przerwanie ciągłości rdzenia kręgowego przed pobraniem krwi i tkanek do analiz. Znieczulenie odbywało się będzie poprzez dodanie środka znieczulającego do wody. Po osiągnięciu anestezji od ryb będzie pobierana krew z żyły ogonowej, a następnie będą przenoszone do zbiornika z wodą pozbawioną anestetków w celu wybudzenia. W celu określenia wpływu badanych środków znieczulających na zwierzęta przy częstym znieczuleniu, doświadczenie zakłada czterokrotne znieczulenie zwierząt w tygodniowych odstępach czasu. Wpływ podawanych środków na zwierzęta badany będzie poprzez ocenę wybranych parametrów krwi, ocenę histopatologiczną zmian w narządach oraz zbadanie ekspresji genów związanych z toksycznością.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Do badań wykorzystane zostaną dwa gatunki ryb – karp pospolity oraz pstrąg tęczowy, ze względu na ich duże znaczenie w akwakulturze oraz częste stosowanie u tych gatunków środków znieczulających w celu znieczulenia zwierząt np. w trakcie czynności hodowlanych.

W doświadczeniu zaplanowano wykorzystanie 45 osobników karpia pospolitego, które zostaną podzielone na 3 grupy eksperymentalne – grupę znieczulaną metanosulfonianem trikainy (15 osobników), grupę znieczulaną olejkami goździkowymi (15 osobników) oraz grupę znieczulaną isofluranem (15 osobników) oraz 45 osobników pstrąga tęczowego, które zostaną podzielone na 3 grupy eksperymentalne – grupę znieczulaną metanosulfonianem trikainy (15 osobników), grupę znieczulaną olejkami goździkowymi (15 osobników) oraz grupę znieczulaną isofluranem (15 osobników).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: EBSCO; PUBMED; Google Scholar; AGRICOLA; ScienceDirect; Web of Science (JCR). Wykorzystałam słowa kluczowe: anestezja/ isofluran/ karp pospolity/ pstrąg tęczowy/ kortyzol/ osocze krwi/ MS-222/ olejek goździkowy/ toksyczność.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam, że w planowanych badaniach nad wpływem anestetyków na parametry biochemiczne krwi i toksyczność trzech wybranych anestetyków zastąpienie doświadczeń prowadzonych na zwierzętach metodami *in vitro* nie jest możliwe, ponieważ efekt oddziaływania badanych substancji w dużym stopniu zależy od zdolności organizmu do ich metabolizowania oraz wydalania.

- A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że karp pospolity i pstrąg tęczowy to gatunki o bardzo dużym znaczeniu hodowlanym w Polsce. Z tego względu stosunkowo często są one poddawane działaniu środków znieczulających do czynności związanych z hodowlą. Dotychczasowe badania skupiały się na ocenie skuteczności znieczulenia MS-222, olejkiem goździkowym i isofluranem. Badano również wpływ znieczulenia na niektóre z parametrów biochemicznych krwi ryb oraz dokonywano oceny histologicznej narządów biorących udział we wchłanianiu i metabolizowaniu substancji znieczulających. Wykonano doświadczenie polegające na wielokrotnym znieczuleniu tilapii nilowej i stwierdzono, że każde kolejne podanie MS-222 związane jest z efektywniejszym działaniem.
- B. Brak jest danych dotyczących wpływu wielokrotnego znieczulania ryb na zmiany w parametrach biochemicznych krwi. Nie zbadano również czy wielokrotne znieczulenie powoduje zmiany histopatologiczne w narządach wewnętrznych. Planowane badania mają obejmować znacznie więcej parametrów biochemicznych krwi niż te wykonywane do tej pory, co pozwoli określić nie tylko, który środek znieczulający powoduje u ryb najmniejszy stres ale również który najmniej negatywnie wpływa na ich zdrowie. Brak jest również danych dotyczących wpływu znieczulenia na ekspresję genów odpowiedzialnych za toksyczność.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: poszerzenie wiedzy o skuteczności i skutkach

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

ubocznych stosowanych środków znieczulających, ze szczególnym uwzględnieniem isofluranu, który jest skutecznym anestetykiem dla ryb, jednak brakuje informacji na temat zmian w parametrach biochemicznych krwi, które może on wywoływać.

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku anestezjologii ryb oraz wpływu wielokrotnego znieczulenia na zdrowie karpia pospolitego oraz pstrąga tęczowego. . Poszerzona zostanie wiedza o skutkach ubocznych znieczulenia u ryb, które mogą powodować zwiększenie ryzyka rozwoju chorób wynikających ze spadku odporności, słabszymi przyrostami oraz zmniejszoną płodnością. Jest to szczególnie ważne, ze względu na wykorzystanie środków znieczulających u ryb podczas transportu oraz czynności hodowlanych. Znajomość wpływu anestetyków na parametry biochemiczne krwi ma również bardzo duże znaczenie w przypadku interpretowania zmian w zakresie tych parametrów w przypadku badań naukowych.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na poprawie dobrostanu ryb podczas znieczulenia farmakologicznego. Kompleksowe porównanie trzech anestetyków umożliwi wytypowanie najwłaściwszej substancji znieczulającej dla badanych gatunków ryb. Ponadto pozwoli określić wpływ używanych anestetyków na organizmy ryb oraz ewentualne zwiększenie toksyczności w przypadku wielokrotnego podawania. Uzyskane wyniki będą miały również znaczenie dla akwakultury, ze względu na konieczność znieczulania farmakologicznego badanych gatunków ryb podczas czynności hodowlanych. Badane zmiany w zakresie parametrów biochemicznych krwi mogą mieć istotny wpływ na odporność, a co za tym idzie podatność na choroby i przeżywalność ryb, co ma szczególne znaczenie dla hodowców. Dodatkowo dystres związany z zastosowaniem nieodpowiedniego środka znieczulającego może negatywnie wpływać na zdrowotność przyrosty oraz płodność u ryb.

Podsumowując, uzyskane wyniki badań, poza znaczeniem poznawczym będą istotne dla akwakultury, hodowców oraz mogą przyczynić się do poprawy dobrostanu ryb w trakcie znieczulenia farmakologicznego.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

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