Streszczenie

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

Zwiększenie podaży ryb i produktów rybnych w dużej mierze uwarunkowane jest rozwojem technik kontrolowanego rozrodu. W tej formie rozrodu bardzo często stosowane są preparaty farmakologiczne, które umożliwiają synchronizację tarła, poprawiają jakość gamet i minimalizują dysfunkcje wynikające ze stresu. W praktyce do indukowania dojrzewania gamet, owulacji i spermacji stosowane są różne preparaty, w tym gonadoliberyny (GnRH). Jednakże, u wielu gatunków ryb, zwłaszcza karpiowatych (Cyprinidae), wprowadzenie do organizmu egzogennej gonadoliberyny powoduje wzmożone wydzielanie dopaminy, która negatywnie wpływa na uwalnianie GnRH i gonadotropin (GtH). To niekorzystne działanie można zniwelować poprzez podanie preparatów blokujących receptory dopaminowe. Takie właściwości wykazują antagoniści receptorów dopaminy (DA), co tłumaczy wzrost zainteresowania preparatami DA pod kątem możliwości ich wykorzystania, samodzielnie lub z GnRH, do indukowania rozrodu ryb. Należy jednak podkreślić, że badania tego typu są nieliczne, a wyniki niekompletne i niejednoznaczne. Konieczność pogłębienia wiedzy na temat wpływu DA na ryby, a także potencjalne perspektywy poprawienia dobrostanu tarlaków (właściwości uspokajające DA) i zwiększenia efektywności produkcji materiału zarybieniowego i/lub obsadowego stały się inspiracją do podjęcia prezentowanych badań. Przeprowadzono je na karasiu pospolitym (*Carassius carassius* L.), jak dotąd jedynym gatunku, u którego po zastosowaniu wyłącznie metoklopramidu odnotowano owulację i pozyskano wysokiej jakości gamety.

Celem prezentowanych badań było określenie wpływu komercyjnych preparatów opartych na analogach gonadoliberyny i antagonistach receptorów dopaminy (Ovopelu: mGnRHa + metoklopramid i Ovaprimu: sGnRH + domperidon) oraz preparatów zawierających wyłącznie DA (Metoklopramidu i Domperidonu) na: funkcjonowanie osi podwzgórze - przysadka mózgowa – gonady (HPG) i proces finalnego dojrzewania oocytów, a także poziom kortyzolu, wybranych wskaźników biochemicznych i hematologicznych, wybuchu tlenowego i aktywności fagocytarnej jako markerów stresu i odporności u samic karasia pospolitego.

Dojrzałe płciowo samice karasia (n=60) pozyskano w okresie przedtarłowym z Ośrodka Zarybieniowego „Żurawia” (Biała Rawska, Polska). Funkcjonowanie osi HPG

określono poprzez zbadanie ekspresji genów kodujących GnRH w mózgu oraz genów kodujących hormony: luteinizujący (LH) i folikulotropowy (FSH) w przysadce mózgowej, odpowiednio geny *cgnrh-II* oraz *lhβ* i *fshβ*, a także oszacowanie poziomu hormonów w plazmie krwi: LH i FSH, 17β-estradiolu (E) oraz 17α20β-dihydroksyprogesteronu (17α20β-DPH). Wpływ testowanych preparatów na proces dojrzewania oocytów oceniano mikroskopowo, wykorzystując metodę do przyżyciowego określania stopnia dojrzałości samic ryb karpiowatych.

Do oceny wpływu Ovopelu, Metoklopramidu, Ovaprimu i Domperidonu na poziom stresu i odporność samic wykorzystano dane uzyskane w badaniach *in vivo* i *in vitro*. W badaniach *in vivo* zbadano poziom kortyzolu w plazmie krwi, oznaczono i analizowano wartości parametrów biochemicznych krwi, m.in. poziom glukozy (GLU), białka całkowitego (TP), albumin (ALB), globulin (GLOB), bilirubiny (BIL), kreatyniny (CREA), amoniaku (NH_3), wybranych enzymów i jonów. Ponadto, określono wartości podstawowych wskaźników hematologicznych. W eksperymencie *in vitro* zbadano parametry wybuchu tlenowego, określono leukogram i aktywność fagocytarną.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że testowane preparaty farmakologiczne tj., Ovopel, Ovaprim, Metoklopramid i Domperidon miały ograniczony wpływ na funkcjonowanie osi HPG. Nie stwierdzono bowiem ich oddziaływania na ekspresję genu kodującego gonadoliberynę (gen *cgnrh-II*), genów kodujących gonadotropiny (geny *lhβ* i *fshβ*) oraz stężenia FSH i LH w plazmie krwi ($p > 0,05$). Trzeba jednak dodać, że występowały istotne różnice między grupami stymulowanymi Ovopelem (grupa OM) i Ovaprimem (grupa OD) w poziomie ekspresji genów *cgnrh-II* i *fshβ* oraz między grupą OM i grupą samic, którym podano Domperidon (grupa D) w przypadku genu *fshβ*. Zastosowane preparaty miały wpływ na poziom estradiolu i 17α20β-dihydroksyprogesteronu. W porównaniu do grupy kontrolnej (grupa K), istotnie wyższe stężenie E stwierdzono w grupie OM, natomiast wzrost 17α20β-DHP odnotowano w grupie OD. Adekwatnie do poziomu tych hormonów prezentowały się wyniki analiz dojrzewania oocytów. W odniesieniu do grupy kontrolnej znacząco wyższy stopień dojrzałości oocytów występował po iniekcji preparatami zawierającymi GnRHa i DA.

Analizując wyniki pomiaru stężenia kortyzolu we wszystkich grupach ryb stwierdzono podwyższony poziom tego hormonu w plazmie krwi. Nie wykazano natomiast zależności między rodzajem zastosowanego preparatu farmakologicznego a stężeniem kortyzolu. Również zmiany parametrów biochemicznych pod wpływem testowanych preparatów były niewielkie.

Dotyczyły one stężenia amoniaku (grupa K *vs* grupy M i D), kreatyniny (grupa K *vs* grupa OM), jonów potasu (grupa K *vs* grupy OD i D) oraz stosunku Na^+/K^+ (grupa K *vs* grupa D). Spośród analizowanych wskaźników hematologicznych jedynie Metoklopramid spowodował zmiany w morfologii krwi, a konkretnie wzrost wartości RBC. Zdecydowanie wyraźniej manifestował się wpływ testowanych preparatów na poziom wybuchu tlenowego i aktywność fagocytarną. Wybuch tlenowy najszybciej narastał w grupie eksponowanej na Metoklopramid, osiągając przy tym najwyższą wartość ($p \leq 0,05$). Ten preparat spowodował również istotny wzrost indeksu fagocytarnego (IF), względnego udziału komórek fagocytujących (PhC) i średniej aktywności biobójczej fagocytów (MCA). Natomiast po zastosowaniu Ovopelu wartość maksymalna wybuchu tlenowego (PIK) oraz wartości IF i PhC były istotnie niższe w porównaniu z grupą kontrolną. Ekspozycja na Ovaprim lub Domperidon skutkowała wzrostem poziomu IF i MCA.

Reasumując, podawanie samicom karasia pospolitego wyłącznie antagonistów receptorów dopaminy nie pobudzało osi HPG i nie wpływało na dojrzewanie oocytów w sposób równie efektywny, jak Ovopel czy Ovaprim. Przeprowadzone badania i analizy poziomu kortyzolu oraz wskaźników biochemicznych i hematologicznych wykazały, że testowane preparaty nie miały wpływu na poziom stresu u samic karasia pospolitego. Natomiast wyniki badań *in vitro* wyraźnie wskazują, że Metoklopramid stymulował układ odpornościowy samic karasia pospolitego, natomiast Ovopel działał supresyjnie.

Słowa kluczowe: antagonista receptorów dopaminy, dojrzewanie oocytów, karaś pospolity, odporność, oś podwzgórzowo-przysadkowo-gonadowa, stres