

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Role srdeční hlavové neurální lišty v regeneraci srdce jesetera

Doba trvání projektu pokusů v měsících	31	
Klíčová slova	srdce	
srdeční neurální lišta	regenerace	
jeseter	evoluce	

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Vývojová biologie [PB14]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Cílem projektu je otestovat roli buněk srdeční hlavové neurální lišty během regenerace srdeční svaloviny (myokardu) jesetera malého (*Acipenser ruthenus*). Z recentní publikované literatury víme, že buňky srdeční hlavové neurální lišty dánía pruhovaného (Tang et al., 2019) mají zásadní vliv na renereaci myokardu, jelikož jsou to právě tyto buňky které se rediferencují do buněk myokardu (kardiomyocytů). Nicméně stále nevíme, zdali je tato schopnost adaptací pouze této linie paprskoploutvých ryb, nebo se jedná o společnou charakteristiku všech parprkosloutvých.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Všechna data získaná z řešení tohoto projektu mají zásadní význam pro pochopení evoluce regenerace srdce v rámci paprskoploutvých ryb, ale také čelistnatců jako celku, jelikož jeseteři patří mezi tzv. bazální linie ryb. Tato data by tak mohla pomoci odhalit ancestrální mechanismus regenerace srdce u čelistnatců, což by mohlo mít i potenciál pro pochopení ztráty regenerace srdce u člověka.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Experimentální jedinci budou využiti pro regenerační experiment, kdy bude odejmuta (resekce) případně poškozena (kryoresekce) ventrální část srdeční komory (cca 20%), poté budou tito jedinci po skupinách, v různých časových odstupech od zákroku (7 dní post resekcí (dpr), 14dpr, 21dpr, 40dpr a 60dpr) utraceni předávkováním anestetika MS-222. Resekce ventrální části srdeční komory jesetera bude provedena dle postupu popsaného a aplikovaného na několik druhů paprskoploutvých ryb (viz kupř. Dickover et al., 2013). Jako alternativní technika bude využita kryoresekce, která je též rutinně využívána u modelových druhů (viz kupř. González-Rosa et al., 2011; Godwin et al., 2017; Simon & Odelber, 2015 v *Salamanders in Regeneration Research* (eds. Kumar & Simon). Všichni odchovávaní jedinci budou tři dny před usmrcením intraperitoneálně injikovány EdU každý den, a následně budou usmrceni. Tento typ experimentu umožní odhalit buňky vstupující do buněčného cyklu, respektive dělicí se buňky.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata, a doba trvání těchto účinků

Míra závažnosti je vyhodnocena jako střední. Invazivní zákrok (chirurgická resekce nebo kryoresekce) bude prováděn v plné anestézii, tak aby došlo k minimalizaci stresu a bolesti zvířete. Předpokládáme, že zvíře může po zákroku cítit bolest střední intenzity. Z publikovaných prací na dáníu pruhovaném a žebrovnicích však víme, že operovaní jedinci jsou schopni po zákroku přežít několik měsíců a ke zhoršení životních podmínek nedochází.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
	Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
jiné ryby (other Pisces) [A35]	0	0	120	0

0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0

Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat		
	Opětovné použití	Navrácení do chovu, do přírodního stanoviště	Do zájmového chovu
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty

Pokusné ryby budou v zájmu dosažení cíle projektu pokusu usmrceny za účelem odběru vzorků.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat

Předkládaný projekt si klade za cíl popsat roli buněk srdeční hlavové neurální lišty při regeneraci srdce jesetera. Z tohoto důvodu je nutné použít živá zvířata tohoto fylogeneticky důležitého druhu, který může odhalit ancestrální mechanismus regenerace srdeční svaloviny u obratlovců. Regenerační mechanismus u celých orgánů v rámci živého organismus bohužel nelze studovat in silico nebo in vitro.

Omezení používání zvířat

Plánovaný počet jedinců je omezen na nezbytné minimum, které by mělo zajistit dostatek materiálu pro další sofistikované analýzy, jako např. analýzy genové exprese, bulkRNAseq., scRNAseq, atd. Jedincům po resekci srdeční svaloviny bude umožněno zregenerovat srdce po rozdílnou dobu (7 dní po resekci (dpr), 14dpr, 21dpr, 40dpr, 60dpr), kdy každá kohorta bude obsahovat 30 jedinců. Tento počet jedinců by neměl ohrozit řešení projektů při úhynu několika jedinců, a současně by tak měl umožnit získání dostatečného počtu jedinců pro plánované analýzy.

Šetrné zacházení se zvířaty

Bude zajištěno odborně způsobilým personálem v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů a sofistikovaným odchovným systémem. Resekce srdeční komory bude prováděna v celkové anestézii (MS-222), tak aby bylo eliminováno utrpení zvířat na minimum (detaily uvedeny níže).

Použité druhy zvířat - vysvětlení

Jeseteři zaujímají v evoluci čelistnatců (Gnathostomata) unikátní postavení, jelikož patří mezi tzv. bazální linie paprskoploutvých ryb (Actinopterygii). Tyto fylogenetické linie ryb jsou klíčové pro pochopení evoluce nejen korunové skupiny Teleostei, ale i skupiny svaloploutvých (Sarcopterygii) včetně nás čtvernožců. Díky dlouholetým zkušenostem s neinvazivním množením jeseterů a jejich úspěšným odchovem na VÚRH, může být tato velmi unikátní skupina ryb využita pro studium regenerace. Pochopení základních regeneračních mechanismů u takto fylogeneticky důležité skupiny tak může mít zásadní vliv na porozumění regenerace u obratlovců sensu lato. Pro tento typ studie nelze využít buněčných linií nebo počítačového modelování, a je nutné provést tyto experimenty na „živých systémech“.