

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569					
Název projektu pokusů					
Studium patogeneze a experimentální léčba achondroplazie na transgenním myším modelu s mutací v genu pro receptor fibroblastového růstového faktoru 3					
Doba trvání projektu pokusů - v měsících		Vlastní pokus bude zahájen po nabytí právní moci rozhodnutí o povolení projektu pokusu a nepřesáhne 36 měsíců			
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾		Fgfr3, achondroplazie, inhibitor AZD4547, inhibitor ARQ087, primární cíle			
Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností					
☒	základní výzkum				
☒	translační a aplikovaný výzkum				
☐	legislativní účely a běžná výroba	kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)			
☐		jiné zkoušení účinnosti a tolerance			
☐		zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie			
☐		běžná výroba			
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat				
☐	zachování druhů				
☐	vyšší vzdělávání				
☐	odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí				
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení				
☐	udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech				
Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb					
Cílem plánovaných pokusů je detailní studium patologických procesů v myším modelu achondroplazie na úrovni jedince, tkáně a buňky, a dále testování potenciálních experimentálních léčivých přípravků vhodných k léčbě achondroplazie v průběhu vývoje.					
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)					
Očekávanými výstupy plánovaných pokusů jsou 1) Posouzení, zda jsou testované látky schopny potlačit rozvoj achondroplazie u myších modelů této nemoci. 2) Zjištění toxických a terapeutických koncentrací posuzovaných látek.					
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání					
Myším budou testované látky podávány injekčně, buď do intraperitoneální dutiny, nebo pod kůži. Maximální míra zátěže je jedna injekce každý druhý den po dobu maximálně šesti týdnů.					
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků					
Samotný fenotyp achondroplazie představuje nejzávažnější nepříznivý vliv na testovaná zvířata. Z tohoto pohledu je podávání terapeutik, která mohou jejich stav zlepšit spíše výhodou. Nicméně podávání injekcí může představovat nepříznivý zásah do pohody zvířat a způsobovat mírný stres. Jak samotný fenotyp achondroplazie, tak injekční podávání látek nepřesáhne dobu trvání 6 týdnů.					
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu					
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabu de vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	1020	-	180	-	840
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					-
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					-
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					-
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte					

Z povahy experimentů, kdy je nutné myš usmrtit provést histologickou analýzu pro vyhodnocení experimentu, není opakované použití myši možné.
Uplatňování 3R
Nahrazení používání zvířat - <i>uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i> V současné době nejsme schopni v podmínkách in vitro zcela funkčně napodobit procesy uplatňující se v rozvoji dědičných onemocnění, jakým je například i achondroplazie. Proto jsme odkázáni na využití zvířecího modelu, který nám umožní cílenou úpravou funkce námi sledovaného genu napodobit lidské onemocnění. Jedině na tomto modelu mohou probíhat testy případných budoucích terapeutik. V současné době nelze pokus na zvířeti nahradit žádnou validovanou alternativní metodou popsanou na webových stránkách Ministerstva zemědělství ČR, (http://eagri.cz/public/web/mze/ochrana-zvirat/pokusna-zvirata/projekty-pokusy-1/) a dále na stránkách Evropské společnosti pro alternativní metody (ECVAM, https://ec.europa.eu/jrc/en/eurl/ecvam).
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlíte, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).</i> Během celé studie bude použito minimální množství zvířat, které bude nezbytné pro udržení produkční kolonie a současně bude dostačující pro opakování pokusů a správné statistické zhodnocení získaných výsledků. Testování látek pro potlačení fenotypu achondroplazie je také, pro snížení počtu pokusných zvířat, rozfázováno do etap, tak aby se postupným omezením neúčinných látek a koncentrací omezil počet pokusných zvířat. V pozdějších etapách budou použity jen ty látky a ty koncentrace, a na takových vývojových stádiích, u kterých je možné očekávat terapeutický efekt.
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uveďte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu</i> Během křížení bude se zvířaty zacházeno šetrným způsobem tak, aby jim nebyla způsobena nadměrná bolest, stres, strach a utrpení. Se zvířaty bude zacházeno klidně, u zvířat v průběhu ustájení bude vybudován návyk na uchopení rukou, zvířata budou umístěna v chovných nádobách v samostatné místnosti nebo místnostech k tomu určených. V případě zhoršení zdravotního stavu budou tato zvířata neprodleně vyřazena z pokusu a usmrcena. Zvířata v chovu jsou každodenně kontrolována a v případě identifikace jakéhokoliv typu utrpení (např. obtíže s příjmem potravy, omezený pohyb, úraz jiným zvířetem), je takový jedinec bezodkladně usmrcen v souladu s vyhláškou č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat.
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií</i> Budou použity genetické modely myši, protože u nich lze indukovat růstovou poruchu kostí – achondroplasii. Protože sledujeme efekt potenciálních terapeutik na potlačení fenotypu achondroplasie, budou využívána zvířata v období růstu kostí, tedy od druhé třetiny embryonálního vývoje až do doby šesti týdnů života.

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nespecifikovaného savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech