

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Studium dynamiky růstu kostí a zubů u chameleona jemenského

Doba trvání projektu pokusů v měsících	27
Klíčová slova	skeletogeneze
odontogeneze	plazi
0	0

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Vývojová biologie [PB14]

0
0
0

Cíle projektu pokusů

Cílem projektu je studium vývoje dentice a související kostní tkáně u plazů. Zaměříme se na analýzu dynamiky formování tvrdých tkání s využitím techniky injekce fluorescenčních barev do raných juvenilních stádií. Tyto barvy mají schopnost se po vpravení do těla pokusného zvířete (i.p. injekce) inkorporovat do nově vznikající kalcifikované tkáně, čímž je možné v detailu pozorovat apozici kostní a zubní tkáně během růstu jedince a také jejich remodelaci v návaznosti na jejich vzájemné interakci.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Zuby představují univerzální orgán nezbytný zejména jako nástroj pro uchopení a rozmělnění potravy u většiny žijících i vyhynulých obratlovců a slouží tak jako dobrý model dynamiky vývoje druhů od počátku věků. V naší studii využijeme chameleona jemenského ke studiu základních mechanismů vývoje akrodonního typu připojení zubu ke kosti čelisti a rozšíříme tak vědomosti o dynamice vztahu formujícího se zubu s alveolární kostí.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Pro analýzu dynamiky formování tvrdých zubních tkání (zejména dentin a enamel) a remodelaci alveolární kosti, tedy akrodonního typu připojení zubu ke kosti čelisti, budou jedincům aplikovány fluorescenční barvy do peritoneální dutiny juvenilů chameleona jemenského. Využití dvou různých látek (Calcein green, Alizarin red) o jiných excitačních/emisních vlnových délkách umožní sledovat dynamiku růstu těchto tkání v čase.

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

Jedincům bude provedena v první fázi injekce do peritoneální dutiny představuje mírnou závažnost pro zvíře. V druhé fázi bude provedeno usmrcení zvířat před vlastním odběrem vzorků pro analýzy. Opakování pokusu na jednotlivých zvířatech není plánováno, pokusná zvířata budou v experimentu používána jednorázově.

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
plazi (Reptilia) [A30]	60	60	0	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				
Po ukončení experimentu budou pokusná zvířata humánně usmrcena tupým úderem do hlavy. Experiment s konkrétním zvířetem je vždy ukončen jeho usmrcením. Po ukončení experimentu usmrcením budou odebrané tkáně využity k celé řadě různých buněčných i molekulárních analýz pro minimalizaci užití dalších zvířat.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
V současné době nejsme schopni v podmínkách in vitro zcela funkčně napodobit procesy a vývojové mechanismy odehrávající se ve vyvíjejícím se organismu. Navrhované experimenty tedy nelze nahradit žádným buněčným nebo in vitro modelem, neboť sledujeme komplexní funkci celého orgánu. Z tohoto důvodu jsme odkázáni na využití zvířecího modelu. Tedy pokus na zvířeti nelze nahradit žádnou validovanou alternativní metodou popsanou na webových stránkách Ministerstva zemědělství ČR, (http://eagri.cz/public/web/mze/ochrana-zvirat/pokusna-zvirata/projekty-pokusu-1/) a dále na stránkách Evropské společnosti pro alternativní metody (ECVAM, https://ec.europa.eu/jrc/en/eurl/ecvam).				
Omezení používání zvířat				
Budou použity minimální nezbytné počty zvířat pro správné vyhodnocení a statistické zhodnocení získaných výsledků (Russell and Burch, 1959).				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Se zvířaty bude zacházeno klidně, budou umístěna v chovných nádobách samostatné místnosti k tomu určené. V případě zhoršení zdravotního stavu budou tato zvířata neprodleně vyřazena z pokusu a usmrcena. Zvířata v teráriích budou každodenně kontrolována osobou odborně způsobilou nahlédnutím do nádoby a v případě identifikace jakéhokoliv typu utrpení (např. úraz jiným zvířetem), je takový jedinec bezodkladně usmrcen.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Akrodonní typ připojení zubu ke kosti je výsadou pouze malého počtu chovatelsky dostupných živočišných druhů, mezi jinými i námi vybraného druhu chameleona jemenského. Kromě chameleonů je tento typ připojení popisován u agam či vyhynulých plazích druhů, dinosaurů. U gekonů a většiny dalších šupinatých plazů pak sledujeme tzv. pleurodonní typ připojení, jehož popis však není předmětem naší studie. Výběr vhodných modelových druhů je tedy značně omezen. Chameleon jemenský byl též vybrán z důvodu snadné péče o tato zvířata a dále metodika práce s embryi tohoto druhu chameleona je na našem pracovišti rutinní záležitostí.