

## NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Název projektu pokusů</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                  |
| Regenerace srdce napříč fylogenezí a ontogenezí u plazů                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                  |
| Doba trvání projektu pokusů                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 02/2024                                                                                                          |
| Klíčová slova - maximálně 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | hojení, nekróza, plazi, srdce, tkáň                                                                              |
| <b>Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | základní výzkum                                                                                                  |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | translační nebo aplikovaný výzkum                                                                                |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat                        |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | zachování druhů                                                                                                  |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | vyšší vzdělávání nebo odborná příprava                                                                           |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | trestní řízení a jiné soudní řízení                                                                              |
| <b>Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                  |
| <p>Vlastní cíle:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) popsat regenerační vlastnosti srdce v rámci vybraných druhů šupinatých plazů</li> <li>2) průběh vlastního hojení srdeční tkáně – regenerace/reparace</li> </ol> <p>Očekávané přínosy projektu:</p> <p>Komparace poznatků hojení srdeční tkáně u nelschemických modelových organismů s ischemickými modelovými organismy</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                  |
| <b>Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                  |
| <p>Výzkum vývoje a regenerace srdce je z medicínského hlediska naprosto zásadní, zejména z pohledu potenciální regenerace po IM (Infarkt myokardu). Většina studií se však zaměřuje na savčí (ischemické), případně rybí (amputace srdečního apexu) modelové druhy. Studium i jiných skupin obratlovců by mohlo přinést ucelený pohled na regenerační schopnosti srdce u obratlovců jako takových. Tento srovnávací přístup může pomoci odhalit, jaký je regenerační mechanismus (buněčný a molekulární) u poliklterních suchozemských obratlovců - plazů. Hojení a regenerace srdce u plazů byla zatím studována jen okrajově. Zavedením metody chladové poškození (tzv. cryoinjury) a netradičních druhů modelových organismů - šupinatých plazů (Squamata) napomůže osvětlit, jakým způsobem dochází k hojení srdce u těchto druhů šupinatých plazů, jejichž výrazné regenerační schopnosti (např. u autotomie ocasu) jsou všeobecně dobře známy. Předpokládá se, že srdce plazů (a jiných poliklternů) by se mělo hojit jinak než v případě savců - tj. bez fibrotické jizvy. Vlastní regenerace srdce v daném časovém období by pak mohla poukázat na celkové reparační schopnosti buněk myokardu u šupinatých plazů.</p>                                                                     |                                                                                                                  |
| <b>Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                  |
| <p>Vybrané modelové druhy šupinatých plazů dle akreditace</p> <p>Gekončík noční (<i>Eublepharis macularius</i>): adult 40ks/4 roky; juvenil 40ks/4 roky, celkem 80 jedinců/4 roky</p> <p>Anolis rudokrký (<i>Anolis carolinensis</i>): adult 20ks/4 roky</p> <p>Anolis šedý (<i>Norops sagrei</i>): adult 20ks/4 roky</p> <p>Agama vousatá (<i>Pogona vitticeps</i>): adult 20ks/4 roky; juvenil 20ks/4 roky, celkem 40 jedinců/4 roky</p> <p>Varan ostnoocasý (<i>Varanus acanthurus</i>): juvenil 10ks/4 roky</p> <p>Ještěrka tangerská (<i>Timon tangitanus</i>): adult 10ks/4 roky; juvenil 10ks/4 roky, celkem 20 jedinců/4 roky</p> <p>Ještěrka perlová (<i>Timon lepidus</i>): adult 10ks/4 roky; juvenil 10ks/4 roky, celkem 20 jedinců/4 roky</p> <p>Užovka červená (<i>Pantherophis guttatus</i>): adult 10ks/4 roky; juvenil 10ks/4 roky, celkem 20 jedinců/4 roky</p> <p>Krajta královská (<i>Python regius</i>): adult 20ks/4 roky; juvenil 20ks/4 roky, celkem 40 jedinců/4 roky</p> <p>celkový počet zvířat: 270 jedinců/4 roky</p> <p>v různých hmotnostních (a tím pádem i věkových) kohortách byl vybrán na základě výborných regeneračních vlastností.</p> <p>Na základě srovnání více druhů šupinatých plazů bude možné získat cenné výsledky v oblasti hojení jako celku.</p> |                                                                                                                  |
| <b>Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                  |
| <p>Očekávané nežádoucí účinky u zvířat jsou neprobrání se z narkózy a možný úhyn v době intervalu určený pro hojení. Míra závažnosti je závažná, protože poškozením srdečního svalu může dojít k předčasnému úhynu. Mimo anestetik a analgetik potřebných k hluboké anestezii nebudou zvířatům aplikovány jiné látky či léčiva. Usmrcení bude provedeno předávkováním anestetiky intraperitoneálně a to osobou školenou dle § 17 zák. č. 246/92 Sb. tak, aby došlo k nejmenší možné míře utrpení.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                  |
| <b>Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                  |
| <p>Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                  |
| <p>Výzkum vývoje a regenerace srdce je z medicínského hlediska naprosto zásadní, zejména z pohledu vlastní regenerace po infarktu myokardu. Výše uvedené pokusy, vzhledem ke sledování biologických parametrů, není možné otestovat pouze</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                  |

za podmínek in vitro, ale je nutno použít biologický model pokusného zvířete. Vzhledem k charakteru pokusů jsem zvážila i alternativní přístup aplikací Isoproterenolu či podvazem koronárních tepen. Nicméně na základě literatury (Ostadal et al., 1968; Hagensen et al., 2008) oba tyto přístupy mají nízkou účinnost a nedostatečnou interpretační hodnotu. Proto byla vybrána metoda poškození chladem. Očekávané přínosy projektu: Komparace poznatků hojení srdeční tkáně u nelschemických modelových organismů s ischemickými modelovými organismy.

**Omezení používání zvířat:** Vysvětlíte, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

Počet zvířat je minimalizován tak, aby byly získané výsledky statisticky průkazné. Tj. celkový počet zvířat 270/4 roky. Statistická analýza vyžaduje více než 5 jedinců/kohorta/druh, aby bylo možné charakterizovat dané fyziologické aspekty (HR, EKG apod.) a kvantifikovat vnitřní architekturu srdce u daných druhů šupinatých plazů. Počty jedinců v rámci jednotlivých druhů vychází z předchozích experimentů a výsledků již publikovaných (např.: Jensen et al., 2019).

**Šetrné zacházení se zvířaty:** Vysvětlíte volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.

**Vysvětlíte obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.**

Během celého trvání pokusu bude se zvířaty manipulováno tak, aby se co nejvíc minimalizovala případná bolest a strach a pokus bude veden osobou zkušenou v práci s pokusnými zvířaty.