

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Plasticita nervového systému a její ovlivnění hypoxií a excitotoxickými látkami u myších modelů	
Doba trvání projektu pokusů	do 12/2022
Klíčová slova - maximálně 5	Hypoxie, excitotoxicita, telemetrie, open field test
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
☒	základní výzkum
☐	translační nebo aplikovaný výzkum
☐	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
☐	zachování druhů
☐	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení
Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
<u>Prvním cílem</u> projektu je ustanovit a popsat model hypoxicko-ischemického (HI) poškození nervové tkáně u myši. Konkrétně navrhujeme modifikovaný model Rice-Vannucciho, který HI poškození vyvolává podvazem společné kravice u laboratorní myši sedmý (nebo devátý) postnatální den v kombinaci s navazující expozicí normobarické hypoxemické hypoxií (prostředí s 8% kyslíkem). Předběžné výsledky naznačují, že by se mohlo jednat o hodnotný model HI encefalopatie. <u>Druhým cílem</u> studie je sledování reaktivity nervové tkáně na excitotoxický inzult. Excitotoxiny jsou látky, které při aplikaci hlodavcům vedou k masivní aktivaci nervových buněk a případně až k jejich funkčnímu přetížení a zániku. V našem projektu budeme používat dávky, které k epileptickému záchvatu nevedou, mohou ale vyvolat poruchy učení nebo paměti, případně ovlivnit spontánní chování zvířete. Významně ovlivňují behaviorální projevy zvířete a jejich aplikace slouží jako vhodný model řady onemocnění (autismus, ADHD ad.).	
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)	
Předběžné výsledky navrhovaného modifikovaného modelu naznačují, že by se mohlo jednat o hodnotný animální model hypoxicko-ischemické encefalopatie, který by po dobrém zavedení mohl sloužit při hledání prostředků prevence, diagnostiky a terapie. Druhá část projektu, tedy sledování vlivu nízkých dávek excitotoxinů na chování savců je závažný hygienický úkol související i s potravinovou bezpečností.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Pro realizaci experimentů bude použit kmen myši laboratorní C57Bl6/NTac, respektive jeho mláďata. <u>První část studie:</u> přibližně 160 ks laboratorních myší, velikost skupiny 8-10 zvířat, velikost souboru je dána nutností ověřit statistickou významnost probíhajícího experimentu. <u>Druhá část studie:</u> přibližně 160 ks laboratorních myší, velikost skupiny 8-10 zvířat, velikost souboru je dána nutností ověřit statistickou významnost probíhajícího experimentu. Projekt celkově předpokládá zpracování maximálně 320 zvířat.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Navrhovaná míra závažnosti nežádoucích účinků u pokusných zvířat je střední. Nežádoucím účinkům na zvířata předcházíme kvalitní a precizně dávkovanou isofluranovou anestézií a precizním chirurgickým zákrokem zkušeného operátora. Myši po ukončení experimentu budou usmrceny oddělením hlavy od trupu v hluboké isofluranové anestezii (relevantní tkáně zmrazeny a dále zpracovány pro účely histologie). Kadávery budou odvezeny a likvidovány kafilérií firmou ASAVET a.s., sídlem Korunní 880/101, Praha 3.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Byly zváženy veškeré alternativní metody, zvláště techniky <i>in vitro</i>, kterými ale nelze pokus nahradit. Výsledkem je zjištění, že použití zvířat je nezbytné, protože motorickou aktivitu zvířat nelze na neživých objektech sledovat, alternativní metoda neexistuje. Pro testování není možné použít jinou metodou, než je použití laboratorních zvířat. Informace o použití zvířecího modelu pro tento typ pokusu byly čerpány z odborných publikací prostřednictvím elektronických informačních zdrojů (Web of Science, SciFinder, PubMed). Uvedený počet zvířat je maximální. Lze předpokládat menší množství zvířat.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Pro zajištění nejmenšího možného počtu zvířat v pokusu jsme použili běžných metod, které definují nezbytné požadavky na minimální počet zvířat ve skupině pro statistickou validitu výsledků v kontextu minimálního nutného počtu experimentálních objektů (Kirkwood, James; Robert Hubrecht (2010). The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals, Wiley-Blackwell).	
Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.	
Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.	
V průběhu experimentu nebudou prováděny žádné bolestivé zákroky bez adekvátního užití anestézie. Vlastní aplikace	

látek představuje pouze malé zatížení zvířete. Implantace telemetrických sond a podvaz karotidy (tedy dva nejmarkantnější chirurgické zásahy do organismu zvířete v tomto navrhovaném projektu) snášejí zvířata bez komplikací. Po celou dobu experimentu budou zvířata umístěna v chovných nádobách konvenčního chovu a budou mít přístup k potravě a vodě ad libitum.