

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Role NOS modulace srdečních progenitorů/srdečních rezidentních buněk mdx myši (mus musculus kmen C57BL/10ScSn-Dmdmdx/J) v nástupu a vývoji srdečního selhání u Duchenovy svalové dystrofie	
Doba trvání projektu pokusů	1.5.2020-31.12.2022
Klíčová slova - <i>maximálně 5</i>	Mdx, Duchennova svalová dystrofie, srdeční rezidentní buňky, syntáza oxidu dusného, kyslíkové radikály
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
<input type="checkbox"/>	základní výzkum
<input checked="" 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
Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
Cílem studie je získat základní poznatky o počtu srdečních rezidentních buněk (Sca-1, Isl-1, CD117, CD45) u svalové dystrofie a jejich schopnosti obnovovat orgán modelových zvířat, stejně jako vliv NOS inhibitorů na vývoj srdečního onemocnění a velikost populace srdečních rezidentních buněk. Tyto buňky jsou unikátním buněčným typem zajišťujícím dlouhodobou homeostázu srdečního svalu, zatímco jejich deplece a nefunkčnost má za následek fibrotické změny srdeční svaloviny a následné srdeční selhání, které je u pacientů i modelových zvířat trpících Duchennovou svalovou dystrofií akcelerováno. Laboratorní myši použité v tomto experimentu budou sloužit výhradně jako zdroj srdeční svaloviny, sloužící k analýze a případné izolaci rezidentních buněk srdeční svaloviny.	
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)	
Tento projekt je určen k rozšíření znalostí o dilatační kardiomyopatii asociované s Duchennovou a Beckerovou svalovou dystrofií (DMD/BMD) a povede k vylepšení existujících či vývoji nových terapeutických strategií pro oddálení nástupu vývoje srdečních příznaků u DMD/BMD pacientů. Navrhujeme prokázat funkční vztah mezi nestabilitou genomu srdečních prekurzorů/rezidentních buněk izolovaných z myšičího modelu DMD/BMD, mdx myši, a vývojem srdečního onemocnění těchto zvířat, které bude moci být aplikováno na lidské pacienty trpících DMD/BMD.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
C57BL/10ScSnJ je kmen myši se známou variantou s mutací v dmd genu. Tento kmen je široce používán jako model Duchenovy svalové dystrofie z toho důvodu, že nese velmi dobře charakterizovanou mutaci pro protein dystrofin a modeluje dobře lidskou variantu srdečního onemocnění. Bude použito celkem 90 zvířat, z čehož 50 bude kontrolních C57BL/6J (10 zvířat bude sloužit pro optimalizaci metody izolace a analýzy a 40 bude kontrolní skupina) a 40 zvířat kmene C57BL/10ScSn-Dmdmdx/J ponese mutaci dystrofinu. Všechna použítá experimentální zvířata budou samčího pohlaví ve věku 2-3 měsíců, 6-7 měsíců a 12-13 měsíců. Kontrolní skupina (C57BL/6J a mdx) s běžnou stravou bude porovnána se skupinou zvířat dlouhodobě krměnou stravou obohacenou o NOS inhibitory (N(G)-Nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME) a populace srdečních rezidentních buněk, stejně jako histologická analýza, bude porovnána mezi těmito skupinami	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
L-NAME může vést ke vzácným nežádoucím účinkům u zvířat způsobených sníženou tvorbou NO v tkáních, jako je snížení krevního tlaku, lokální snížení krevního toku a zánětlivá odpověď organismu vedoucí ve výjimečných případech ke smrti zvířete (Viteček et al., Mediators of Inflammation, 2012;2012:318087). Všechna zvířata budou na konci experimentu usmrcena. <i>NAVROVANÁ MÍRA ZÁVAŽNOSTI - MÍRNĚ</i>	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Po pečlivém srovnání s databází ECVAM nebyla nalezena alternativa pro zamýšlený experiment.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Bude použit minimální nutný počet zvířat pro získání statisticky významného výsledku.	
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.

Šetrné zacházení bude zajištěno: adaptací zvířat, klidným zacházením, tichým přístupem, používáním pomůcek, které nezpůsobí zvířeti strach, bolest a utrpení a návykem zvířat na uchopení rukou.