

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ 38/2019

Název projektu pokusů

Význam cholinergní signalizace ve striatu pro řízení chování a kognitivní flexibility

Doba trvání projektu pokusů | 1.1.2019 - 31.12.2023 (5 let)

Klíčová slova - *maximálně 5* | Myši; striatum; acetylcholin; behaviorální pokusy; stereotaktické operace

Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka

<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

Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

Řešení otázky základního neurovědního výzkumu: určit roli, jakou hraje cholinergní signalizace ve striatu při řízení chování a aktivaci nervových okruhů ve striatu.

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)

Objasnění základních mechanismů, které se podílejí na řízení nervových okruhů závislých na striatu, pomůže identifikovat nové terapeutické cíle využitelné při léčbě chorob, které jsou se striatem spojené: například schizofrenie, drogové závislosti, obsedantně-kompulsivní poruchy nebo Parkinsonovy choroby.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Myši geneticky modifikované (beta2-flox mutace), myši transgenní (komerčně dostupné linie B6 PV^{Cre}, Sst-IRES-Cre, 5HT3a=Cre a Rosa26-LSL-Cas9) a WT myši kmene C57BL/J. Během pěti let předpokládáme použití celkem přibližně 500 myši: 200 WT myši a 300 myši transgenních a geneticky modifikovaných.

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Nežádoucí účinky: mírná pooperační bolest a dočasný diskomfort po stereotaktické operaci

Navrhovaná míra závažnosti: střední. Nejvyšší míru závažnosti (střední) v rámci uvedeného PP představují stereotaktické operace, při kterých bude injikován virový vektor a implantovány intracerebrální kanuly. Tento zásah bude proveden v celkové anestezii a pouze jedenkrát u každé myši.

Zvířata, která nebudou využita v pokusech, při kterých již zvíře nenabude vědomí, budou podrobena eutanázii pomocí předávkování anestetikem případně pomocí oddělení trupu od hlavy, pokud to bude nutné pro získání vzorků tkáně.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Použití savčích modelů je nezbytné pro komplexní behaviorální a biochemické studie, které mají objasnit význam specifických molekul pro chování a funkci nervových okruhů u člověka. Dostatečně věrná simulace komplexního orgánu, jako je lidský mozek, není (zatím) jiným způsobem možná. Přestože počítačové modely nám mohou pomoci porozumět, jak fungují vybrané nervové okruhy či mozkové struktury, vždy je nezbytné otestovat závěry těchto modelů v reálných podmínkách *in vivo*.

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

Jedna kohorta myši bude testována v několika behaviorálních testech řazených za sebou (baterie testů). Pro histologické a biochemické studie budou použita zvířata, která byla před tím použita v behaviorálních experimentech, kdykoli to bude možné.

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.

Myši model je v tomto případě nutný, protože 1/ je u něj možné studovat chování a mechanismy probíhající v mozku, které lze s rozumnou přesností vztáhnout také na chování člověka a 2/ je možné vytvořit myši model s požadovanou genetickou úpravou.

Všechny potenciálně bolestivé a vysoce stresující procedury budou prováděny v anestezii odpovídající

hloubky. Pooperačně budou podávána analgetika a zvířata budou monitorována tak, aby v případě komplikací a neodstranitelného utrpení zvířete bylo možné zvíře okamžitě utratit. Behaviorální pokusy bude provádět jen osoba zkušená v práci s hlodavci s patřičným tréninkem a vědomostmi, jak stres zvířat během pokusů snížit na minimum.