

*Vyplňujte jen bílé kolonky!
 Formulář vyplňujte na počítači; kolonky se zvětší automaticky podle množství textu.*

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569						
Název projektu pokusů						
<i>In vivo</i> studie vlivu neuroaktivních steroidů na laboratorní myši se zavedenou mutací v genu <i>GRIN2B</i> . Projekt je součástí Národního centra kompetence.						
Doba trvání projektu pokusů - v měsících			2021-2024; 48 měsíců			
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾			Glutamátové receptory, de novo mutace, alosterická modulace,			
Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností						
☒	základní výzkum					
☒	translační a aplikovaný výzkum					
☐	legislativní účely a běžná výroba	kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)				
☐		jiné zkoušení účinnosti a tolerance				
☐		zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie				
☐		běžná výroba				
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat					
☐	zachování druhů					
☐	vyšší vzdělávání					
☐	odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí					
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení					
☐	udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech					
Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb						
Pokusy budou zaměřeny na objasnění toho, jaké jsou <i>in vivo</i> důsledky bodových mutací v <i>GRIN2B</i> genu, který kóduje jednu z podjednotek NMDA receptoru a zda je možné případné změny v chování ovlivnit farmakologicky pomocí nově vyvíjených steroidních látek. Tento směr výzkumu patří v současné době mezi priority neuropsychiatricky orientovaného výzkumu. Naše experimenty budou významným přínosem tohoto výzkumu. Výzkum chování, jejich patologického postižení a hledání nových látek ovlivňujících tyto procesy je možno provádět pouze na celých behaviorálně aktivních zvířatech a nelze je tedy nahradit žádnými jinými alternativními metodami.						
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlište mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)						
Předpokládáme, že výsledky umožní charakterizaci změn, ke kterým dochází v nervové tkáni vlivem mutací NMDA receptorů na místech, která byla nalezena u lidí s neurovývojovými a neuropsychiatrickými onemocněními a naznačí farmakologický potenciál steroidních látek tyto změny kompenzovat.						
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání						
Injekční intraperitoneální aplikace v kombinaci s <i>in vivo</i> vyšetřením – několik hodin						
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků						
Nejsou plánovány bolestivé ani jinak invazivní zákroky. Nejvyšší zátěží bude vpich injekční jehly do břišní dutiny. V předcházejících pokusech jsme zjistili, že aplikace podobných látek těm, které plánujeme testovat, vyvolala v ojedinělých případech sedaci. Neuroaktivní steroidy s pozitivním alosterickým působením na NMDA receptorech nebyly testovány v behaviorálních experimentech, a proto není možné s jistotou vyloučit vedlejší účinky – z těchto důvodů hodnotíme předpokládanou závažnost pokusů jako střední. Operační zákroky nejsou plánovány a nebudou ani prováděny. K opětovnému použití zvířat v tomto pokusu nedochází. Po skončení pokusu budou zvířata usmrcena cervikální dislokací nebo CO ₂ . Likvidace kadáverů bude provedena asanační službou, se kterou má pracoviště smlouvu						
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu						
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu		Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
			Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (<i>Mus musculus</i>)		800			x	
Zvolte položku.						

Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					0
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					0
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					0
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - <i>uvedte</i>					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - <i>uvedte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>					
Část experimentální práce bude provedena alternativními metodami studia. Jedná se o elektrofyziologická měření z linie HEK293 buněk transientně exprimující rekombinantní glutamátové receptory. Tento model navrhovatel využívá a má s ním dlouhodobé zkušenosti. Současný neurobiologický výzkum však ukazuje, že pro řešení některých experimentálních otázek jsou vhodnější <i>in vivo</i> modely. Tento směr výzkumu patří v současné době k prioritám neuropsychiatrického výzkumu a tyto pokusy významně rozšíří poznání mechanismů neuropsychiatrických poruch. Výzkum chování, jejich patologického postižení a hledání nových látek ovlivňujících tyto procesy je možno provádět pouze na celých, behaviorálně aktivních zvířatech a nelze je tedy nahradit žádnými jinými alternativními metodami.					
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlete, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie: případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).</i>					
Počty pokusných zvířat jsou vzhledem k počtu pokusných skupin minimální vzhledem k potřebám statistického zpracování a validitě výsledků.					
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uvedte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu</i>					
Budou dodržovány veškeré zásady humánního zacházení se zvířaty v souladu s platnou legislativou. Bude minimalizován stres a diskomfort zvířat během studie (handling, denní péče atd.). Neбудou prováděny bolestivé či invazivní manipulace.					
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
Myš laboratorní (<i>Mus musculus</i>) včetně jejích dvou GMO variant (mutace v genu GRIN2B)					

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nespecifikovaného savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech