

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Chov 2 myších kmenů se škodlivým fenotypem pro zavedení nové testovací strategie a pro testování nových léčiv.

Doba trvání projektu pokusů v měsících	60
Klíčová slova	Breeding
harmful phenotype	osteogenesis imperfecta
0	0

Účely projektu pokusů

Translační a aplikovaný výzkum: Poruchy svalové a kosterní soustavy u lidí [PT27]

Základní výzkum: Svalová a kosterní soustava [PB6]

Základní výzkum: Další základní výzkum [PB13]

Translační a aplikovaný výzkum: Diagnostika onemocnění [PT35]

Cíle projektu pokusů

Cílem projektu je chovat a udržet geneticky modifikované myší kmeny Aga2 a Fam46a s odpovídajícím fenotypem tak, aby sloužily jako zvířecí modely lidských onemocnění a mohly být využity jak k hlubšímu pochopení jejich rozvoje a nalezení dalších cílů a metodik včasné diagnostiky, tak k testování nových léčebných strategií a potenciálních léků těchto nemocí. U kmene Fam46a je v plánu ještě lépe prozkoumat více aspektů a příčiny rozvoje nemoci. Primárním účelem chovu vybraných myších kmenů je ustanovení modelů potřebných pro výzkum nových terapií a potenciálních léků na lidská onemocnění souvisejících s osteoporózou

Potenciální přínosy projektu pokusů

Geneticky podmíněná osteoporóza, osteogenesis imperfecta, není v současné době plně léčitelná, léčba spočívá ve zmírňování symptomů, které však zatím účinkuje jen částečně nebo v individuálních případech nemá žádaný efekt. Chov vybraných kmenů umožní rozšířit výzkum problematiky tohoto onemocnění a díky standardizovaným postupům napomůže v budoucnosti při vývoji nových diagnostických a terapeutických přístupů pro léčbu zatím neléčitelné nemoci.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Chov a genotypizace myší. V rámci chovu se v některých typech křížení bude u části jedinců projevovat jejich geneticky podmíněný škodlivý fenotyp. Pro genotypizaci bude odebrán malý vzorek tkáně z ucha nebo ocásku, obvykle jednou za život a obvykle během standardního značení zvířete. Jiné zákroky nebudou prováděny.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata, a doba trvání těchto účinků

Jediným a závažným účinkem chovu těchto myší je právě fenotyp vzniklý na podkladě jejich genetiky. Škodlivé projevy genotypu se budou vyskytovat u heterozygotních jedinců kmene Aga2 a homozygotních jedinců kmene Fam46a, homozygoti Aga2 nejsou viabilní. Fenotyp se projevuje osteoporotickými změnami kostí, jejich celkovou vysokou fragilitou, která může při vzniku zlomenin vést k různé míře bolesti, tedy utrpení, popř. až ke smrti. Aby se předešlo zbytečnému utrpení, tak budou zvířata, u nichž bude identifikováno při pravidelné zdravotní kontrole bolestivé a neléčitelné poranění, neprodleně humaně utracena.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
	Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
myš laboratorní (Mus musculus) [A1]	0	0	5100	0

0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi				
Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat			
	Opětovné použití	Navrácení do chovu, do přírodního stanoviště	Do zájmového chovu	
myš laboratorní (Mus musculus) [A1]	6413	0	0	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty				
Část zvířat bude použita do následných fenotypizačních pokusů k objasnění vzniku nemoci, validaci diagnostických testů a případných léčebných postupů. Zbytek zvířat bude po vyřazení z chovu humánně usmrcen.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Zvířata nelze nahradit, ale pouze racionálním postupem v křížení snižovat jejich počet a omezovat jejich utrpení. Výzkum vybraných lidských onemocnění probíhá intenzivně s využitím nejrůznějších in vitro a in silico modelů. Nicméně pro studium nemocí je nutné mít k dispozici modely, které plněji odrážejí komplexní reakce celého těla, což in vitro nebo in silico modely nemohou. Úplné nahrazení těchto zvířecích modelů ve studiu komplexních nemocí jako je dysregulace celých tkáňových systémů (tvorba a regenerace kostí) a hledání diagnostických a léčebných metod tedy zatím není možné.				
Omezení používání zvířat				
Primární způsob snížení počtu zvířat bude dán podrobným plánováním křížení v závislosti na plánování experimentů tak, aby nedocházelo ke zbytečnému zdvojování testování, to bude zajištěno schválenými projekty pokusů pro takové experimenty. Počty zvířat budou dále snižovány pomocí včasné diagnostiky a co nejefektivnějšího chovu. Cílem bude využít maximum vyprodukovaných zvířat buď v chovu nebo v experimentech (v rámci jiných projektů pokusů), v případě přestávky v experimentech (při započetí chovu nebo v době jeho prostého udržování) bude počet zvířat minimalizován a také budou chována tak, aby počet jedinců se škodlivým fenotypem byl co nejnižší (toto lze velmi dobře dosáhnout u kmenů Fam46a v křížení het x wt). Při započetí experimentů bude pro ně použito maximum zvířat již vyprodukovaných v rámci udržovacího chovu. I díky tomu se předpokládá, že se celkový počet použitých zvířat sníží oproti uváděným maximálním počtům, které odpovídají maximálnímu využití zvířat při intenzivním výzkumu modelu nebo testování více látek a terapií. V případě delšího dočasného přerušení experimentů bude křížení zastaveno, když byla předtím zamražena embrya a spermie pro rychlé opětovné oživení chovu. Pro chov i experiment budou vždy použity minimálně nutné počty zvířat, které se budou průběžně upravovat na základě zkušeností s reprodukčními				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Zvířata budou velmi pečlivě sledována po celý svůj život. Během křížení bude se zvířaty zacházeno šetrným způsobem tak, aby jim nebyla způsobena nadměrná bolest, stres, strach a utrpení. Se zvířaty bude zacházeno klidně, u zvířat v průběhu ustájení bude vybudován návyk na uchopení rukou, zvířata budou umístěna v chovných nádobách v místnostech k tomu určených. V případě zhoršení zdravotního stavu budou tato zvířata neprodleně vyřazena z chovu. Zvířata v chovu jsou každodenně kontrolována a v případě identifikace jakéhokoliv typu utrpení (např. obtíže s příjmem potravy, omezený pohyb, úraz jiným zvířetem), je takový jedinec bezodkladně humánně usmrcen. Mimořádně šetrné zacházení bude prioritou u jedinců s dispozicí pro zvýšenou fragilitu kostí (Aga2 heterozygoti, Fam46a homozygoti). U těch bude ošetřování probíhat speciálním způsobem, což bude zahrnovat využití speciálních nízkých krmítek, omezení pevného uchopení myši, nebudou zvedány za ocas a celkově co nejopatrnější přístup. Přitom budou jejich kontroly každodenní, aby se omezila délka utrpení v případě náhle vzniklých poranění.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Laboratorní myš má s člověkem většinu genů shodnou. Myší modely nemocí jsou etablovaným a uznávaným přístupem vhodným jak pro základní výzkum, tak pro vývoj nových diagnostických metod a léčiv. Aga2 myši jsou již popsáným myším modelem pro studium osteoporózy v podobě osteogenesis imperfecta. Fam46a myši mají podobné projevy na odlišném genetickém základě, kde kompletní fenotyp a možné paralely s mechanismem rozvoje osteoporózy u lidí nebyly ještě plně prozkoumány. Proto byly oba kmeny vybrány pro zavedení do chovu.