

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 66/2020

upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Analýza dopadů deficiencie pro geny Plec a SFRP1 na plicní fibrózu

Doba trvání projektu pokusů - v měsících 60

Klíčová slova - *maximálně pět*¹⁾ SFRP1, plektin, plicní fibróza

Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností

- | | |
|-------------------------------------|---|
| ☒ | základní výzkum |
| ☐ | translační a aplikovaný výzkum |
| ☐ | kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže) |
| ☐ | legislativní účely |
| ☐ | a běžná výroba |
| ☐ | 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

Cílem studia je analyzovat úlohu plektinu a SFRP1 při rozvoji plicní fibrózy na myších modelech, které jsou deficientní pro korespondující geny (tj. Plec a SFRP1).

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 rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)

Porozumění významu plektinu a SFRP1 v plicním epitelu může vést k rozkrytí základních mechanismů plicní fibrózy v důsledku mutací v genu kódujícím plektin a SFRP1.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání

Neinvasivní intratracheální instilace, celkem 900x (modely: akutní model bleomycinem indukované plicní fibrózy – 100 myší, 1x na myš; chronický model bleomycinem indukované plicní fibrózy – 100 myší, 6x na myš; model TGFβ indukované plicní fibrózy – 150 myší, 1x na myš; model FITC indukované plicní fibrózy – 150 myší, 1x na myš), aplikace antifibrotik gastrickou sondou, celkem 7338x (modely: akutní model bleomycinem indukované plicní fibrózy – 50 myší, 3-56x na myš; chronický model bleomycinem indukované plicní fibrózy – 50 myší, 14-42x na myš; model TGFβ indukované plicní fibrózy – 75 myší, 14-56x na myš; model FITC indukované plicní fibrózy – 75 myší, 14-56x na myš), intravenózní aplikace antifibrotik do ocasní žíly celkem 7338x (modely: akutní model bleomycinem indukované plicní fibrózy – 50 myší, 3-56x na myš; chronický model bleomycinem indukované plicní fibrózy – 50 myší, 14-42x na myš; model TGFβ indukované plicní fibrózy – 75 myší, 14-56x na myš; model FITC indukované plicní fibrózy – 75 myší, 14-56x na myš), odběr krve z očního plexu, celkem 650x (modely: akutní model bleomycinem indukované plicní fibrózy – 100 myší, 1x na myš; chronický model bleomycinem indukované plicní fibrózy – 100 myší, 1x na myš; model TGFβ indukované plicní fibrózy – 150 myší, 1x na myš; model spontánní plicní fibrózy – 150 myší, 1x na myš; model FITC indukované plicní fibrózy – 150 myší, 1x na myš). U jednotlivých modelů jsou uvedeny maximální možné počty myší a postupů.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků

Neinvasivní intratracheální instilace může vést ke zhmoždění tkání s předpokládanou dobou trvání 1 - 2 dnů. Aplikace antifibrotik gastrickou sondou může vést ke zhmoždění tkání GIT s předpokládanou dobou trvání 1 dne. Intravenózní aplikace antifibrotik do ocasní žíly nezpůsobuje výraznější bolest ani utrpení a doba trvání těchto účinků je minimální. Odběr krve z očního plexu může vést ke zhmoždění tkání oka a oční jamky s předpokládanou dobou trvání 1 - 2 dnů.

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 (Mus musculus)	1050				1050
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>uveďte</i>					
Myším bude v anestezii odebrána krev z očního plexu, poté bude myš usmrcena cervikální dislokací, bude provedena bronchoalveolární laváž a odebrány vzorky plic a ostatních orgánů.					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - <i>uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>					
Pokud existuje alternativní metoda nezahrnující použití zvířat, bude použit tento přístup. Při plánování tohoto projektu pokusů byly pro vyhledávání možných alternativ využity následující zdroje: vědecké publikace, databáze 3R (http://www.nc3rs.org.uk/category.asp?catID=3), a ALTWEB (http://altweb.jhsph.edu/resources/searchalt/index.html). Pro případ, že by se objevily nové alternativní metody, bude vyhledávání pokračovat také v průběhu projektu pokusu. Pro omezení experimentů na myších budou využity alternativní metody jako buněčné kultury, tkáňové kultury a in vitro modely.					
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlíte, 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>					
Minimální kohorty zvířat pro získání statisticky průkazných výsledků z plánovaných pokusů jsou zajištěny naprostým využitím všech odebraných vzorků z jednoho zvířete, odebráním i orgánů, které mohou být později využity k retrospektivní analýze. Zároveň počítáme i s využitím in vitro experimentů, které zajistí omezení počtu experimentů a zvířat.					
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uveďte 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>					
Utrpení, bolest a stres myši budou vždy omezeny na minimum. Myši budou chovány v optimálních podmínkách, které jsou stanoveny současnými regulacemi EU a místními zákony a vyhláškami. Myši budou pravidelně kontrolovány a ošetřovány proškolenými ošetřovateli. V případě zjevného utrpení, stresu nebo projevu nemoci přesahující deklarovanou závažnost pokusu budou pokusná zvířata okamžitě usmrcena odpovídající metodou (tedy cervikální dislokace podle Nařízení z roku 2010/63/EU Evropského parlamentu a Rady pro ochranu zvířat použitých pro vědecké účely) a následně budou analyzována. Odběr krve, intratracheální instilace a aplikace látek gastrickou sondou/intravenózně do ocasní žíly bude prováděn jenom zkušenými pracovníky.					
Použité druhy zvířat - vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií					
Kmeny myši SFRP1 KO, EGFP-SFRP1 Tg, Plec1f KO a Plec1a KO byly připraveny na genetickém pozadí C57Bl/6. Jako kontrolní kmen budou používány myši C57Bl/6. Pro pokusy budou použity myši optimálně ve věku 8-12 týdnů.					

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