

NETECHNICKÉ SHRNU TÍ PROJEKTU POKUSŮ 113/2019

Název projektu pokusů

Role HIF-1 α ve vývoji neuronů a sympatické inervace cílových orgánů

Doba trvání projektu pokusů 3 roky

Klíčová slova - *maximálně 5* Embryonální vývoj, *diabetes mellitus*, neurální vývoj, HIF1 α

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)

Cílem projektu je definovat funkční roli transkripčního faktoru HIF1 α a to jak ve vývoji neuronů tak i ve správné funkci sympatické inervace a zjistit deregulaci jeho exprese v diabetickém prostředí.

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 by mohl objasnit důležitost HIF1 α signální dráhy ve vývoji neuronů, neuronů sympatického systému a celé sympatické inervace srdce, jak jsme již ukázali v naší nedávno publikované studii (Bohuslavova R, Cerychova R, Papousek F, Olejnickova V, Bartos M, Görlach A, Kolar F, Sedmera D, Semenza GL, Pavlinkova G. HIF-1 α is required for development of the sympathetic nervous system. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019 Jul 2;116(27):13414-13423). V naší studii jsme se zaměřili pouze na inervaci srdce, předpokládáme, že sympatická inervace dalších orgánů může být delecí tohoto transkripčního faktoru negativně ovlivněna. Rovněž se pokusíme ukázat, že *diabetes mellitus*, který je zodpovědný za deregulaci funkce transkripčního faktoru HIF1 α , se podílí na zhoršené sympatické inervaci srdce a dalších cílových orgánů. Tento výzkum může vést k vývoji nových léčebných metod diabetických pacientů se zhoršenými srdečními funkcemi a víceorgánovým a systémovým selháním.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Myši nesoucí podmíněnou delecí genu *Hif1a1* řízenou expresí genu *Isl11* (*Hif1aCKO*) a globální delecí jedné *Hif1a* alely (*Hif1a^{+/-}*). Celkový počet myši: 250.

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

Myším bude vyvolán diabetes pomocí látky streptozocinu. Z našich předchozích studií víme, že myši snášejí diabetes dobře, pokud mají zajištěn dostatečný přísun vody a časté přestýlání. Navrhujeme klasifikaci závažnosti pokusu jako střední vzhledem k onemocnění *diabetes mellitus*, které vede k rozvoji patologických stavů. Po skončení experimentů budou myši usmrceny buď cervikální dislokací nebo CO₂. Likvidace kadaverů bude provedena asanační službou, se kterou má Ústav molekulární genetiky AV ČR v.v.i. smlouvu.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Studium vlivu delecce transkripčního faktoru na vývoj neuronů a sympatické inervace v průběhu embryonálního vývoje a u dospělých diabetických jedinců není možné v kontrolovaných a srovnatelných podmínkách provádět jiným způsobem než na experimentálních zvířatech

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

Získanou tkáň použijeme na více experimentů (prokrájení tkáně na imunohistologickou detekci proteinů pomocí různých protilátek, kvantitativní PCR pro veliké množství genů) a tak využijeme jeden vzorek pro více experimentů. Minimalizujeme spotřebu samic tak, že sledujeme hmotnostní přírůstek samičky v průběhu březosti a nebřezí samičky neusmrcujeme, ale znovu připouštíme. Navrhovaný počet odpovídá našim zkušenostem z našich předchozích pokusů.

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.

Se zvířaty bude po celou dobu zacházeno šetrně a v souladu se zákonem č.246/1992 Sb.na ochranu zvířat proti týrání. Myši budou chovány ve vhodných podmínkách za neomezeného přístupu k potravě a vodě. V případě

diabetických myší, bude zajištěn dostatečný přísun vody a budou pravidelně kontrolovány. O myši se budou starat zaměstnanci akreditovaného zvířetníku Ústavu molekulární genetiky AV ČR.