

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Mechanismus ovlivnění cirkadiálního systému světelnými a nesvětelnými stimuly	
Doba trvání projektu pokusů	do 08/2024
Klíčová slova - maximálně 5	potkan, suprachiasmatické jádro, epifyza, melatonin, cirkadiální systém
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)	
Savčí biologické hodiny, uložené v suprachiasmatických jádrech hypotalamu (SCN) jsou synchronizovány světlem, které působí na buňky SCN přes glutamátové synapse retinohypothalamického traktu. Způsob synchronizace je také velmi ovlivněn délkou dne tj. fotoperiodou, ke které jsou biologické hodiny momentálně adaptovány. Působení světla na cirkadiální systém může být také negativní a může přispívat k rozvoji řady onemocnění, včetně diabetu a rakoviny. Další otázkou jsou látky, které vyvolávají imunitní reakci organismu a které ovlivňují také procesy v cirkadiálních hodinách a modulují produkci epifyzárního melatoninu. Předmětem studia je studování editace RNA v suprachiasmatických jádrech, zejména druhé podjednotky AMPA receptoru, který výrazně ovlivňuje funkci receptoru a tím i citlivost cirkadiálního pacemakeru ke světelným stimulům. Dalším typem experimentu je sledování vlivu stálého světla na funkci cirkadiálního pacemakeru, a na rytmy v metabolických a imunitních markerech. Dalším typem experimentu je sledování účinku slabé intenzity světla v noci simulující světelné znečištění v přírodě na fotoperiodické reakce organismu. Studium vlivu nesvětelných stimulů na funkci cirkadiálního pacemakeru v SCN a na metabolické dráhy tryptofánu v epifyze, tj. působení inflamatorních látek typu lipopolysacharid, bude studováno na in vitro kulturách.	
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)	
Cirkadiální systém zajišťuje jednu ze základních homeostatických funkcí v organismu, časovou koordinaci všech fyziologických procesů. Jeho fungování je zásadním způsobem modulováno světelnými podmínkami vnějšího prostředí a může být ovlivněno fyziologickými i patofyziologickými změnami v organismu. Projekt je navrhován s cílem zjistit mechanismus, kterým patofyziologické faktory ovlivňují cirkadiální systém a najít způsob, jak snížit jejich negativní vliv.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Potkan kmene Wistar a Long Evans, 440 zvířat za celkové období 5 let.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Nežádoucí účinky neočekáváme žádné. Míra závažnosti: mírná - změna světelného režimu nepůsobí bolest ani utrpení, může však narušit spánkové rytmy a zvýšit únavu zvířat. Testování inflamatorních agens bude prováděno pouze na tkáňových kulturách. Po skončení experimentu budou zvířata usmrcena rychlou dekapitací po celkové hluboké narkóze. Tkáň, zejména mozková bude zpracována na histologické řezy nebo tkáňové homogenáty.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Studium cirkadiálního systému a jeho synchronizace vyžaduje práci s intaktním cirkadiálním systémem, složeným z biologických hodin a jejich vstupních drah z oka a jiných morfologicky vzdálených oblastí mozku. Proto je nutný výzkum na in vivo modelu a nelze jej nahradit alternativními metodami. Tkáňové kultury budou použity pro vliv zánětlivých procesů na fungování cirkadiálních hodin a produkci melatoninu. Tyto experimenty lze provádět in vitro tak, aby zůstala zachována validita dat a zároveň bylo eliminováno utrpení zvířat v případě indukce systémového zánětu.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Nejmenšího počtu zvířat lze docílit minimalizováním množství zvířat ve skupinách, které ještě má statistickou výpovědní hodnotu.	
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.	
Potkani kmene Wistar jsou tradiční modelový organismus pro studium cirkadiálního systému. Jejich použití je proto nezbytné pro srovnání nových výsledků se staršími poznatky. Potkani kmene Long Evans mají lepší zrakový systém a budou použiti pro některé testy vlivu intenzity a barevného spektra na cirkadiální systém.	