

## NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ

### Název projektu pokusů

### Vliv ethinylestradiolu na celosamčí triploidní populaci dánia pruhovaného

Doba trvání projektu pokusů Experimenty budou probíhat po schválení projektu pokusu, předpokládáme v průběhu roku 2019 do 12/2019.

Klíčová slova - *maximálně 5* dánio, ethinylestradiol

### 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 experimentu je vyhodnocení toxického účinku environmentálních (běžně se vyskytujících v životním prostředí) koncentrací léčivé látky ethinylestradiolu. Konkrétně budeme sledovat vliv na chování, pohlavní diferenciaci, množství vitellogeninu ve tkáních, oxidativní stres a histopatologické parametry u dánia pruhovaného (*Danio rerio*). Pro pokus budou použity triploidní stádia ryb. Na konci pokusu budou tyto parametry porovnány s parametry u kontrolní skupiny a u skupiny ryb využitých jako pozitivní kontrola.

Pokus bude prováděn z důvodu získání poznatků, zda mohou být pro testování hormonálních disruptorů, konkrétně xenoestrogenních látek, využívány triploidní stádia dánií. V pokusech, které byly na toto téma provedeny, byly využívány populace s přirozeným zastoupením obou pohlaví. Tyto látky jsou většinou zkoumány převážně z důvodů jejich vlivu na samčí populaci. Pokud by se tedy látky testovali pouze na samcích, usnadnilo by toto konečné vyhodnocení výsledků. Se stejným počtem modelových organismů bychom zároveň měli větší skupinu citlivějšího pohlaví.

### 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)

Výše uvedená látka je užívána jako účinná látka v hormonální antikoncepci. Následně je močí vylučována do odpadní vody. Čističky odpadních vod nejsou vybaveny tak, aby dokázaly tuto látku z vody zcela odstranit. Tato látka se pak dostává do povrchových vod, kde představuje potenciální zátěž pro životní prostředí.

Kromě vodních organismů může ovlivňovat i člověka. Může dojít ke kontaminaci pitné vody a tím k ohrožení zdraví lidí. Proto je třeba prohloubit znalosti o přítomnosti této látky ve vodním prostředí a jejím vlivu na ryby, jakožto necílové organismy.

### Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Dánio pruhované (*Danio rerio*) ve formě triploidů, celkem se předpokládá použití maximálně 500 ks. Celý pokus bude rozdělen do dvou fází po 250 kusech ryb.

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

Dle přílohy č. 9 Vyhlášky č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat, je pokus zařazen mezi mírné druhy pokusů. U zvířat se předpokládají změny produkci hormonů a histopatologické změny a ovlivnění ukazatelů oxidativního stresu. Po ukončení pokusu dojde k usmrcení pokusných ryb a následnému odběru vzorků.

### Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Jedná o studium vlivu toxických látek na organismus ryb, nelze tedy v rámci toho pokusu nahradit pokusná zvířata alternativní metodou.

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

Počet pokusných byl zvolen tak, aby výsledky měly dostatečnou vypovídající hodnotu a bylo je možné statisticky zpracovat. Zároveň ale byl kladen důraz na to, aby v rámci pokusu nedocházelo k nadbytečnému využívání pokusných zvířat.

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.

Jako pokusné zvíře bylo zvoleno triploidní stádium dánia pruhovaného (*Danio rerio*). Dánio pruhované je hojně používaný modelový organismus. Během celého testu bude se zvířaty zacházeno v souladu s legislativou na ochranu pokusných zvířat (Zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, v platném znění, Vyhláška č. 419/2012). Péči o zvířata budou zajišťovat osoby s osvědčením o odborné způsobilosti podle § 15d Zákona č. 246/1992 Sb., ve znění pozdějších předpisů.