

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Studium myších modelů narušené erythropoézy s důrazem na polycytémie II (pokračování schváleného projektu pokusů).	
Doba trvání projektu pokusů	do 31.12.2024
Klíčová slova - maximálně 5	Polycytémie, hypoxie, železo
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
<input type="checkbox"/>	základní výzkum
<input checked="" 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)	
1. Odhalit abnormality v buněčných signálních drahách, které vedou k rozvoji polycytémie v důsledku různých zárodečných či somatických mutací nebo v důsledku látek indukujících polycytémii a ohodnotit podíl hypoxie na výsledném fenotypu.	
2. Zjistit, které signály jsou rozhodující pro koordinaci metabolismu iontů železa u polycytemických stavů různé etiologie a u vrozené poruchy pro transportér iontů železa DMT1.	
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)	
Navržené experimenty přispějí k rozšíření poznatků o koordinaci regulace erythropoézy a metabolismu železa a také k objasnění molekulární podstaty polycytemických onemocnění. Detailní poznání této signální transdukcce a její regulace může přispět i k rozvoji nových terapeutických přístupů jak u polycytemických stavů, tak u stavů se změněnými zásobami železa.	
Druhy a přibližné počty zvířat , jejichž použití se předpokládá	
Laboratorní myš: max 1300 dospělých myší a max : 500 embryí, stáří 8,5 až 20 dní post coitum	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Myši mohou rozvinout benigní onemocnění (benigní polycytémii), která však nepředstavuje pro ně významné zdravotní riziko. Některé myši mohou rozvinout myeloproliferativní onemocnění, které však nevede k bezprostřednímu úmrtí zvířete. Po rozvoji onemocnění budou myši usmrcené a jejich hematopoetická tkáň analyzována. V případě nutnosti dlouhodobé intraperitoneální aplikace látek indukujících hypoxii a/nebo erytrocytózu se může u myší rozvinout peritonitida; tyto myši budou bezprostředně utraceny. U ostatních modelů nepředpokládáme nežádoucí účinky. Po skončení pokusu bude likvidace kadaverů zvířat probíhat v zařízení SITA CZ a. s., provoz Olomouc.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Laboratorní myš je evolučně nejbližší laboratorní model pro studium lidské hematopoézy; myši a lidská erythropoéza podléhají stejné regulaci a řada erytroidních růstových faktorů a jejich receptorů jsou navzájem kompatibilní. Specifické vědecké otázky tohoto výzkumu mohou být zodpovězeny pouze za použití myších modelů (včetně geneticky modifikovaných myší) a za použití krevních buněk derivovaných z těchto modelů. Takovéto použití pro zodpovězení obdobných (srovnatelných) vědeckých otázek je uváděno v současné odborné literatuře. Využití buněčných linií není možné z důvodu systémové regulace organismu, která se podílí na rozvoji daného onemocnění. K odhalení molekulární patofyziologie nemocí (včetně polycytémii) proto neexistuje jiná alternativa.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Celkový plán počtu použitých pokusných zvířat je stanoven s ohledem na rozsah a nutnost opakování z důvodu vysoké heterogenity fenotypu použitých myších modelů (různá míra zmnožení erytroidní a megakaryocytární řady u polycytemických myších modelů, různá míra přetížení železem a variabilita v redistribuci železa do tkání a orgánů) i z důvodu nutnosti opakování následných in vitro analýz pro validaci experimentu. Jedná se	

především o růst krevních progenitorů v různých in vitro kultivačních podmínkách s cílem analyzovat biochemické a buněčné markery. Pro tyto účely je nutné experimenty opakovat na krevních progenitorech derivovaných z několika myší.

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.

Zvolené myší modely představují modely lidských onemocnění, a protože myši a lidská hematopoéza podléhají stejné regulaci a podrobné prozkoumání molekulární patofyziologie nemoci není možné na lidech, je analýza myších modelů vhodnou alternativou, která umožní dosažené výsledky aplikovat v humánní medicíně. Použití myších modelů pro studium lidské hematopoézy obecně je uváděno v současné odborné literatuře.

Myši budou denně monitorovány veterinárním lékařem a nebudou cíleně vystaveny utrpení. V případě trvalého poškození zdravotního stavu myši v průběhu pokusu bude zvíře humánně utraceno. Všechny úkony, léčba a eutanázie (dle OECD) jsou vykonávány licencovaným veterinárním lékařem. S laboratorními zvířaty se nakládá dle pravidel uvedených v zákonu č. 359/2012 a vyhlášce č. 419/2012, kde je jasně vymezen způsob o nakládání s laboratorními zvířaty.

Invazivní zákroky budou prováděny v celkové anestezii (inhalační/injekční) s použitím vhodných analgetik.

Frekvence odběru z retroorbitálního očního splavu jednoho oka je 2x po uplynutí 14 dní od prvního odběru vždy v celkové anestezii s použitím analgetik.