

Názov projektu: Xenobiotiká a vývin preimplantačného embrya (APVV-14-0763)

Číslo konania rozhodnutia o schválení projektu: 239A/15-221

Kľúčové slová v projekte (max 5 slov): preimplantačné embryo, insekticídy, potravinové aditíva

Účel projektu*: Základný výskum

Translačný alebo aplikovaný výskum

Regulačné metódy s rutinným používaním (OECD, Výnos MH SR 2/2005 Z. z.)

Ochrana životného prostredia v záujme zdravia alebo welfare ľudí alebo zvierat

Ochrana druhov

Vysokoškolské vzdelávanie, odborné vzdelávanie

Zakladanie kolónií geneticky zmenených zvierat bez ich ďalšieho používania v postupoch

Ak je iný účel projektu, uvedie sa aký

Opísať ciele projektu: Hlavným cieľom 4-ročného výskumu bude štúdium účinkov vybraných xenobiotík na skorý embryonálny vývin. Výskum bude zameraný na dva druhy substancií, ktoré predstavujú riziko otravy perorálnou cestou pre farmové a domáce zvieratá alebo človeka: insekticídy a potravinové aditíva. Ich dopad na skorý reprodukčný potenciál samíc bude vyšetrovaný na modelovom zvierati: myši laboratórnej. Projekt bude zameraný na štúdium vplyvu materskej intoxikácie na fertilizáciu, vývinový potenciál oocytov a preimplantačných embryí a na implantáciu embryí. Získané výsledky budú okrem toho zhodnotené i v kontexte materskej kondície (tzn. v kontexte aktuálneho fyziologického a metabolického stavu). Pri látkach s potvrdeným škodlivým účinkom budú študované aj molekulové mechanizmy ich účinku.

Prínos z vykonaného projektu: Výsledky získané na embryách izolovaných z laboratórnych zvierat pomôžu definovať možné zdravotné riziká v čase oplodnenia a preimplantačného vývinu – tzn. v postpartálnom inseminačnom období u hospodárskych zvierat, v období párenia domácich a poľovných zvierat a v období prvého týždňa raného tehotenstva po prirodzenom alebo in vitro oplodnení u žien. Získané informácie by mali napomôcť pri zavádzaní preventívnych opatrení v rámci riadenia živočíšnej produkcie respektíve pri zabezpečovaní reprodukčného zdravia u ľudí s cieľom znížiť neustále narastajúce prenatálne straty.

Druhy použitých zvierat a ich predbežné počty: Myš laboratórna, predbežný počet: 2486

Predpokladaný nepriaznivý vplyv/ujma na použité zvieratá v rámci vykonávania projektu: Vo väčšine experimentov budú samice zvierat slúžiť výhradne ako darkyne experimentálneho materiálu. Izolácie oocytov, preimplantačných embryí a pohlavných orgánov budú vykonávané až po usmrtení zvierat. Výnimku tvorí čiastkový experiment, v ktorom bude nesynchronizovaným samiciam myši pred prirodzeným oplodnením samcom vo vode alebo v krmive podávané xenobiotikum v príslušnej koncentrácii – pri insekticídoch sa použije koncentrácia reziduí nameraná v krmivách pochádzajúcich z insekticídmi ošetrovaných porastov, pri aditívach sa použije koncentrácia, aká sa bežne vyskytuje v komerčne dostupných potravinách. Keďže však koncentrácie reziduí insekticídov zriedka dosahujú výšku 1/100 LD50, neočakávame pozorovateľný toxický vplyv na žiadnu z orgánových sústav.

Predpokladaná úroveň krutosti: Všetky postupy navrhujeme klasifikovať do kategórie krutosti „slabé“. Zvieratá by v ich dôsledku nemali pociťovať žiadnu alebo iba krátkodobú slabú bolesť, utrpenie alebo strach.

Uplatňovanie zásad 3R

1. Nahradenie zvierat: Plánované experimenty nie je možné vykonať alternatívnym spôsobom bez použitia živých zvierat. Databázy medzinárodne overených a uznaných alternatívnych metód ECVAM, ICCVAM, GO3R a NC3RsT neobsahujú takéto alternatívne metódy. Doterajšie poznatky o problematike neumožňujú vytvorenie adekvátneho modelu in silico, ktorý by dokázal simulovať zložitý vzťah medzi chronickou intoxikáciou matky xenobiotikami a ich vplyvom na reprodukčné procesy. Väčšina plánovaných postupov je založená na in vitro experimentoch, pri ktorých slúžia laboratorné zvieratá výhradne ako donor materiálu, čím sa minimalizuje ich diskomfort. Okrem izolovaných embryí budú v experimentoch (predovšetkým pri metodikách, ktoré vyžadujú veľký objem vstupného materiálu) využité aj embryonálne kmeňové bunky, získané z komerčných zdrojov. Hoci sú výstupy postupov zamerané na prevenciu zdravia domácich zvierat a človeka, ako modelové zvieratá boli do pokusov vybrané nižšie stavovce s podobnou fyziológiou reprodukčného procesu v preimplantačnom období vývinu.
2. Redukcia počtu zvierat: Plánované experimenty sú zostavené tak, aby bolo pre dosiahnutie očakávaných výsledkov použitých čo najmenej zvierat a aby bolo maximalizované množstvo výstupných informácií z každého použitého pokusného zvierťa. Postupy budú vykonávať iba dostatočne vyškolené a zacvičené osoby, čím sa významne zníži možná chybovosť výsledkov a nutnosť opakovania postupu. Pre výcvik technických zručností budú použité neoplodnené myši vyradené z reprodukčného cyklu. Počet použitých zvierat bol stanovený tak, aby bola zachovaná reprodukovateľnosť a validita pokusov. Usmrcovanie zvierat s následným zberom biologického materiálu je v postupe nastavené tak, aby mohlo byť vo vzorkách vyšetrených paralelne toľko parametrov, koľko bude technicky možné. Získavanie biologického materiálu sa ukončí v okamihu, kedy bude zabezpečená adekvátne kvantita vzoriek poskytujúca interpretovateľné a štatisticky preukazné výsledky.
3. Zjemnenie: Plánované experimenty sú zostavené tak, aby bola minimalizovaná bolesť alebo stres použitých pokusných zvierat a aby bol zabezpečený primeraný welfare od ich narodenia až po smrť. Zvieratá budú chované za štandardných podmienok a ich usmrtenie bude vykonávané humánnym spôsobom spôsobilými osobami.

Projekt bude podliehať opätovnému schvaľovaniu: áno nie

Keďže v projekte nie sú použité primáty ani postupy klasifikované ako „kruté“ a ani tak nestanovuje vyjadrenie etickej komisie, spätné posúdenie projektu nie je podľa § 37 NV 377/2012 Z.z. nutné.

Pri hodnotení projektu sa dohodlo, že napriek usporiadaniu
prvých použitých zvierat bude projekt spätné posúdenie
spätné posúdenie - ANO dňa 30.9.2019

Názov projektu:

Projekt 7. Rámcového programu EU – G-TwYST: GMO-Two Year Safety Testing

Testovanie bezpečnosti geneticky modifikovaných plodín pomocou toxikologických metód.

Podrobný opis cieľa pokusu a východisková situácia projektu:

Genetická modifikácia (génová modifikácia) je technológia, ktorá manipuluje s génmi a teda s DNA — nositeľkou genetickej informácie. V porovnaní s klasickým šľachtením počas genetických modifikácií sa môžu kombinovať gény ľubovoľných živých organizmov. Tak sa môžu gény vírusov, baktérií, rastlín a zvierat kombinovať a vkladať do iných živých organizmov. Živé organizmy, ktoré sú takto zmenené, nazývame geneticky modifikované organizmy, v skratke GMO. Najväčším problémom sú v súčasnosti geneticky modifikované rastliny, ktoré sú používané pri výrobe potravín, ale aj ako krmivá a predávajú sa na celom svete. Poľnohospodárstvo založené na genetických technológiách vytvára v prírode trvalé zmeny, z čoho môžu vyplývať nepriaznivé následky na prírodu, zdravie a aj celú spoločnosť. Uvedenie potravín z GM rastlín do obehu v rámci štátov Európskej únie vyžaduje povolenie Európskej komisie.

Predpokladom pre povolenie rastlín ktoré môžu byť použité na výrobu potravín je dôkaz, že z GM rastlín získané produkty sa z hľadiska zdravotnej nezávadnosti nelíšia od porovnateľných konvenčných produktov.

O GMO plodiny je zvýšený záujem, pretože ich genetická informácia je upravená tak, že sú odolnejšie voči škodcom.

Na Slovensku je pestovanie, predaj a kŕmenie zvierat geneticky upravenou kukuricou povolené. Herbicídna látka názvom Glyfosfát (Jedná sa o skrátený názov Fosfátu Glycínu, teda fosforylovanej aminokyseliny) je najčastejšou a najdiskutovanejšou zložkou geneticky modifikovaných semien, i rastlín pre svoje herbicídne a pesticídne vlastnosti. V dnešnej dobe je využívaná pre odstraňovanie škodcov a buriny z polí geneticky modifikovaných plodín. Najnovšie výsledky francúzskych vedcov, ktorí skúmali jej účinky, sú však rozporuplné. Prof. G. Erica Seralini sledoval so svojim tímom počas dvoch rokov vplyv genetickej modifikovanej kukurice tolerantnej voči rozsiahle používanému pesticídu Roundap. Vedci poukazovali na možný karcinogénny účinok. European Food Safety Authority aj vedecká komunita síce zaujala k tomuto výskumu vzhľadom na nedostatočnú dokumentáciu výsledkov skeptické stanovisko, napriek tomu Európska komisia dala podnet na vypísanie EU projektu 7. rámcového programu s konštatovaním, že štandardne vykonané **dlhodobé štúdie skúmajúce dopady geneticky modifikovaných potravín na ľudské zdravie stále chýbajú.**

Hlavnými oblasťami, ktorými sa zaoberá EFSA, je vedecké hodnotenie rizika a komunikácia o riziku. Táto skutočnosť bola podnetom pre vyhlásenie projektu EU na stanovenie bezpečnosti na základe toxikologických štúdií.

Riešenie projektu je v súlade s metódami OECD TG 408 (=metodika B.26), modifikovanými podľa odporúčaní EFSA, OECD TG 453 (=metodika B.33) modifikovanými podľa odporúčaní EFSA a OECD TG 451 (metodika B.32). modifikovanými podľa odporúčaní EFSA pre testovanie potravy a krmív.

(Guidance on conducting repeated dose 90-day oral toxicity study on whole food/feed : EFSA Journal 2011,9(12):2438 , EFSA Scientific Committee-European Food safety Authority, Parma, Italy)

1. Vykonať 90-dňový kŕmny pokus s izogénnou kukuricou ošetrovanou ROUNDUP –om . Tento test vykonať podľa OECD TG 408 a v súlade s kritériami EFSA (metodika B.26) „Test subchronickej orálnej toxicity - opakovanej 90 dňovej štúdie orálnej toxicity u hlodavcov“.

2. Vykonať 90 dňové kŕmne pokusy s GM kukuricou NK603 a MON810. Tieto kŕmne pokusy vykonať podľa OECD TG 408 a v súlade s kritériami EFSA (metodika B.26) „Test subchronickej orálnej toxicity - opakovanej 90 dňovej štúdie orálnej toxicity u hlodavcov“. zameraný na metabolomické, transgenomické, imunologické a endokrinologické vyšetrenia

3. Vykonať štúdiu kombinovanej toxicity / karcinogenity s GM kukuricou NK603 podľa OECD TG 453 a kritérii EFSA (metodika B.33) „Test kombinovanej chronickej toxicity / karcinogenity“.

4. Vykonať štúdiu karcinogenity s GM kukuricou MON810 podľa OECD TG 451 v súlade s kritériami EFSA (metodika B.32) „ Test karcinogenity“ a metodiku OECD TG 453 (B.33) aplikovateľnú na testovanie kompletnej kŕmnej diéty u hlodavcov .

Pomocou týchto toxikologických metód je možné charakterizovať a kategorizovať zdravotné následky vyvolané používaním geneticky modifikovaných rastlín v potravinovom reťazci. Používanie GM kukurice dáva do pozornosti nedostatok základných toxikologických informácií týkajúcich sa tejto problematiky.

V minulých rokoch sme v rámci schváleného projektu EU „GRACE“ hodnotili pomocou obdobných metodík GMO kukurice od 2 rôznych dodávateľov. Z projektu už bola časť publikovaná:

„Ninety-day oral toxicity studies on two genetically modified maize MON810 varieties in Wistar Han RCC rats“

(EU 7th Framework Programme project GRACE) Dagmar Zeljenková a kol.

Archives of Toxicology, December 2014, Volume 88, Issue 12, pp 2289-2314

Ďalšie časti projektu sa vyhodnocujú a priebežne pripravujú na publikácie a vytvorenie záverov pre hodnotenie GMO plodín.

EU vyžaduje vyhodnotenie nie iba 90-dňových štúdií, ale aj zistenie dlhodobého vplyvu GM plodín, čo je našou hlavnou úlohou popri vedeckom hodnotení v ostatných častiach projektu.

Všetky tieto body sú obsahom uvedeného projektu, ktorý je vykonávaný v krajinách EU (príloha) a najpodstatnejšiu časť tvorí vykonanie toxikologických štúdií, ktoré budú realizované na SZU v režime SLP a v SPF podmienkach.

Špecifické ciele projektu:

- Výsledky štúdie prinesú nové informácie o GM kukurici aj z hľadiska medicíny a prispejú k identifikácii cieľových orgánov a možných mechanizmov toxicity resp. karcinogenity
- Získané poznatky budú prínosom pre komplexné hodnotenie interakcií so živými systémami
- Identifikácia mechanizmov ktorými môže GM kukurica vykazovať toxické / karcinogénne účinky na úrovni CNS, tkanív, orgánov cicavcov.
- Prispieť k systémovému hodnoteniu GM kukurice a priniesť nový pohľad na jej použitie a bezpečnosť.
- Výsledky budú použité ako podklad pre vytváranie inovovaných metodík EFSA pre GMO food/feed

Počet a typ zvierat, ktoré sa v projekte použijú:

V projekte bude použitý potkan laboratórny (*Rattus norvegicus*), kmeň Wistar, samce a samice. Riešenie projektu je rozdelené do štyroch štúdií. Do pokusov v štyroch štúdiách projektu budú zaradované zvieratá vo veku 4-6 týždňov.

Štúdia 1.: V 90-dňovom kŕmnom pokuse s s izogenetickou kukuricou ošetrovanou ROUNDUP-om bude použitých 8 skupín, z toho 8 pokusných + sentinel. Pre každú skupinu a typ ošetrovania ROUNDUP-om izogenetickej kukurice bude použitý minimálny počet 16 ks samcov a 16 ks samíc. Spolu v 272 ks potkanov

Štúdia 2.: V 90-dňových kŕmnych pokusoch s GM kukuricou NK603 bude použitých 5 skupín, z toho 1 kontrolná, 1 absolútna kontrolná, 3 pokusné a sentinel (12ks). Pre každú skupinu a typ skúmanej kukurice bude použitý minimálny počet 16 ks samcov a 16 ks samíc. Spolu bude použitých 172 ks potkanov.

Štúdia 3.: V dvojročnej štúdii kombinovanej chronickej toxicity / karcinogenity s GM kukuricou NK603 bude použitých 5 skupín, z toho 1 kontrolná, 1 absolútna kontrolná, 3 pokusné a sentinel (20ks). Pre každú skupinu bude použitý minimálny počet 50 ks samcov a 50 ks samíc. Spolu bude použitých 520 ks potkanov.

Štúdia 4.: V jednoročnej štúdii karcinogenity s GM kukuricou MON810 bude použitých 5 skupín, z toho 1 kontrolná, 1 absolútna kontrolná, 3 pokusné a sentinel (10). Pre každú skupinu bude použitý minimálny počet 20 ks samcov a 20 ks samíc. Spolu bude použitých 210 ks potkanov.

Na celé obdobie realizácie projektu je pre riešenie v štyroch štúdiách plánovaných 587 ks samcov a 587 ks samíc, spolu 1174 ks potkanov.

Počty zvierat v skupinách sú dané jednak použitím odporúčaných metodík OECD TG 408 – B.26, TG 453 – B.33 a TG 451 – B.32 a jednak minimálnym počtom použitých zvierat vzhľadom na vyhovujúce matematicko – štatistické spracovanie výsledkov (min. počet zvierat v skupine bol konzultovaný so štatistikom).

Preukázanie súladu s požiadavkou nahradenia, obmedzenia a zjemnenia:

Požiadavka nahradenia:

Vplyv GM kukurice na organizmus cicavcov nie je možné skúmať použitím screeningových testov *in vitro*. Tieto testy neposkytujú dôkaz, že GM kukurica je toxická resp. karcinogénna. Preto bola pre zabezpečenie výskumu toxicity / karcinogenity GM kukurice po zhrnutí všetkých predložených dostupných materiálov na European Medicines Agency daná podmienka testovať toxicitu / karcinogenitu GM kukurice v dlhodobých kŕmnych pokusoch na potkanoch. Alternatívna metóda, ktorá by bola adekvátnou náhradou testu na zvieratách nie je registrovaná v Európskom centre pre validáciu alternatívnych metód, ani ako OECD metodika.

Požiadavka obmedzenia:

GM kukurica bude zapracovaná v určitom množstve do kompletnej granulovanej kŕmnej diéty a podávaná potkanom v pokusných skupinách.

Projekt výskumu toxicity / karcinogenity GM kukurice sa riadi príslušnými metodikami OECD a EFSA a z nich vyplývajúcim odporúčaním minimálneho počtom zvierat pre každú metodiku.

Počty zvierat v skupinách sú dané minimálnym počtom zvierat použitých na biochemické merania v dvoch časových bodoch a minimálnym počtom zvierat ktoré prežijú po ukončení experimentu. Použitím nových štatistických programom testovania (SPSS-16), získané výsledky pri použití odporúčaného minimálneho počtu zvierat v skupine neznižujú reprodukovateľnosť a validitu pokusu (konzultované so štatistikom).

Požiadavka zjemnenia:

Dobrá starostlivosť a umiestnenie zvierat sú zabezpečené dodržiavaním interných „Štandardných pracovných postupov“ (ŠPP) oddelenia toxikológie a jeho zverinca na , ktoré je akreditovaným laboratóriom pracujúcim v režime Správnej laboratórnej praxe (SLP) od roku 1994.

Denným sledovaním zdravotného stavu, dochádza k jemnej manipulácii so zvieratami a kontaktu s tými istými osobami, čím sa maximálne eliminuje stres zvierat.

GM kukurica bude súčasťou kompletnej kŕmnej, granulovanej diéty, ktorú budú zvieratá prijímať ad libitum. Tento spôsob aplikácie GM kukurice je humánny, bežne sa používa v pokusoch na laboratórnych zvieratách a je odporúčaný aj v metodikách OECD TG 408, 453 a 451 v pokusoch na potkanoch.

Zvieratá budú usmrčované v dôsledku masívneho vykrvácania v hlbkej anestézii dvoma spôsobmi. 1. i.p. injekciou ketamín/xylazín budú uvedené do hlbkej anestézie a následne im bude odobraté maximálne možné množstvo krvi cez arteria abdominalis alebo vena cava inferior. 2. Pred dekapitáciou budú uvedené do spánku pomocou inhalačnej anestézie (dietyléter). Oba postupy sú humánne so slabou mierou krutosti.

Opis vzniknutej ujmy na zvieratách

Počas realizácie projektu budú na zvieratách vykonávané postupy zaradené podľa klasifikácie krutosti postupov v súlade s Prílohou č. 4 k Nariadeniu vlády č. 377/2012 Z. z. nasledovne:

- 1) vyvolanie spontánneho vzniku nádorov, ktoré by mali zistiteľné klinické nepriaznivé následky, sa pri dlhodobom prirodzenom príjme potravy s obsahom GM kukurice nepredpokladá: slabá krutosť postupu
- 2) intraperitoneálne podávanie anestézie (ketamín/xylazín) : slabá krutosť postupu
- 3) inhalačná anestézia (dietyléter): slabá krutosť postupu
- 4) obmedzený počet odberov krvi < 10 % cirkulujúceho objemu: slabá krutosť postupu
- 5) krátkodobé obmedzenie pohybu v metabolickej klietke (< 24 hod.): slabá krutosť postupu
- 6) štúdie s chronickej toxicity/karcinogenity s neletálnym ukončením pokusu: stredná krutosť postupu

Literatura:

- EFSA Scientific Committee (2011) Guidance on conducting repeated-dose 90-day oral toxicity study in rodents on whole food/feed. European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy Journal 2011;9:2438.
- OECD (1998) Test No. 408 - Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 Health Effects.
- The OECD Test Guideline 451 for Testing of Chemicals; "Carcinogenicity studies" (adopted on the 9th of September 2009)
- OECD (2009) Test No. 453 – Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity studies. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 Health Effects.
- The EFSA Considerations on the applicability of OECD TG 453 to whole food/feed testing (EFSA Scientific Opinion, 2013).
- „Ninety-day oral toxicity studies on two genetically modified maize MON810 varieties in Wistar Han RCC rats“
(EU 7th Framework Programme project GRACE) Dagmar Zeljenková a kol.
Archives of Toxicology, December 2014, Volume 88, Issue 12, pp 2289-2314

Späťne posedenie: NIE

Príloha č. 5

Netechnické zhrnutie projektu podľa § 35 ods. 2 písm. b) a § 40 nariadenia

Názov projektu: **Plúcny surfaktant a lipopolysacharid: vzájomné pôsobenie a jeho funkčné dôsledky** - 2526/15-221

a) Informácie o cieľoch projektu:

Projekt je plánovaný ako experimentálna štúdia. Jej hlavným cieľom je prispieť k porozumeniu jednej z kľúčových funkcií pľúcneho surfaktantu, ktorou je okrem znižovania povrchového napätia v respiračnom systéme aj účasť v lokálnych obranných mechanizmoch. HLAVNÝM CIEĽOM je objasnenie vzťahu medzi pľúcny surfaktantom a lipopolysacharidom pomocou niekoľkých modelov.

ČIASTKOVÉ CIELE:

- 1) V in vitro experimentoch na modeli pulzujúcej bubliny zhodnotiť, či a do akej miery lipopolysacharid (LPS) ovplyvňuje povrchové vlastnosti exogénneho modifikovaného surfaktantu z prirodzených zdrojov (Curosurfu) a či je možné jeho potenciálnu inhibíciu ovplyvniť pridaním niektorých látok ako napr. polymyxínu B.
- 2) Vytvoriť experimentálny model respiračného zlyhávania u potkanov intratracheálnou instiláciou LPS, imitujúci bakteriálnu infekciu. Na tomto modeli potvrdiť inaktiváciu endogénneho surfaktantu, objasniť jej mechanizmy a následnú efektívnosť terapie exogénnym surfaktantom. Cieľom tejto časti projektu bude zároveň zistiť, či surfaktant môže poslúžiť ako nosič antibiotík pre ich vpravenie do pľúc pri liečbe infekcií vyvolaných gram-negatívnymi baktériami, ktorých membrány sú zdrojom LPS.

Získané výsledky budeme hodnotiť vhodnými štatistickými metódami (test ANOVA, prípadne neparametrickými testami (Wilcoxon a Kruskal-Wallis).

Predpokladaný prínos projektu:

Projekt prinesie nové, originálne poznatky týkajúce sa jednej z kľúčových úloh surfaktantu v obranných mechanizmoch pľúc v situáciách bakteriálneho zápalu, imitovaného podaním lipopolysacharidu (LPS). Budú vytvorené modely akútneho poškodenia pľúc u dospelých jedincov, v ktorých sa bude testovať liečba exogénnym surfaktantom a jej vplyv na pľúcne funkcie a zápalové parametre. Ochorenia spojené s respiračným zlyhávaním v dôsledku inaktivácie endogénneho surfaktantu v dospelosti alebo u novorodencov majú stále vysokú morbiditu a mortalitu. Preto dôkaz priaznivého efektu tejto liečby bude dôležitým poznatkom, potenciálne využiteľným v klinickej praxi. Pre klinickú prax významným bude aj dôkaz, že surfaktant môže poslúžiť ako nosič

antibiotík pre ich vpravenie do respiračného systému pri diagnózach akútneho pľúcneho poškodenia vyvolaného lipopolysacharidom. Takáto liečba eliminuje nežiaduce systémové účinky antibiotík a zvyšuje ich dostupnosť v mieste pôsobenia, teda v bronchoalveolárnom priestore.

Ujma na zvieratách:

Manipulácia so zvieratami bude zabezpečená tak, aby boli uspokojené ich základné fyziologické potreby vrátane klimatických podmienok a poskytnutia optimálneho množstva vhodnej potravy a tekutín *ad libitum*. Do laboratória budú zvieratá privezené z centrálneho zverinca vozidlom špeciálne upraveným na transport zvierat tesne pred postupom a budú umiestnené v laboratóriu, kde im zabezpečíme vhodné podmienky. Po aklimatizácii na podmienky prostredia šetrným spôsobom a bez vyvolávania zbytočného stresu zvieratám podáme anestéziu (uretán a chloralóza i.p.). V celkovej anestézii budú následne vykonávané všetky chirurgické zákroky – naoperovanie a zavedenie tracheálnej kanyly a katétrov do a. a v. femoralis a v. jugularis ext. V celom ďalšom priebehu postupu budú zvieratá v celkovej anestézii, hĺbka ktorej bude udržiavaná kontinuálnym podávaním anestetika (uretán a chloralóza) i.v. pumpou a bude priebežne monitorovaná a kontrolovaná. V prípade potreby bude dávka anestetika zvýšená. Počas postupu budú zvieratá umiestnené na vyhrievanom operačnom stole, aby nedošlo k neprimeranému poklesu ich telesnej teploty. Priebežne budú zvieratám kontrolované vitálne funkcie (tlak krvi, frekvencia srdca). Po skončení postupu zvieratá v bezvedomí podáme letálnu dávku anestetika - Thiopentalu za kontinuálnej kontroly tlaku krvi a EKG záznamu.

Z hľadiska posúdenia možného prínosu projektu je predpokladaná ujma na zvieratách primeraná, keďže celý postup je vykonávaný v celkovej anestézii zvieratá.

Klasifikácia krutosti postupov: slabá/bez možnosti zotavenia.

Projekt nevyžaduje spätné posúdenie (podľa Nariadenia vlády SR č. 377/2012 Z.z.).

Predpokladaná doba riešenia projektu:

Predpokladaná doba riešenia projektu – 4 roky 1.9.2015-31.12.2015 a 1.1.2016-31.12.2018, počas ktorých uskutočníme 96 čiastkových postupov, pričom v každom použijeme iba jedno zviera (potkan laboratórny).

b) Preukázanie súladu s požiadavkou nahradenia, obmedzenia a zjemnenia:

Charakter nášho projektu nedáva možnosť dosiahnuť požadovaný, reprodukovateľný a validitný výsledok inou dostupnou metódou bez použitia zvierat. Všetky aktivity súvisiace s postupmi budeme vykonávať v súlade s platnými zákonmi a nariadeniami ako aj medzinárodne zavedenými osvedčenými metódami v starostlivosti o laboratórne zvieratá, aby sme zabezpečili humánne a zodpovedné zaobchádzanie so zvieratami.

Metodické postupy, ktoré použijeme pri realizácii projektu používame dlhodobo a veľmi sa osvedčili v rámci riešenia predchádzajúcich vedecko-výskumných úloh. Výsledky získané týmito metódami boli publikované a prezentované na mnohých odborných fórach doma aj v zahraničí. Z hľadiska dodržiavania zásad práce s pokusnými zvieratami neboli voči nim vznesené žiadne námietky, či už na odborných fórach v rámci diskusií alebo v oponentských posudkoch publikovaných článkov.

Postupy projektu sú pripravené tak, aby sa maximálne vylúčil strach, zbytočná bolesť a utrpenie zvierat a aby boli zvieratá využité humánne a zodpovedne na získanie nových vedeckých poznatkov prispievajúcich k účelnej farmakoterapii. Považujeme preto nami navrhované metódy za vhodné aj pre realizáciu predkladaného projektu.

Pri realizácii postupov projektu sa budeme snažiť dodržiavať všeobecné **zásady 3R**:

- **zjemnenie** (Refinement), **zníženie** (Reduction) a **nahradenie** (Replacement).

Zjemnenie (Refinement): Spôsob manipulácie so zvieratami a starostlivosť o zvieratá počas postupu bude v súlade s požiadavkami uvedenými v *Nariadení vlády SR č. 377/2012 Z.z.* a *Vyhláške Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR č. 436/2012 Z.z.*

Operačné výkony budú vykonávané v celkovej anestézii (uretán 600 mg/kg + α -chloralóza 60 mg/kg i.p.). Počas ďalšieho priebehu postupu budú zvieratá v celkovej anestézii, ktorá bude udržiavaná kontinuálnym i.v. podaním α -chloralózy (4 mg/kg/hod) + uretánu (80 mg/kg/hod) injekčným dávkovačom. Po operácii bude zvieratám venovaná štandardná pooperačná starostlivosť.

Zníženie (Reduction): Na získanie platných výsledkov použijeme 8 zvierat v každej ventilovanej resp. liečenej skupine a 7 zvierat v kontrolnej skupine, čo považujeme za najnižší možný počet tak z hľadiska reprodukovateľnosti, ako aj z hľadiska získania nevyhnutných údajov a objektívne hodnotiteľných výsledkov. Menší počet zvierat by mohol spôsobiť výraznejšie pôsobenie inter-individuálnych rozdielov s možnosťou spochybnenia objektívnosti výsledkov.

Nahradenie (Replacement): Postupy projektu nie je možné vykonať bez použitia zvierat. Potkan laboratórny je v súčasnosti akceptovaný ako relevantný model poškodenia pľúc vyvolaného LPS. Pri takto plánovanom projekte nie je možné použiť nižší živočíšny druh. Vzhľadom na protokol postupov projektu je potkan najvhodnejším živočíšnym druhom v našich podmienkach.

Spätné posúdenie: nie

Príloha č. 2 NETECHNICKÉ ZHRNUTIE PROJEKTU, 2614/15-2216

„Modulačný účinok vodných extraktov vybraných rastlín na hojenie kožných rán v in vivo experimente“

k žiadosti o schválenie projektu pokusu podľa § 7 ods. 1 písm. j) vyhlášky č. 436/2012 Z. z. príloha č. 2

Číslo konania rozhodnutia o schválení projektu:

Kľúčové slová v projekte (max 5 slov): vodný extrakt, hojenie, fytoterapia, skorocel, pagaštan

Účel projektu*: Základný výskum

Translačný alebo aplikovaný výskum

Regulačné metódy s rutinným používaním (OECD, Výnos MH SR 2/2005 Z. z.)

Ochrana životného prostredia v záujme zdravia alebo welfare ľudí alebo zvierat

Ochrana druhov

Vysokoškolské vzdelávanie, odborné vzdelávanie

Zakladanie kolónií geneticky zmenených zvierat bez ich ďalšieho používania v postupoch

Ak je iný účel projektu, uvedie sa aký

Opísať ciele projektu:

Predmetom záujmu nášho vedecko-výskumného tímu budú vybrané rastlinné extrakty, ktorých účinkov na hojenie kožných rán bude analyzovaný v in vivo štúdiu. Prihliadajúc na tradíciu fytoterapie na Slovensku, ako aj na potenciál a budúce potencionálne klinické využitie sa predmetom nášho záujmu a podrobnej experimentálnej verifikácii podrobia extrakty z nasledujúcich rastlín: skorocel kopijovitý (*Plantago lanceolata* L.), pagaštan konský (*Aesculus hippocastanum* L.) a aloe vera (*Aloe vera* L.). Na trhu aj v odbornej spoločnosti je používanie rastlinných extraktov stále populárnejšie avšak o uvedených rastlinách doteraz absentuje celistvá štúdia vplyvu skorocela kopijovitého a pagaštanu konského na hojenie rán.

Prínos z vykonaného projektu (napr. aký je prínos pre vedu, ľudstvo, zvieratá)

Vzhľadom na všeobecnú aplikáciu touto štúdiou potvrdíme ale vyvrátíme informácie o pozitívnom efekte uvedených rastlín na hojenie rán. Ak sa potvrdí tento pozitívny efekt výsledky štúdie by mohli ozrejmiť mechanizmus účinku a špecifikovať indikačné kritériá a následne byť východiskom k širšej aplikácii skúmaných rastlín: skorocel kopijovitý (*Plantago lanceolata* L.), pagaštan konský (*Aesculus hippocastanum* L.) a aloe vera (*Aloe vera* L.) na vytvorení aplikačnej schémy použiteľnej v humánnej medicíne.

Druhy použitých zvierat a ich predbežné počty:

Samce potkana plemena Sprague-Dawley v počte 168

Predpokladaný nepriaznivý vplyv/ujsma na použité zvieratá v rámci vykonávania projektu:

Pooperačná bolesť po chirurgickom zákroku v celkovej anestézii na koži potkana

Predpokladaná úroveň krutosti:

Stredná kategória krutosti

Uplatňovanie zásad 3R

1. Nahradenie zvierat:

Proces hojenia rán je komplikovaný a komplexný proces, ktorý doteraz podľa dostupnej literatúry nebol nahradený neanimálnym modelom na komplexnú štúdiu všetkých štádií kožných rán.

2. Redukcia počtu zvierat:

Minimálne množstvo zvierat nachádzajúcich sa v jednom súbore je vzhľadom na elimináciu rozptylu výsledkov na základe individuálnych rozdielov medzi jedincami 7 a taktiež v štúdiách publikovaných na uvedenú tému sa počet zvierat v jednotlivých skupinách pohybuje v uvedenom intervale. Počet zvierat sme redukovali vzhľadom na fyziológiu kože potkanov o skupiny v ktorých by bolo sledované hojenie rán svalov.

3. Zjemnenie:

Najvýznamnejšou výhodou použitia potkanov v štúdiách hojenia kožných rán je prítomnosť silnej svalovej vrstvy v základnej štruktúre kože a preto v štúdiách hojenia rán nie je nutné vytvoriť samostatnú skupinu na hojenie svalových rán. Na zníženie stresu zvierat bude použitá neinvazívna plynná anestézia počas ktorej budú realizované všetky invazívne postupy (intramuskulárna aplikácia analgetík pred operáciou, alebo iná aplikácia liečiv počas 1. dňa pokusu, príprava zvierat na operáciu vrátane prípravy operačného poľa) a zvieratá budú usmrtené aplikáciou Thiopenthalu intraperitoneálne 375 mg/kg

Projekt bude podliehať opätovnému schvaľovaniu: ☒ áno ☐ nie

"Stimulácia hojenia rán fytoestrogénom (genisteín) v post-menopauzálnom období u potkanov"

k žiadosti o schválenie projektu pokusu podľa § 7 ods. 1 písm. j) vyhlášky č. 436/2012 Z. z. príloha č. 2

Číslo konania rozhodnutia o schválení projektu:

Kľúčové slová v projekte (max 5 slov): genisteín, hojenie rán, kožný lalok, postmenopauzálna zmeny

Účel projektu*: Základný výskum

Translačný alebo aplikovaný výskum

Regulačné metódy s rutinným používaním (OECD, Výnos MH SR 2/2005 Z. z.)

Ochrana životného prostredia v záujme zdravia alebo welfare ľudí alebo zvierat

Ochrana druhov

Vysokoškolské vzdelávanie, odborné vzdelávanie

Zakladanie kolónií geneticky zmenených zvierat bez ich ďalšieho používania v postupoch

Ak je iný účel projektu, uvedie sa aký

Opísať ciele projektu:

Vzhľadom na nežiadúce účinky neselektívnej estrogénovej substitučnej terapie je v humánnej medicíne nastavený trend modulovania estrogén dependentných procesov využívaním selektívnych estrogénových receptorových modulátor. Nižší výskyt chronických civilizačných ochorení v Ázii sa pripísal aj vysokému obsahu sóje v potrave obsahujúcej fytoestrogény. Táto informácia spôsobila zvýšený záujem o blahodárny vplyv fytoestrogénov na ľudské zdravie. Doposiaľ neboli objasnené účinky genisteínu na zápalovú fázu hojenia, tvorbu granulačného tkaniva a vyzrievanie jazvy. Taktiež nie je jasné ako by genisteín moduloval prihojenie kožného laloka, ktorý má horšiu viabilitu v post-menopauzálnom období a klasická EST bola schopná tento dej zvrátiť [Toutain et al. 2009]. Cieľom experimentu je po prvé zistiť ako genisteín moduluje základné fázy hojenia u ovariectomizovaných potkanov. Druhým cieľom je zistiť ako genisteín moduluje prežívanie kožného laloka.

Prínos z vykonaného projektu (napr. aký je prínos pre vedu, ľudstvo, zvieratá)

Pri potvrdení účinku fytoestrogénov na hojenie rán môže byť táto štúdia základom pre vytvorenie liečebnej schémy pri komplikovanom hojení rán v postmenopauzálnom období alebo na jeho prevenciu.

Druhy použitých zvierat a ich predbežné počty:

Samice potkana plemena Sprague-Dawley v počte 280

Predpokladaný nepriaznivý vplyv/ujma na použité zvieratá v rámci vykonávania projektu:

Pooperačná bolesť po chirurgickom zákroku v celkovej anestézii na koži potkana, intramuskulárna aplikácia genisteínu

Predpokladaná úroveň krutosti:

Stredná kategória krutosti

Uplatňovanie zásad 3R

1. Nahradenie zvierat:

Proces hojenia rán je komplikovaný a komplexný proces, ktorý doteraz podľa dostupnej literatúry nebol nahradený neanimálnym modelom na komplexnú štúdiu všetkých štádií kožných rán.

2. Redukcia počtu zvierat:

Minimálne množstvo zvierat nachádzajúcich sa v jednom súbore je vzhľadom na elimináciu rozptylu výsledkov na základe individuálnych rozdielov medzi jedincami 7 a taktiež v štúdiách publikovaných na uvedenú tému sa počet zvierat v jednotlivých skupinách pohybuje v uvedenom intervale. Počet zvierat sme redukovali vzhľadom na fyziológiu kože potkanov o skupiny v ktorých by bolo sledované hojenie rán svalov.

3. Zjemnenie:

Najvýznamnejšou výhodou použitia potkanov v štúdiách hojenia kožných rán je prítomnosť silnej svalovej vrstvy v základnej štruktúre kože a preto v štúdiách hojenia rán nie je nutné vytvoriť samostatnú skupinu na hojenie svalových rán. Na zníženie stresu zvierat bude použitá neinvazívna plynná anestézia počas ktorej budú realizované všetky invazívne postupy (intramuskulárna aplikácia analgetík pred operáciou, alebo iná aplikácia liečiv počas 1. dňa pokusu, príprava zvierat na operáciu vrátane prípravy operačného poľa) a taktiež zvieratá budú usmrtené Thiopenthalom aplikovaným intraperitoneálne 375 mg/kg

Projekt bude podliehať opätovnému schvaľovaniu: ☒ áno ☐ nie

„Využitie galektínov v modulácii hojenia kožnej rany u normálnych a diabetických potkanov“

k žiadosti o schválenie projektu pokusu podľa § 7 ods. 1 písm. j) vyhlášky č. 436/2012 Z. z. príloha č. 2

Číslo konania rozhodnutia o schválení projektu:

Kľúčové slová v projekte (max 5 slov): galektíny, diabetes melitus, hojenie rán

Účel projektu*: Základný výskum

Translačný alebo aplikovaný výskum

Regulačné metódy s rutinným používaním (OECD, Výnos MH SR 2/2005 Z. z.)

Ochrana životného prostredia v záujme zdravia alebo welfare ľudí alebo zvierat

Ochrana druhov

Vysokoškolské vzdelávanie, odborné vzdelávanie

Zakladanie kolónií geneticky zmenených zvierat bez ich ďalšieho používania v postupoch

Ak je iný účel projektu, uvedie sa aký

Opísať ciele projektu:

Podľa WHO (World Health Organization) diabetes mellitus (DM) celosvetovo postihuje vyše 220 miliónov ľudí, čím sa právom radí medzi civilizačné ochorenia. Najčastejšou komplikáciou DM spojenou s hojením rán je vznik tzv. diabetickej nohy na podklade mikro- a makroangiopatie spolu s neuropatiou (Falanga 1993), ktorá sa vyskytuje až u 15% všetkých diabetických pacientov a až v 84% je hlavnou príčinou amputácií (Reiber et al. 1999). Galectin-viažúce proteíny sa nachádzajú na povrchu buniek zapojených do hojenia rán ako sú fibroblasty, endotelové bunky a keratinocyty a aj v medzibunkovej hmote (Gál et al. 2011). Navyše bolo v predošlých štúdiách ukázané, že galectíny 1, 2, 3, 4 a 7 sú schopné modulovať reepitelizáciu očnej rohovky (Cao et al. 2002) a čreva, proliferáciu a diferenciáciu fibroblastov in vitro (Dvořánková et al. 2011). Z toho dôvodu môžeme usudzovať, že ich prítomnosť bude modulovať hojenie kožných rán a je pravdepodobné že ich externým podávaním budeme schopní modulovať hojenie rán aj u diabetom alterovaných jedincov skrze viacerých zo sto patofyziologických mechanizmov, ktoré prispievajú k zhoršenému hojeniu rán (Obr. 13CF) u diabetikov (Brem et Tomic-Canic 2007). Sem patrí pokles produkcie rastových faktorov (Galkowska et al. 2006), inhibícia angiogenézy (Galiano et al. 2004) a zhoršenie funkcie makrofágov (Maruyama et al. 2007), nerovnováha medzi depozíciou ECM a jej prestavbou prostredníctvom MMP (Lobmann et al. 2002), ako aj problémy s vytvorením epidermovej bariéry (Falanga 2005).

Prínos z vykonaného projektu (napr. aký je prínos pre vedu, ľudstvo, zvieratá)

Výsledky štúdie by mohli ozrejmiť mechanizmus účinku galektínov na hojenie rán u normálnych a aj diabetom alterovaných jedincov. Výsledky tejto štúdie môžu byť podkladom k ďalšiemu aplikovanému výskumu zlepšujúcemu alterované hojenie rán v humánnej medicíne.

Druhy použitých zvierat a ich predbežné počty:

Samce potkana plemena Sprague-Dawley v počte 357.

Predpokladaný nepriaznivý vplyv/ujma na použité zvieratá v rámci vykonávania projektu:

Pooperačná bolesť po chirurgickom zákroku v celkovej anestézii na koži potkana

Predpokladaná úroveň krutosti:

Stredná kategória krutosti

Uplatňovanie zásad 3R

1. Nahradenie zvierat:

Proces hojenia rán je komplikovaný a komplexný proces, ktorý doteraz podľa dostupnej literatúry nebol nahradený neanimálnym modelom na komplexnú štúdiu všetkých štádií kožných rán.

2. Redukcia počtu zvierat:

Minimálne množstvo zvierat nachádzajúcich sa v jednom súbore je vzhľadom na elimináciu rozptylu výsledkov na základe individuálnych rozdielov medzi jedincami 7 a taktiež v štúdiách publikovaných na uvedenú tému sa počet zvierat v jednotlivých skupinách pohybuje v uvedenom intervale. Najvýznamnejšou výhodou použitia potkanov v štúdiách hojenia kožných rán je prítomnosť silnej svalovej vrstvy v základnej štruktúre kože a preto v štúdiách hojenia rán nie je nutné vytvoriť samostatnú skupinu na hojenie svalových rán. Preto sme počet skupín zvierat redukovali vzhľadom na fyziológiu kože potkanov o skupiny v ktorých by bolo sledované hojenie rán svalov.

3. Zjemnenie:

Na zníženie stresu zvierat bude použitá neinvazívna plynná anestézia počas ktorej budú realizované všetky invazívne postupy (intramuskulárna aplikácia analgetík pred operáciou, alebo iná aplikácia liečiv počas 1. dňa pokusu, príprava zvierat na operáciu vrátane prípravy operačného poľa) a taktiež zvieratá budú usmrtené aplikáciou Thiopenthalu intraperitoneálne 375 mg/kg

Projekt bude podliehať opätovnému schvaľovaniu: ☒ **áno** ☐ **nie**

NETECHNICKÉ ZHRNUTIE PROJEKTU -2632/15-221

Názov projektu: Tymiánový éterický olej ako krmné aditívum u hydiny.

Číslo konania rozhodnutia o schválení projektu:

Kľúčové slová v projekte (max 5 slov): tymol, metabolizmus, zdravie zvierat

Účel projektu* :

Základný výskum

Translačný alebo aplikovaný výskum

Regulačné metódy s rutinným používaním (OECD, Výnos MH SR 2/2005 Z. z.)

Ochrana životného prostredia v záujme zdravia alebo welfare ľudí alebo zvierat

Ochrana druhov

Vysokoškolské vzdelávanie, odborné vzdelávanie

Zakladanie kolónií geneticky zmenených zvierat bez ich ďalšieho používania v postupoch

Ak je iný účel projektu, uvedie sa aký

Opísať ciele projektu: Projekt je zameraný na sledovanie metabolickej biotransformácie jednotlivých zložiek tymiánového éterického oleja v organizme hydiny. Získané výsledky nám pomôžu objasniť toleranciu zvierat na rôzne koncentrácie éterického oleja a nájsť vhodnú koncentráciu s pozitívnym vplyvom na ich zdravie. Depozícia zložiek sledovaného éterického oleja v tkanivách veľmi úzko súvisí s ich metabolizmom a ovplyvňuje produkciu bezpečných potravín živočíšneho pôvodu. Hlavným cieľom predkladaného vedeckého projektu je sledovať metabolický osud hlavných zložiek tymiánového éterického oleja v organizme hydiny. Po skrmovaní krmiva s pridaním rôznej koncentrácie tymiánového oleja svoju pozornosť upriamime na sledovanie absorpcie jeho hlavných zložiek z gastrointestinálneho traktu zvierat ako aj na ich depozíciu v pečeni, obličkách a vo svaloch. Bude nás zaujímať aj ich koncentrácia v krvnej plazme. Ďalším cieľom je nájsť koreláciu medzi depozíciou zložiek sledovaného éterického oleja v jednotlivých tkanivách a parametrami zdravotného stavu zvierat (antioxidačný status, imunologické parametre, zootechnické parametre, integrita črevnej steny).

Prínos z vykonaného projektu : Éterické oleje majú pozitívny vplyv na tráviaci trakt zvierat, zlepšujú ich apetít, ovplyvňujú bakteriálnu flóru čreva a sú schopné navodiť množstvo ďalších benefitov. V súčasnosti je mnoho vedeckých prác, ktoré poukazujú na antioxidačné účinky éterických olejov, na ich vplyv na fyziológiu trávenia a trávenie v čase odstavu mláďat

ako aj na ich vplyv na mikrobiologické vlastnosti čreva. Jednou z výhod éterických olejov je, že sa vyskytujú ako komplexná zmes zložiek a nie ako jedna zložka, z tohto dôvodu je rezistencia na ne menej pravdepodobná ako na jednu samotnú syntetickú zložku. V poslednom čase dramaticky rastie počet publikácií venovaných využitiu éterických olejov a špeciálne tých, ktoré obsahujú fenolické zložky karvakrol a tymol. Väčšina týchto prác je ale venovaná iba produkčným parametrom zvierat (príjem krmiva, konverzia krmiva, váhový prírastok). Iba málo prác je zameraných na mechanizmus účinku týchto zložiek a ich metabolizmus ako aj na ich vedecky podložené účinky, keďže mnoho prác je venovaných iba ich komerčnému využitiu.

Druhy použitých zvierat a ich predbežné počty: Projekt plánujeme realizovať celkovo na 630 ks brojleroch plemena Ross a 630 ks kurčiat nosivého plemena Isa Brown.

Predpokladaný nepriaznivý vplyv/ujma na použité zvieratá v rámci vykonávania projektu: Zvieratám nebude počas celého experimentu spôsobovaná zbytočná bolesť, strach alebo utrpenie. Pri bolestivých stavoch bude zvieratám podaný prípravok na zníženie bolesti. Zvieratá budú označené prostredníctvom skupinových záznamových kariet. Zvieratá v pokuse budú použité iba raz a zákroky nebudú opakované. V pokuse nebude použitý žiadny patogénny mikroorganizmus a budú dodržiavané základné hygienické pravidlá.

Predpokladaná úroveň krutosti: Kategória krutosti-bez možnosti zotavenia. Na konci pokusu budú všetky zvieratá humánne usmrtené (podľa prílohy č. 2 k nariadeniu vlády č. 377/2012 Z.z.). Na konci jednotlivých pokusov delených podľa použitých plemien, resp. koncentrácií a druhov éterických olejov budú zvieratá anestetizované i. p. zmesou xylazínu a tiopentalu pre následnú laparotómiu kvôli odberom väčšieho množstva krvi intrakardiálnou punkciou a hneď potom budú eutanázované podaním vyššej dávky uvedenej zmesi narkotík.

Uplatňovanie zásad 3R

1. Nahradenie zvierat: Na tento typ pokusu je potrebné použiť zviera – hydinu a nie je možné ho vykonať v podmienkach *in vitro*. Na dosiahnutie cieľa pokusu neexistuje alternatívna metóda bez použitia zvierat. Keďže cieľom experimentu je sledovať metabolické cesty jednotlivých zložiek éterických olejov o rôznych koncentráciách a zároveň pozitívne ovplyvniť niektoré nutričné hodnoty hydínového mäsa a vajec je nutné používať na získanie výsledkov živé zvieratá so zabezpečením ich chovných podmienok.

2. Redukcia počtu zvierat: Počty zvierat v pokuse sú minimálne množstvá potrebné pre preukázne zhodnotenie sledovania stanovených parametrov. V experimentoch na kurčatách sú nami zvolené počty nevyhnutné z dôvodu vytvorenia viacerých replikátov s určitým počtom zvierat, keďže len z takto organizovaného experimentu je možné získať dostatočné množstvo interpretovateľných a štatisticky preukáznych vedeckých výsledkov. Uvedené počty boli nami zvolené preto, aby bolo možné jednotlivé experimenty správne štatisticky vyhodnotiť.

3. Zjemnenie: V priebehu pokusu nebudú vykonávané bolestivé zákroky na zvieratách a bude s nimi šetrne zaobchádzané. Experiment je nastavený tak, aby bol minimalizovaný stres použitých zvierat v postupe a aby bola zabezpečená primeraná starostlivosť. Neustále budeme dbať na humánny prístup k zvieratám. Zvieratá v pokuse budú chované v takých podmienkach, ktoré u nich nebudú vyvolávať žiaden stres – zohľadní sa veľkosť klietky/koterca podľa veku zvierat, počet zvierat, svetelný a krmný režim a pod. Všetci pracovníci, ktorí prichádzajú do styku so zvieratami sú príslušne poučení. Vo všeobecnosti, uvedené experimentálne postupy nespôsobia neprimeraný diskomfort zvierat v pokuse,

v podstate sa jedná o štandardné typy pokusov (bežne používané na špičkových vedeckých pracoviskách) v súlade s etickými požiadavkami. V dôsledku podávania jednotlivých koncentrácií éterických olejov ako kŕmneho aditíva nehrozí zvieratám žiadne predávkovanie ani intoxikácia, keďže sa jedná o nízke koncentrácie bez cytotoxického vplyvu.

Projekt bude podliehať opätovnému schvaľovaniu: áno **nie**

Príloha 2

Netechnické zhrnutie projektu

2425/15-221

Názov projektu: Laboratórny chov kliešťov (Acari, Ixodidae) s použitím laboratórnych myší a morčiat a príprava extraktov slinných žliaz kliešťov

Číslo konania rozhodnutia o schválení projektu:

Kľúčové slová: kliešte, Ixodidae, slinné žľazy, bioaktívne látky

Účel projektu: Základný výskum

Ciele projektu:

Kliešte majú celosvetový význam ako rezervoáre a prenášače rôznych patogénnych mikroorganizmov, ktoré vyvolávajú závažné ochorenia ľudí a zvierat. Štúdium cirkulácie kliešťami prenášaných patogénov medzi kliešťami a hostiteľmi je možné jedine na *in vivo* systémoch a zahrňuje aj sledovanie nákazy kliešťov patogénmi v rôznych vývinových štádiách, ako aj ich transštádiálneho prenosu v samotných kliešťoch. K sledovaniu cirkulácie patogénov je potrebné mať k dispozícii kliešte v rôznych vývinových štádiách (larvy, nymfy, dospelé) z laboratórneho chovu, ktoré neobsahujú patogénne mikroorganizmy. V súvislosti s ektoparazitickým spôsobom života ktorého neoddeliteľnou súčasťou je cicanie krvi teplokrvných živočíchov, počas ktorého kliešte modifikujú fyziologické procesy v koži svojich hostiteľov tak, aby sa úspešne nacicali krvi a aby nedošlo k ich predčasnému odvrhnutiu hostiteľmi, kliešte vylučujú do hostiteľov prostredníctvom slín nielen patogénne mikroorganizmy, ale aj rôzne biologicky aktívne látky (antikoagulanty, látky potláčajúce zápal, imunomodulačné a imunosupresívne látky). Tieto látky po ich izolácii a identifikácii môžu mať perspektívne využitie pri vývoji liečiv s použitím v humánnej a veterinárnej medicíne.

Vyplyvajúc z ektoparazitického spôsobu života a biológie kliešťov čeľade Ixodidae sa doteraz nikde vo svete nepodarilo zaviesť metódu ich kontinuálneho chovu na umelom substráte. K úspešnému vývinu kliešťov je potrebná prítomnosť teplokrvných živočíchov a ich krvi ako zdroja potravy. V závislosti od vývinového štádia, druhu kliešťa a ich počtu je v laboratóriu pre ich kŕmenie možné použiť rôzne laboratórne zvieratá. Nakoľko pre chov kliešťov a kŕmenie menšieho počtu a mladších vývinových štádií niektorých druhov kliešťov, resp. pre pilotné štúdie v ktorých sa testujú biologické aktivity extraktov slinných žliaz malého počtu kliešťov, nie je potrebné použiť väčšie zvieratá, predložený projekt je dopĺňujúci k už schválenému projektu, v ktorom sa používajú králiky.

Základným cieľom predloženého projektu pokusu je laboratórny chov kliešťov pre použitie vo vedeckých projektoch (národných aj medzinárodných), ktoré sú zamerané na sledovanie interakcií kliešť – hostiteľ - kliešťami prenášané mikroorganizmy, na prípravu extraktov slinných žliaz kliešťov za účelom izolácie bioaktívnych zložiek a na sledovanie expresie génov v slinných žľazách kliešťov počas cicania a nákazy mikroorganizmami.

Prínos z vykonaného projektu

Použitie laboratórne dochovaných kliešťov je nevyhnutné pre plnenie cieľov vedeckých projektov, ktorých riešenie bolo schválené a je financované národnými vedeckými agentúrami a európskou komisiou, a v ktorých sa sleduje: 1. mechanizmus prenosu patogénnych mikroorganizmov kliešťami na úrovniach kliešť - patogén – hostiteľ; 2. modulácia obranných mechanizmov hostiteľov (hemokoagulácia, imunitná odpoveď, zápal, hojenie rán)

prostredníctvom bioaktívnych zložiek v slinných žľazách kliešťov; 3. expresia génov v slinných žľazách kliešťov počas cicania a nákazy mikroorganizmami; 4. identifikácia antigénov v slinných žľazách kliešťov, ktoré môžu slúžiť ako kandidáti pre prípravu vakcín proti kliešťom a vakcín ktoré blokujú prenos patogénov.

Druhy použitých zvierat a ich predbežné počty: laboratórne myši v počte 750 ks, morčatá v počte 40 ks.

Predpokladaný nepriaznivý vplyv/ujsma na použité zvieratá v rámci vykonávania projektu:

Nepredpokladá sa nutnosť aplikácie prípravkov na tlmenie bolesti a ak sa predsa spozoruje zmena správania, ktorá by mohla súvisieť s bolesťou, zvieratám podáme prípravok na tlmenie bolesti v dávke predpísanej príslušným výrobcom. V prípade svrbenia pokožky sa bude lokálne aplikovať prípravok na vyčistenie a dezinfekciu pokožky a rán.

Predpokladaná úroveň krutosti: Stredná

Uplatňovanie zásad 3R

1. Nahradenie zvierat: Pre plánované pokusy neexistujú alternatívne metódy. V projekte sa však sleduje a uplatňuje najnovšia legislatíva v súvislosti so smernicami o použití zvierat na vedecké účely, ktorú uzákonil Európsky parlament (smernica 2010/63/EU) a Nariadenie vlády SR (Zbierka zákonov č. 377/2012) a Vyhláška 436 Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR.

2. Redukcia počtu zvierat: Plánovaný počet zvierat je maximálny a je v ňom zahrnutý počet potrebný pre pokrytie požiadaviek riešiteľov vedeckých projektov, v ktorých je plánované použitie rôznych druhov a vývinových štádií kliešťov. Použitie zvierat sa obmedzí na nevyhnutné minimum. Opätovné použitie zvierat nie je možné, pretože zvieratá, na ktorých cicajú kliešte, vytvárajú protilátky proti slinným antigénom kliešťov, čo vyvoláva pri cicaní ďalších kliešťov hypersenzitívnu reakciu a následne nedostatočné cicanie až úhyn kliešťov. Takéto kliešte už nie je možné použiť ani pre ďalší chov, ani pre odber slinných žliaz za účelom sledovania dynamiky produkcie biologicky účinných látok v ich slinných žľazách s cieľnou purifikáciou účinných látok, či sledovanie expresie vybraných génov.

3. Zjemnenie: Myši a morčatá budú počas celého pokusu držané za štandardných podmienok podľa platnej normy EU, pričom sa budú rešpektovať základné etické princípy požadované pri zaobchádzaní s pokusnými zvieratami. Počas celého pokusu sa budú dodržiavať postupy maximálne zjemňujúce pokus. Zvieratám bude zabezpečená štandardná starostlivosť, ktorú bude vykonávať školený personál - pracovníci pokusného zariadenia. Denne sa bude vykonávať kontrola zdravotného stavu zvierat. Ani v jednom štádiu pokusu nebudú mať zvieratá obmedzený pohyb, ani obmedzený prísun potravy a vody.

Projekt nebude podliehať opätovnému schvaľovaniu

Názov projektu: Hodnotenie protinádorových účinkov rastlinných funkčných potravín v modeli rakoviny prsníka - 2468/15-221

Netechnické zhrnutie projektu

a) Informácie o cieľoch projektu:

Cieľom projektu sú *in vivo* štúdie, v ktorých budeme analyzovať antineoplastický účinok prirodzených substancií v modeli rakoviny prsníka u samíc potkanov. Postupy budú tvoriť dlhodobé štúdie s chemicky indukovanou mamárnou karcinogénou u samíc potkanov. Postupne vyhodnotíme tumorsupresívnu efektivitu tymiánu (*Thymus vulgaris*), šalviu lekársku (*Salvia officinalis*), kôpor voňavý (*Anethum graveolens*), výťažok semena pagaštanu konského (*Aesculus hippocastanum*), škoricu čínskej (*Cinnamomum cassia*), či inej prirodzenej substancie.

V experimentoch budú zvieratá týždenne vážené a palpované. Pri pitve odoberieme krv, nádory vypitveme a vyhodnotíme prípadné makroskopické zmeny na sledovaných orgánoch. V jednotlivých skupinách štatisticky vyhodnotíme parametre mamárnej karcinogenézy: frekvenciu, latenciu, incidenciu, objem nádorov. Vykonáme histologickú typizáciu nádorov, ich grading a staging. Stanovíme vybrané parametre plazmatického lipidového a sacharidového metabolizmu (predpokladané sú preventívne účinky fytosubstancií aj u kardiovaskulárnych ochorení) a vplyv prírodných látok na telesnú hmotnosť a príjem potravy. Budeme hodnotiť mechanizmus účinku použitých substancií (Western blot analýza markerov v mamárnych nádoroch). Vyhodnotíme parametre apoptózy (Bcl-2, Bax, kaspáza-3, príp. iné), angiogenézy (VEGF, VEGFR-2, FGFb) a proliferácie (Ki67). Stanovíme parametre oxidačného poškodenia v nádorových bunkách (malondialdehyd, dityrozín, konj.lyzín).

b) Prínos projektu:

Na základe protinádorových vlastností môžu fytochemikálie v prirodzených substanciach priniesť pre klinickú onkológiu nové terapeutické prístupy v či už v chemoprevencii alebo v liečbe nádorového ochorenia. Na našom pracovisku sa problematikou experimentálnej mamárnej karcinogenézy zaoberáme vyše 17 rokov, pričom analýze protinádorového účinku fytofarmák/fytosubstancií sa venujeme posledné 4 roky.

Výhody diéty bohatej na rastlinné zložky spočívajú v komplexnom pôsobení veľmi širokého spektra fytochemikálií. Práve aditívne a synergické pôsobenie fytochemikálií zodpovedá za ich antioxidačné a protinádorové účinky. Táto skutočnosť vysvetľuje fakt, prečo samostatne aplikovaný antioxidant nemôže nahradiť kombinované pôsobenie desiatok rôznych fytochemikálií prítomných v rastlinných produktoch a nemôže dosiahnuť s nimi porovnateľné účinky na zdravie človeka (Liu, 2004).

V experimentálnej rakovine prsníka *in vivo* a *in vitro* doteraz neboli hodnotené antineoplastické účinky ani jednej z prirodzených substancií, ktoré plánujeme testovať. **Tymián** je zaujímavý obsahom fenolických látok, saponínov a steroidných látok (Bozkurt et al., 2012). Šalvia sa vyznačuje vysokým zastúpením hlavne flavonoidov, zvlášť alfa-tujon, kamfor, borneol, gamma-murolen (Russo et al., 2013). Chemická analýza **kôpru** zistila prítomnosť 35 fytochemikálií – a to hlavne karvon, alfa-felandrín, limonín, 2-propanon, dillapiol, linalool, kyselinu linolénovú, trans-anetol, p-anisaldehyd, myristicín, kyselinu rosmarínovú a iné (Orhan et al., 2013, Isbilir et al., 2011). Liečebné účinné látky v **semenách**

pagaštanu konského tvorí zmes triterpénových saponínov – escín, aglikóny, protoescigenín, baritogenol a flavónové glykozidy a katecholové triesloviny (Mojžišová et al., 2009). **Škorica** je bohatá na anthokyaníny, cinamaldehyd, eugenol, cineol, cinamyl acetát.

Chceme zdôrazniť, že riešením tohto projektu získame prvotné experimentálne výsledky, ktoré môžu byť veľmi prínosné pre klinickú prax. V projekte budeme analyzovať základné parametre tumorového rastu a určíme histologickú typizáciu nádorov. Budeme hľadať mechanizmus účinku očakávaného chemopreventívneho pôsobenia použitých farmák. Vyhodnotíme celkové vedľajšie účinky látok na organizmus zvierat, stanovíme parametre lipidového a sacharidového metabolizmu. Prínosné bude porovnanie *in vivo* a *in vitro* účinkov fyto-substancií.

c) Počet a typ zvierat:

V projekte použijeme panenské samice laboratórnych potkanov kmeňa Sprague-Dawley v celkovom počte 375 kusov.

Predpokladaná doba riešenia projektu – **3 roky (1. 1. 2016 - 31. 12. 2018)**, počas ktorých uskutočníme **5 pokusov**, pričom v každom použijeme 75 zvierat.

d) Preukázanie súladu s požiadavkou nahradenia, obmedzenia a zjemnenia

K metóde použitej v predkladanom projekte nie je možné využiť alternatívne metódy, pretože chemopreventívum sa musí testovať aj na celistvom organizme, nestačí iba testovanie *in vitro* na bunkových líniiach, vzhľadom na to, že pri týchto experimentoch nie je možné sledovať komplexný vplyv všetkých parametrov a súčinnosti v celistvom organizme. Tymian, kôpor, pagaštan, škorica ani šalvia neboli doteraz testované v uvedenom modeli mamárnej karcinogenézy u potkanov (viď priložené výpisy z Web of Science).

Pilierom európskej politiky v oblasti ochrany zvierat je uplatňovanie **zásady 3R** (Replacement, Reduction, Refinement – nahradenie, zníženie, zdokonalenie), prostredníctvom ktorého by sa malo znížiť používanie zvierat na účely výskumu, vedy a schválenia výrobku.

Najpoužívanejším **laboratórnym modelovým zvieratom** sú hlodavce, pretože majú mnohé jedinečné vlastnosti, ktoré ich predurčujú k získavaniu a hodnoteniu všeobecných princípov experimentálnej onkológie. Potkan je najnižším druhom živočíchov, ktorý vyhovuje danému typu experimentov, t.j. nie je nahraditeľný iným druhom. Hlavnou výhodou použitia potkanov je to, že ich nádory mliečnej žľazy sa veľmi podobajú ľudským, tak v etiológii ako aj v patológii (Medina et al., 1982). Veľmi dôležitým kritériom v experimentálnej onkológii na definovanie terapeutických možností alebo karcinogénnej aktivity farmaka je spontánny výskyt tumorov. Vďaka spontánnemu vzniku nádorov pri dlhodobých štúdiách sú potkany vhodným modelom pre imitáciu situácie u ľudí (Anderson, 1992). Napriek skutočnosti, že pri analýze niektorých genetických zmien sú myši neoceniteľným zvieratom, ich nevýhodou v porovnaní s potkanom sú ich slabšie možnosti v reprodukovateľnosti molekulárnych procesov iniciácie a promócie nádoru. Myš je nevhodná pre štúdium chemoprevencie pre vírusový pôvod väčšiny nádorov.

V každom pokuse používame **minimálny počet zvierat** (n=75; 3 experimentálne skupiny po 25 zvierat), ktorý je potrebný na získanie signifikantných výsledkov po

štatistickom hodnotení a ktorý je ešte akceptovateľný vedeckou komunitou (zachovanie validity a reprodukovateľnosti experimentu).

Spôsob manipulácie so zvieratami a starostlivosť o zvieratá počas postupu bude v súlade s požiadavkami uvedenými v Nariadení vlády SR č. 377/2012 Z.z. a Vyhláske Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR č. 436/2012 Z.z. Čo sa týka zásady **zjemňovania pokusu**, charakter pokusu nevyžaduje použitie anestézy ani analgetík, iba v prípadoch veľkej bolesti. Počas celého priebehu pokusu nebudú zvieratá vystavené bolestivým zákrokom.

Späťne' posn' de mi - mi

NETECHNICKÉ ZHRNUTIE PROJEKTU

Názov projektu:

Imunizačná štúdia na myšiach.

Číslo konania rozhodnutia o schválení projektu: 2771/1T-221

Kľúčové slová v projekte:

BGs, vaccine, PEDV, bacterial ghosts, mice

Účel projektu: Aplikovaný výskum

Ciele projektu:

Cieľom projektu je testovanie novej profylaktickej vakcíny určenej na aktívnu imunizáciu zdravých ošipáných proti vírusu prasacej epidemickej hnačky PEDV. Vakcína bola vyvinutá na základe technológie Bakteriálnych Ghostov (Bacterial Ghosts= BGs) kmeňa *E.coli* NM522 exprimujúcich rekombinantný antigén - Porcine Epidemic Diarrhea Virus Spike Protein (PEDV-SP).

Predklinické testovanie na myšiach je nevyhnutné na overenie účinnosti vyvinutej vakcíny indukovať v organizme bunkovú a humorálnu imunitnú odpoveď voči použitému antigénu.

Prínos z vykonaného projektu:

PEDV patriaci do skupiny vírusov spôsobuje vysokoinfekčné ochorenie s vysokou morbiditou a mortalitou u ošipáných, predovšetkým u novorodených mláďat. Ochorenia vyvolané PEDV majú negatívne hospodárske dôsledky.

Výsledky získané zo štúdie na myšom modelovom systéme budú následne aplikované v ďalšej fáze projektu, kde bude vakcína aplikovaná na cieľový organizmus (ošipané) za účelom vyvolania protektívnej imunity proti PEDV patogénu.

Druhy použitých zvierat a ich predbežné počty:

Balb/cJ myši, samce, 18-20g – 55 zvierat

Projekt sa bude skladať z časti testovania potenciálne nežiaducich účinkov po podaní BG vakcíny (4 zvieratá) a z vlastnej imunizačnej štúdie (5 skupín po 10 zvierat), jedno zviera bude ako rezerva.

Predpokladaný nepriaznivý vplyv/ujma na použité zvieratá v rámci vykonávania projektu:

Vzhľadom na to, že je plánovaný predpokus na 4 zvieratách na optimálne nastavenie aplikovaného množstva vakcíny pre hlavný pokus, v rámci vykonávania projektu nepredpokladáme nepriaznivý vplyv na použité zvieratá. Akékoľvek zhoršenie zdravotného stavu zvierat bude konzultované s veterinárnym lekárom a tieto zvieratá v prípade ťažkých stavov budú humánne utratené.

Príloha 3

Predpokladaná úroveň krutosti:

Jednotlivé postupy (s.c. aplikácia, odbery krvi) budú vykonávané v celkovej anestéze; podľa klasifikácie krutosti boli hodnotené ako slabé.

Zvieratá prejavujúce bolesť budú humánne utratené.

Uplatňovanie zásad 3R

1. Nahradenie zvierat:

Test na zvieratách sa nedá nahradiť alternatívnymi metódami *in vitro*. Bunkové línie, ako *in vitro* modely, nepredstavujú dostatočne vhodný systém na testovanie komplexných imunobiologických bunkových procesov. Navyše extrapolácia výsledkov získaných *in vitro* na reálny stav *in vivo* nie je možná, nakoľko neposkytuje komplexnú informáciu o indukovaných zmenách na úrovni imunologicky dôležitých orgánov, endotelov a epitelov, ako aj imunokompetentných buniek z hľadiska dlhodobých účinkov vakcinácie (indukcia protektívnych protilátok, imunologická pamäť, reakcia na restimuláciu infekčným agens).

2. Redukcia počtu zvierat:

Po dôslednom zvážení a optimalizácii imunizačných protokolov sme minimalizovali počet zvierat v jednotlivých skupinách na 10 ks. Tento počet predstavuje najmenšie množstvo vzhľadom k plánovaným imunologickým a hematologickým analýzám a k množstvu získaného biologického materiálu (periférna krv, plná venózna krv, slezina). Tento počet zvierat súčasne zaisťuje reprodukovateľnosť a validitu experimentu.

3. Zjemnenie:

Pri aplikácii a manipulácii so zvieratami budú uplatňované postupy zamerané na zníženie miery strachu. Jednotlivé postupy (s.c. aplikácia, odbery krvi) budú vykonávané v celkovej anestéze.

Projekt bude podliehať opätovnému schvaľovaniu: ~~áno~~ nie

Netechnické zhrnutie projektu 2911/15-221

Názov projektu: Skúmanie postnatálnej neurogenézy vo vzťahu k neurodegeneráciám

Kľúčové slová v projekte: neurogenéza, faktory vonkajšieho prostredia, neurodegenerácia, čuchový systém

Účel projektu * : Základný výskum

Translačný alebo aplikovaný výskum

Ciele projektu:

Tvorba a zánik nových buniek zohrávajú zásadnú úlohu pri vývine mozgu a pri zachovaní jeho homeostázy v období dospelosti. Porušenie rovnováhy medzi týmito procesmi bolo zaznamenané pri neurodegeneratívnych ochoreniach. Patogenéza týchto chorôb doposiaľ nie je známa. Predpokladá sa, že fenomén postnatálnej neurogenézy, resp. jej poruchy môžu súvisieť s rozvojom neurodegeneratívnych ochorení. Z našich predošlých zistení vyplýva, že nepriaznivé environmentálne podnety môžu indukovať zmeny v neurogenéze v čuchovom systéme potkana. Cieľom navrhovaného projektu je overiť hypotézu o tom, že existuje vzájomná súvislosť medzi neurogenézou a neurodegeneráciou. Budeme skúmať, či určité zmeny v neurogenéze v čuchovom systéme prebiehajú súčasne s včasnými symptómami neurodegeneratívnych chorôb, ako sú depresia, úzkosť, alebo čuchové dysfunkcie.

Prínos z vykonaného projektu

Predpokladaným prínosom našich experimentov bude zistenie funkčných následkov vystavenia novorodených a dospelých potkanov nepriaznivým faktorom prostredia, ako sú elektromagnetické žiarenie, neonatálny a čuchový stres. Sústreďme sa na analýzu takých foriem správania, ktoré prebiehajú súčasne s včasnými, premotorickými symptómami neurodegeneratívnych ochorení: depresia, úzkosť a čuchové dysfunkcie. Tieto pozorovania taktiež prispievajú k pochopeniu funkčného významu postnatálnej neurogenézy.

Skúmanie vplyvu exogénnych faktorov na neurogenézu v bulbus olfactorius (BO) nám povie, či environmentálnymi faktormi indukované zmeny v proliferácii, odumieraní a diferenciácii buniek v rostrálnej migračnej dráhe sa odrazia aj na neurogenéze v BO, ktorý predstavuje cieľové miesto pre novovznikajúce neuroblasty.

Korelácia medzi morfológickými pozorovaniami v BO a funkčnými následkami – zmenami v správaní zvierat pomocou štatistického softvéru, vytvoreného špeciálne pre tento účel nám umožní jednoduchú predikciu vplyvu použitých faktorov pri ich rôznych kombináciách a intenzitách.

Získané výsledky by mohli prispieť k pochopeniu úlohy postnatálnej neurogenézy v patogenéze neurodegeneratívnych chorôb, čo by mohlo viesť k zvažovaniu tohto fenoménu pri prevencii a vývoji nových liečiv.

Druhy použitých zvierat a ich predbežné počty:

V experimente budú použité potkany kmeňa Wistar albino oboch pohlaví v počte 80 ks

Predpokladaný nepriaznivý vplyv/ujma na použité zvieratá v rámci vykonávania projektu:

Zvieratá počas experimentu nebudú vystavené žiadnemu operačnému zákroku. Ovplyvnenie neurogenézy budeme robiť pomocou vystavenia neonatálnych a dospelých potkanov pôsobeniu vonkajších faktorov: oddeľovanie mláďat od matky po dobu 180 minút počas prvého týždňa po narodení, prežívanie do dospelosti; elektromagnetické žiarenie denne po dobu 1 až 3 hodiny a vystavenie dospelých zvierat umelej vôni denne na dobu 20 minút počas troch týždňov. Naše predchádzajúce skúsenosti s týmito exogénnymi faktormi potvrdili, že na celkový zdravotný stav zvierat nemajú vplyv. Očakávame zmeny v správaní zvierat, ktoré budú detegovateľné behaviorálnym testovaním.

Predpokladaná úroveň krutosti:

Predpokladáme, že postupy, ktoré budeme vykonávať budú „slabé“ podľa Klasifikácie krutosti postupov - prílohy č. 4 k nariadeniu vlády č. 377/2012 Z. z.

Uplatňovanie zásad 3R

1. Nahradenie zvierat:

Po zadaní kľúčových slov tohto projektu nebola v databáze European Centre for Validation of Alternative Methods (<http://altweb.jhsph.edu/news/current/ecvamdb-alm.html>) nájdená žiadna alternatívna metóda.

2. Redukcia počtu zvierat:

V experimentálnych skupinách použijeme minimálny počet zvierat (6-8). Tento počet je nevyhnutný pre behaviorálne testovanie a aby bolo možné výsledky štatisticky vyhodnotiť.

3. Zjemnenie:

So zvieratami budú ohľaduplne manipulovať skúsení vedeckí pracovníci a doktorandi (prírodovedci, veterinárni lekári).

Projekt bude podliehať opätovnému schvaľovaniu: ☒ áno ☐ nie