

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 1-2021-P

upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů					
Vliv mikrobiomu na průběh zánětlivých a nádorových procesů					
Doba trvání projektu pokusů - v měsících		59			
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾		myš, mikrobiota, dieta, zánět, nádor			
Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností					
☒	základní výzkum				
☒	translační a aplikovaný výzkum				
☐		kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)			
☐	legislativní účely	jiné zkoušení účinnosti a tolerance			
☐	a běžná výroba	zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie			
☐		běžná výroba			
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat				
☐	zachování druhů				
☐	vyšší vzdělávání				
☐	odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí				
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení				
☐	udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech				
Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb					
Cílem projektu je systematicky analyzovat vliv mikrobů na fungování imunitního systému a na rozvoj zánětlivých a nádorových chorob.					
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)					
Pochopení vztahů mezi komenzálními mikroby a imunitním systémem by mohlo v dlouhodobém horizontu přispět jak k léčbě, tak k prevenci chronických zánětlivých chorob.					
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání					
Obvyklé postupy prováděné na experimentálních zvířatech zahrnují zejména injekční aplikace, které jsou nezbytné k indukci patologických změn a k jejich léčbě. V rámci projektu budeme provádět aplikace subkutánní (s.c.), intraperitoneální (i.p.), intravenózní a intradermální. Kromě intradermální aplikace, která probíhá z bezpečnostních důvodů v celkové anestezii, je trvání těchto manipulací obvykle v řádech několika vteřin. Nejvíce opakovaných aplikací bude u zvířat, u kterých bude indukována experimentální autoimunitní encefalomyelitida (2x s.c. + 2x i.p.), která bude zároveň léčena (+1x i.p.) nebo heterotopický karcinom (1x s.c.), který bude zároveň léčen biologickou léčbou (3x i.p.). Některá látky budeme podávat přímo do žaludku pomocí oro-gastrické sondy. Chirurgické zákroky nejsou plánovány.					
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků					
V některých modelech mohou zvířata pocítit déletrvající mírnou bolest a diskomfort způsobený indukcí střevního zánětu či růst nádoru - míra závažnosti: Střední . Část zvířat bude použita jako zdravá, bez indukce patologických změn, která budou pouze exponována změněné dietě, antibiotikům či probiotickým mikrobům nebudou pociťovat žádný diskomfort - míra závažnosti: Mírná . Podobnou úroveň dopadů pocítí zvířata, která budou použita v časně fázi vývoje patologických změn - míra závažnosti: Mírná . Studium jednodušších mechanismů provedeme vysoce výkonnými metodami in vitro s použitím buněk ze zdravých zvířat - míra závažnosti: Nenabude vědomí .					
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu					
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	5000	100	1000	3900	0
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					

Zvolte položku.	
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena	
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití	0
Odhadovaný počet zvířat, která budou navržena do přírodního stanoviště či systému chovu	0
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu	0
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - <i>uved'te</i>	
Uplatňování 3R	
Nahrazení používání zvířat - <i>uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>	
Validizované alternativní metody uvedené v databázi „European Center for Validation of Alternative Methods“ nám jednak neumožňují sledovat interakci kompletního mikrobiomu (složeného zejména z bakterií, které není možné kultivovat <i>in vitro</i>), interakci mikrobů se složkami natrávené diety a ani působení mikrobů na fungování komplexních imunologických dějů, a proto nemohou nahradit navrhované pokusy. Experimenty testující jednodušší mechanismy a děje (např. interakci specifických mikrobiálních komponent se specifickými buňkami) jsme nahradili experimenty <i>in vitro</i> .	
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlete, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).</i>	
Zvířata budou používána v minimálních počtech, které umožní statistické vyhodnocení rozdílů mezi skupinami. Pokud to bude možné, tak budou sdíleny vzorky získané v experimentech. Spojení studia různých forem zánětu a nádorů řečené v rámci projektu umožní nejen neobvyklé synergie, ale i redukci počtu zvířat. Plánování paralelních experimentů, jak je popsáno výše, dále umožní redukci zvířat. Analýzou většího počtu parametrů najednou (použití moderních, citlivých metod) docílíme další redukce potřebného počtu zvířat.	
Setrné zacházení se zvířaty - <i>uved'te příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu</i>	
Veškerá manipulace se zvířaty bude co nejohleduplnější a co nejméně narušující přirozené potřeby zvířat. Složitější manipulace budou probíhat v celkové anestezii.	
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>	
Dospělé laboratorní myši inbredních kmenů BALB/c a C57BL/6 jsou vhodným a dobře popsáním modelem pro studium experimentálních zánětů i nádorů. Myši deficitní na buňky adaptivní imunity (tzv. SCID fenotyp) jsou navíc vhodné pro studium vlivu adaptivní imunity (absence T a B lymfocytů a adoptivní transfer izolovaných buněk) a pro indukci transferového modelu střevního zánětu pomocí transferu buněk syngenního dárce. Myši deficitní na molekuly, které se účastní regulace imunitního systému umožňují studium vlivu interakce hostitele s mikrobi. Myši gnotobiotické (bezmikrobní a kolonizované definovanými mikrobi) jsou vhodné pro studium interakcí mezi mikrobi a hostitelem a umožňují přenos mikrobiomu i cílenou kolonizaci jedním typem mikroba.	

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „*nespecifikovaného savce*“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech