

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ 30/2020

Název projektu pokusů

Role mikrobiomu při vzniku atopické dermatitidy a potravinové alergie u kojenců a batolat, AZV, NU20-05-00038

Doba trvání projektu pokusů 2020–2023

Klíčová slova – maximálně 5 střevní mikrobiom; střevní mikrobiom; atopická dermatitida, potravinová alergie

Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka

x	základní výzkum
x	translační nebo aplikovaný výzkum
	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
	zachování druhů
	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
	trestní řízení a jiné soudní řízení

Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

Naším hlavním cílem je nalézt nové biomarkery spojené se změnami v imunitní odpovědi a změnou mikrobioty na kůži a ve střevě, které by pomohly předpovědět průběh onemocnění u pacientů s atopickou dermatitidou (AD) a potravinovou alergií (PA) a pomoci vyvinout nové přístupy v prevenci a léčbě těchto onemocnění. Gnotobiologické myši modely AD a PA využijeme k podrobnější analýze funkce střevního a kožního mikrobiomu od vybraných pacientů s AD a potravinovými alergiemi.

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)

Předkládané experimenty rozšiřují současné znalosti a jsou předpokladem k získání původních výsledků, které obohatí znalosti v oboru imunologie a alergologie a tím umožní i přenos výsledků do klinické medicíny. Tento projekt navíc poskytne neocenitelné znalosti o interakci imunitního systému s mikroorganismy a jejich dopadu na vývoj alergické imunitní odpovědi.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

V experimentech budou použity gnotobiotické a konvenční myši kmene BALB/c. Bude použito maximálně 700 pokusných myší v období 2020–2023. Gnotobiotické myši jsou vhodnými experimentálními modely pro sledování interakcí mezi hostitelem a mikroorganismy a mikroorganismy navzájem a jsou proto vhodnými zvířaty pro studium lidských onemocnění. Počet myší je na úrovni minimálního počtu, který zaručuje statisticky vyhodnotitelné výsledky mezi skupinami.

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

Zvířata pocítí mírnou bolest při intragastrickém podání alergenu nebo choleratoxinu a při aplikaci lepicí pásky (3M) na kůži myši. V závěrečné fázi pokusu budou mít myši průjem a projevy atopické dermatitidy na kůži. Navrhovaná míra závažnosti je střední. Eutanázie (předávkování anestetikem, oxid uhličitý, cervikální dislokace), kaflerní box a odvoz asanační společností.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Alternativní metody nám jednak neumožňují sledovat interakci kompletního mikrobiomu (složeného zejména z bakterií, které není možné kultivovat in vitro) a ani působení mikrobů na fungování komplexních imunologických dějů, a proto nemohou nahradit navrhované pokusy. Pokusy jsou nezbytné z hlediska základního výzkumu a obdobné výsledky není možné získat alternativní metodou, což jsme ověřili v databázi validovaných alternativních metod (European Centre for Validation of Alternative Methods). Dílčí a předběžné experimenty testující jednodušší mechanismy a děje (např. interakci specifických mikrobiálních komponent se specifickými buňkami) jsme nahradili experimenty in vitro.

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

Experimentům předcházelo důkladné studium již publikovaných vědeckých výsledků, aby se předešlo zbytečnému opakování experimentů a nadměrné spotřebě zvířat. Průběžné studium literatury během řešení projektu nám dále umožní reagovat na nové poznatky a naše předešlé zkušenosti s použitými modely nám zajistí, že zvířata budou používána v minimálních počtech, které umožní statistické vyhodnocení rozdílů mezi skupinami. Případné sdílení vzorků získaných v experimentech a použití moderních citlivých metod (např. metagenomika, metabolomika, mnohobarevná průtoková cytometrie) nám umožní efektivnější využití zvířat a tím snížit jejich spotřebu.

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.

Veškerá manipulace se zvířaty bude co nejohleduplnější a co nejméně narušující přirozené potřeby zvířat a bude prováděna zkušenými experimentátory.