

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 28/2015

Název projektu pokusů

Identifikace a funkční analýza specifických subpopulací makrofágů a neutrofilů

Doba trvání projektu pokusů 01.12.2015-31.12.2017

Klíčová slova - maximálně 5 neutrofilů, monocyty, makrofágy, subpopulace, funkční analýza

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

- | | |
|-------------------------------------|--|
| ☒ | základní výzkum |
| ☐ | 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)

Navrhovaný projekt má charakter základního výzkumu a jeho hlavním cílem je přinést nové a rozšířit stávající znalosti v oblasti identifikace a funkční analýzy různých subpopulací buněk nespecifické imunity, jako jsou monocyty/makrofágy a neutrofilů. Hlavní hypotézou je, že různé patologické procesy a choroby jsou spojeny s výskytem konkrétních populací buněk, které jsou jednak charakteristické expresí specifických povrchových molekul a také jedinečnou funkční odpovědí. Tento projekt je zaměřen zejména na fenotypizaci jednotlivých buněk nespecifické imunity v různých indukovaných patologiích a posléze také jejich funkční analýze. Zvláštní pozornost bude věnována signálním drahám vedoucím k aktivaci jednotlivých buněčných subtypů, které jsou právě spojeny s jejich polarizací. Očekávané výsledky přispějí k zlepšení a standardizaci diagnostiky různých onemocnění, které jsou spojeny s jednotlivými fenotypy monocytů/makrofágů a neutrofilů.

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)

Studium jednotlivých subpopulací monocytů/makrofágů a neutrofilů, které jsou asociovány s různými onemocněními, včetně objasnění konkrétních molekulárních mechanismů uvnitř těchto buněk, je vysoce inovativní a velice důležité. Úspěšné řešení projektu zaručuje získání naprosto originálních výsledků v nové a velice aktuální výzkumné oblasti, které budou snadno publikovatelné v mezinárodních odborných časopisech. Získané výsledky poslouží za základ odborné veřejnosti k dalšímu základnímu i aplikovanému výzkumu v oblasti přírodních a lékařských věd. Získané informace dále poslouží široké lékařské veřejnosti ke zdokonalení diagnostiky a léčby v oblasti různých závažných chorob. Potenciálním uživatelem získaných výsledků jsou i farmaceutické firmy, které na jejich základě mohou vyvíjet nová a zdokonalovat existující léčiva určená pro imunoterapii. V neposlední řadě je konečným uživatelem výsledků celá laická veřejnost, které zprostředkovaně přispějí ke zdokonalení kvality života a zdraví.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Studie bude provedena na myších kmene C57Bl/6J (samci), k tomuto účelu vhodných a běžně používaných na indukci akutního zánětu. Z důvodů nutného statistického hodnocení je v průběhu 3 let řešení projektu (2015-2017) plánováno použití celkem 150 myší, pro izolaci krve, tkání a tkáňově specifických imunitních buněk a fibroblastů.

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

Zvířata budou během pokusů exponována pouze limitovanému stresu spojenému s indukcí zánětlivé reakce a vybrané anestezii. V případě neobvyklého chování zvířete, které by značilo významný stres, bude experiment ukončen a takové zvíře okamžitě smrceno dle protokolu.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Pokusy v rámci tohoto projektu budou provedeny nejprve na in vitro kulturách, kde budou standardizovány postupy fenotypizace, aktivace buněk a analýza jejich funkcí. Získané výsledky budou sloužit jako základ pro izolaci buněk z krve a tkání a jejich analýzu. Současně bude probíhat zkoumání komplexní imunitní odpovědi během různých zánětlivých podmínek v tkáních, které nelze v in vitro podmínkách namodelovat.

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

Počet zvířat bude omezen na množství minimálně nutné pro statistické vyhodnocení dat získaných z pokusů, které budou průběžně vyhodnocovány. Všechny buněčné typy mohou být izolovány ze stejného pokusného zvířete, což výrazně omezí celkové množství zvířat použitých v experimentech. V průběhu pokusu budou průběžně vyhodnocována data a v případě dosažení statistické významnosti již v průběhu bude pokus ukončen.

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.

Na základě našich dlouhodobých zkušeností v laboratoři a dostupné literatury se zvolený drzch zvířat, tedy myši kmene C57Bl/6J, jeví jako vhodný model pro studium funkcí imunitního systému.