

**Vyplňujte jen bílé kolonky!**

**Formulář vyplňujte na počítači; kolonky se zvětší automaticky podle množství textu.**

**NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ**

<b>Název projektu pokusů</b>	
<b>Výzkum ptačích schistosom a jejich možného modulačního efektu na imunitu hostitelských obratlovců.</b>	
Doba trvání projektu pokusů	5 let, do XII/2022
Klíčová slova - maximálně 5	ptačí motolice, kachna, neuropatogenita, imunitní odpověď
<b>Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka</b>	
<input checked="" type="checkbox"/>	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
<b>Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)</b>	
<p>Ptačí schistosomy (neurotropní <i>Trichobilharzia regenti</i> a viscerální <i>T. szidati</i>) jsou paraziti s vícehostitelským životním cyklem. Jako definitivní hostitelé slouží vodní ptáci, zejména vrubozobí. Cercárie produkované mezihostitelskými vodními plži mohou pronikat i do kůže savců a migrovat dál do organismu, u lidí působí některé druhy ptačích schistosom kožní alergické onemocnění zvané cercáriová dermatitida. U kachen migruje <i>T. regenti</i> centrální nervovou soustavou s finální lokalizací v nosní sliznici, u <i>T. szidati</i> putují larvy přes plíce do cév kolem střeva, kde dospívají.</p> <p>Ptačí motolice rodu <i>Notocotylus</i> jsou též dvojhospitelské, nákaza však v jejich případě probíhá perorálně a definitivní lokalizace je v lumen slepých střev kachen.</p> <p>Uskutečnění pokusů na zvířatech je jedinou cestou, jak sledovat působení konkrétních druhů parazitů na hostitele, zejména pak z hlediska jeho imunitní odpovědi na infekci parazity lišícími se způsobem migrace i typem potravy, kterou se živí (nervová tkáň centrálního nervového systému se specifickými zákonitostmi v dynamice imunitní odpovědi, vs. krev, vs. trávenina uvnitř lumen střeva).</p> <p>Navrhovaný projekt má završit dlouholetý výzkum <i>T. regenti</i> a dalších ptačích schistosom s důrazem na následujících pět témat: (a) Jaké jsou morfologické adaptace a molekulární mechanismy uplatňované parazitem při průniku kůži a sliznicemi různých hostitelů? (b) Jakým způsobem migruje a jakými mechanismy poškozuje/ovlivňuje <i>T. regenti</i> centrální nervovou soustavu různých hostitelů? (c) Podílejí se na poškození nervové tkáně i molekuly sekretované parazitem? (d) Jaké imunitní reakce jsou vyvolány neurotrofními vs. viscerálními trichobilharziemi v těle hostitele v porovnání s druhy parazitujícími ve střevě a jaké povahy jsou jejich antigeny? (e) Lze využít antigeny parazita či parazitární DNA ke spolehlivé imunologické či molekulární diagnostice infekce ptačích schistosom různých druhů?</p>	
<b>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)</b>	
Kromě detailního poznání interakcí trichobilharzií s různými typy experimentálních hostitelů předpokládáme, že bude možno navrhnout diagnostický test pro vyšetřování suspektních nálezů ptáků a savců včetně lidí a prohloubit naše znalosti na poli kultivace imunitních buněk hostitelů a hodnocení jejich reakce na přítomnost parazitárních antigenů v podmínkách <i>in vitro</i> tak, aby v budoucnu mohlo dojít k účinné redukci spotřeby pokusných zvířat.	
<b>Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá</b>	
Kachna domácí ( <i>Anas platyrhynchos</i> f. <i>domestica</i> ) Odhadovaný počet zvířat: 150 ks/rok	
Inbrední myši ( <i>Mus musculus</i> ) kmene BALB/c: dospělé myši 20 ks/rok	
Inbrední myši ( <i>Mus musculus</i> ) kmene C57BL/6: dospělé myši 150 ks/rok	
Inbrední myši ( <i>Mus musculus</i> ) kmene C57BL/6: 1denní myši (vlastní chov) 100 ks/rok	
Transgenenní myši ( <i>Mus musculus</i> ) MHC II-EGFP knock-in: dospělé myši 10 ks/rok	
Transgenenní myši ( <i>Mus musculus</i> ) MHC II-EGFP knock-in: 1denní myši (vlastní chov) 30 ks/rok	
<b>Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?</b>	
Experimentální zvířata budou definovaným způsobem infikována konkrétním druhem motolice v množství, které nemá vliv na jejich zdravotní stav. Prováděné úkony spadají do kategorie mírné, výjimečně až střední závažnosti (odběr likvoru v celkové anestezii). Zvířata zařazená do pokusu po jeho ukončení nenabudou vědomí po zákroku v celkové anestezii, nebo budou utracena. Po usmrcení budou těla zvířat umístěna do kafilerního boxu a odvezena k asanaci.	
<b>Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)</b>	
<b>Nahrazení používání zvířat: Uved'te, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.</b>	
Uskutečnění pokusů na zvířatech je jedinou cestou, jak sledovat působení konkrétních druhů parazitů na hostitele, zejména pak z hlediska jeho imunitní odpovědi na infekci parazitem s odlišným způsobem migrace i typem potravy, kterou se živí (nervová tkáň centrálního nervového systému se specifickými zákonitostmi v dynamice imunitní odpovědi, vs. krev, vs. trávenina uvnitř lumen střeva).	
Za účelem minimalizace počtu pokusných zvířat, jejich bolesti, utrpení a strachu během experimentů bude veškerá manipulace prováděna pouze certifikovanými osobami s platným osvědčením, počet zvířat bude minimalizován na nejmenší možnou míru, ovšem pouze tak, aby výsledky mohly být statisticky zpracovatelné.	
Během pokusů bude zvířatům zajištěna co nejmenší míra stresu. Kromě úkonů nezbytných k pokusu budou zvířata ponechána v klidu a bude o ně pečováno dle platných zoohygienických předpisů a jejich biologických potřeb. Tam, kde to bude možné (např.	

použití raných schistosomul), budou experimenty na zvířatech nahrazeny kultivačními technikami (např. transformace cercárií na schistosomuly *in vitro* namísto v obratlovčím hostiteli nebo vystavení kultivovaných schistosomul buněčným liniím z *in vitro* kultur.

Zvířata budou vystavena infekci parazitem opakovaně v různých intervalech pouze ve zvlášť odůvodněných případech dle sledovaného cíle konkrétního experimentu (zejména sledování vývoje imunitní odpovědi při reinfekcích). Kumulativní dopad na pokusná zvířata je minimální, jiná alternativa pro zjištění imunitní reakce hostitele na opakované vystavení infekci motolicemi není možná.

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

Počet zvířat byl plánován s ohledem na statistické vyhodnocení tak, aby množství zvířat bylo minimalizováno, ale zároveň umožňovalo provedení analýzy získaných dat. Při menším množství zvířat bychom nemohli získat dostatečně průkazná data a tak by byl celý experiment znehodnocen.

**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.**

Výzkum ptačích schistosom rodu *Trichobilharzia* by nebyl možný bez zavedení modelových druhů *T. regenti* a *T. szidati* do laboratorních chovů. Helmintologická laboratoř PřF UK je jediná, ve které je držen laboratorní chov ptačích schistosom včetně neurotropní *T. regenti* a viscerální *T. szidati*. To s sebou obnáší nezbytné cyklování parazita mezi přirozenými hostiteli – vodními plži a kachnami, které je nutné v pravidelných intervalech infikovat. Chov kachen je podřízen speciálnímu režimu schválenému veterinárním dozorem. Jeho podstatou je klecový chov málo početných skupin mladých kachen bez přístupu k hluboké vodě ke koupání, pouze s vodou k napájení. Tato úprava režimu je nezbytná jak z hlediska bezpečnosti samotných zvířat (zamezení újmy zvířat při případných neuromotorických komplikacích během infekce *T. regenti*), tak z hlediska možnosti sběru trusu od individuálních kachen bez jeho předchozího styku s vodou, který by vajíčka parazitů znehodnotil.

Laboratorní myš je jedním ze základních modelových druhů užívaných pro studium různých buněčných, vývojových a imunologických procesů a budou chovány dle zavedených postupů a platných vyhlášek.

Veškeré manipulace s pokusnými zvířaty budou vždy prováděny pracovníkem s osvědčením dle § 15d odst. 3 zákona č. 246/1992 Sb. S pokusnými zvířaty bude zacházeno s maximální ohleduplností a budou omezeny všechny formy utrpení pokusných zvířat.

Výzkum, který by výše zmíněnou problematiku řešil v podobném rozsahu na stejném modelu, je zcela unikátní, a dosud nebyl prováděn.