

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ 82/2019

Název projektu pokusů

Role myeloperoxidázy v patologických změnách spojených se stárnutím

Doba trvání projektu pokusů 1. 12. 2019 – 31. 12. 2022

Klíčová slova - *maximálně 5* Myeloperoxidáza, stárnutí, zánět, imunitní buňky, volné radikály

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

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

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

Hlavním cílem projektu je poskytnout nové informace o významu enzymu myeloperoxidázy v rozvoji patologických procesů spojených se stárnutím. Předpokládá se, že chronické zánětlivé procesy, které probíhají v průběhu života jedince, jsou jedním z hlavních patologických činitelů, které se podílejí při vzniku chorobných procesů během stárnutí organismu a s ním spojených onemocněních (kardiovaskulární a nádorová onemocnění, onemocnění jater, ledvin). S chronickými zánětlivými procesy je spojena také opakovaně zvýšená produkce volných radikálů, které jsou produkovány primárně v určitých imunitních buňkách, ale zprostředkovaně také v dalších typech buněk (např. epitelální). Zvýšená produkce volných radikálů indukuje chronický oxidativní stres spojený se selháním antioxidačních obranných mechanismů v organismu, což je považováno za klíčové pro patologické procesy spojené se stárnutím. Hlavním enzymem pro tvorbu reaktivních metabolitů neutrofilními fagocyty infiltrujícími chronicky zanícené tkáně je myeloperoxidáza. Avšak tento enzym se v tkáních ukládá nejen v důsledku infiltrace neutrofilních granulocytů, ale také díky jeho přítomnosti v periferní cirkulaci ve formě volného enzymu, kam se dostává při jakékoliv aktivaci neutrofilních granulocytů (stresové podmínky, příjem potravy, kouření a mnoho dalších chronických stimulů). Myeloperoxidáza má velmi silné peroxidací účinky, v důsledku čehož dochází v její přítomnosti k produkci kyseliny chlorné a také peroxidaci mnoha biomolekul s regulačními účinky. Celkově však význam myeloperoxidázy v patologických procesech spojených se stárnutím organismu není dostatečně objasněn. Porovnání procesů stárnutí u kontrolních myší a myší deficientních na myeloperoxidázu bude provedeno na základě komplexních analýz všech orgánů, u kterých se patologické projevy stárnutí dají charakterizovat.

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)

Chronické zánětlivé procesy se považují za jeden z hlavních patologických činitelů ve vzniku chorobných procesů během stárnutí organismu. Klíčovým enzymem v rámci zánětlivé odpovědi a s ní spojeným oxidativním stresem je enzym myeloperoxidáza. Avšak význam myeloperoxidázy v patologických procesech spojených se stárnutím organismu není objasněn. Důležité je, že v současnosti byly objeveny specifické inhibitory myeloperoxidázy, které se začínají testovat pro klinické použití k léčbě kardiovaskulárních onemocnění a dalších onemocnění spojených s chronickými záněty. Lze tedy vyslovit domněnku, že tato potenciální léčiva by bylo možné využít na potlačení patologických procesů spojených se stárnutím. Za tímto účelem je však nejprve nezbytné objasnit význam myeloperoxidázy v patologických procesech stárnutí. Výsledky zásadně přispějí k poznání významu myeloperoxidázy v chorobných procesech spojených se stárnutím a objasní, zda by bylo možné navrhnout farmakologické ovlivnění aktivity myeloperoxidázy k potlačení těchto patologických procesů.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Studie bude provedena na myších kmene C57Bl/6 jak divokých, tak deficientních na enzym myeloperoxidázu. Z důvodu nutného statistického hodnocení je v průběhu 5 let řešení projektu (2015-2019) plánováno použití celkem 300 myší.

Toto množství odpovídá tomuto projektovému plánu.

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

U části pokusných zvířat bude navozena pouze limitovaná zánětlivá reakce, což může vést k indukci mírného stresu u těchto zvířat. Zvířata budou na konci pokusu po navození celkové anestézie vykřevna kardiopunkcí a tato zvířata již nenabudou vědomí.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Komplexní proces stárnutí savčího organismu nelze v podmínkách *in vitro* namodelovat. Byla realizována řada pokusů s izolovanými primárními buňkami z dobrovolných dárců různého stáří, ale tyto experimenty mají pouze velmi limitovanou výpovědní hodnotu, oproti navrhovanému experimentálnímu sledování.

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. Pokusy budou průběžně vyhodnocovány a projekt ukončen při dosažení statistické významnosti.

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.

Zvířata budou během těchto pokusů exponována pouze limitovanému stresu spojenému s indukcí zánětlivé reakce. V případě neobvyklého chování zvířete v průběhu pokusu, které by značilo významný stres, bude u takového zvířete pokus ukončen okamžitým usmrcením dle protokolu.