

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ 46/2020

Název projektu pokusů

Příčiny proteobakteriální střevní dysbiózy a její role v patogenezi imunitně zprostředkovaných a metabolických onemocnění

Doba trvání projektu pokusů 2020–2022

Klíčová slova – maximálně 5 *potravinářská aditiva; dysbióza; střevní mikrobiom; zánět střeva; nealkoholová steatóza jater*

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)

Cílem projektu je ověřit hypotézu, že konzervační látky jsou významnými spouštěči proteobakteriální dysbiózy, dále prokázat kauzální úlohu dysbiotické střevní mikrobioty při rozvoji onemocnění a vyhodnotit terapeutický potenciál transplantace fekální mikrobioty a probiotik.

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)

Mezi očekávané výstupy projektu patří identifikace potravinářských aditiv, jež způsobují proteobakteriální dysbiózu střevní mikrobioty a objasnění mechanismů, kterými dysbiotická mikrobiota ovlivňuje imunitní systém a rozvoj onemocnění. Dalším přínosem bude také analýza terapeutického potenciálu transplantace fekální mikrobioty a aplikace probiotik.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

V experimentech budou použity gnotobiotické a konvenční myši kmene C57BL/6, a to buď nemodifikované (wild-type) či s mutací v genu Nod2, což je model pro Crohnovu chorobu. V průběhu projektu (2020–2022) bude použito maximálně 300 myší/rok, celkem 1200 myší. 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?

Bezmikrobní experimentální myši kmene C57BL/6 budou osazeny lidskou střevní mikrobiotou a dále jim budou podávány konzervační látky v pitné vodě. Expozice konzervačním látkám bude maximálně na úrovni nejvyšší odhadované expozice v rámci Evropské Unie či nižší (přepočteno na váhu). U myší, u kterých se rozvine proteobakteriální střevní dysbióza může dojít k rozvoji mírného střevního zánětu, jenž je charakteristický lymfocytárním infiltrátem ve stěně terminálního ilea. K významnému poškození sliznice, ulceracím či perforacím střevní stěny nedochází. U myší s proteobakteriální dysbiózou se také často rozvine mírná nealkoholová steatóza jater, jenž nemá závažnějších komplikací. Navrhovaná míra závažnosti je nízká. Eutanázie (předávkování anestetikem, oxid uhličitý, cervikální dislokace), kafilerní box a odvoz asanační společnosti.

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 z velké části z jinak nekultivovatelných bakterií) a ani působení mikrobů na fungování komplexních imunologických a metabolických 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.