

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ 52/2019

Název projektu pokusů

Analýza vlivu inhalovaných nanočástic olova a kadmia na cílové orgány myši a následná eliminace nanočástic z orgánů

Doba trvání projektu pokusů 36 měsíců

Klíčová slova - *maximálně 5* Nanočástice, toxicita, tkáň, olovo, kadmium

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)

Produkce nanočástic obsahujících olovo a kadmium a jejich použití v řadě průmyslových odvětví společně se skutečností, že stále není s konečnou platností definována bezpečná hladina obsahu olova v krvi dětí, zatímco u kadmia je známé pomalé vylučování z organismu jako celku, ale nejsou k dispozici informace o rychlosti vylučování z jednotlivých orgánů, s sebou přináší potřebu zásadního porozumění mechanismům interakce nanočástic těchto kovů s živými organismy. Tato potřeba je také dána unikátními vlastnostmi nanočástic, které přímo vyplývají z jejich toxicity, malých rozměrů a s tím související schopností pronikat v organismu do tkání i buněk.

Cílem studie je objasnění transportu rozpustných $[(Pb(NO_3)_2 \text{ a } Cd(NO_3)_2)]$ a semirozpustných $[PbO, CdO]$ nanočástic sloučenin olova a kadmia, mapování jejich ukládání v těle pokusných myši jako modelového organismu, vyhodnocení jejich vlivu na cílové orgány po inhalaci nanočástic sloučenin olova a kadmia a sledování následného odstranění uvedených nanočástic z orgánů myši.

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)

V rámci experimentů bude sledována distribuce rozpustných $[(Pb(NO_3)_2 \text{ a } Cd(NO_3)_2)]$ a semirozpustných $[PbO, CdO]$ nanočástic sloučenin olova a kadmia v tělech myši po inhalačním podání nanočástic a následná eliminace nanočástic z orgánů. Studie budou prováděny na dobře charakterizovaných nanočásticích tak, aby získané výsledky v oblasti biologického působení těchto nanočástic byly kvalitní a porovnatelné a mohly tak sloužit pro vyhodnocení toxicity inhalovaných různých rozpustných nanočástic sloučenin olova a kadmia.

Při sledování distribuce nanočástic budou používány metody optické a elektronové mikroskopie a chemické analýzy vybraných orgánů. Pomocí optické a elektronové mikroskopie bude zdokumentován vliv na stavbu a morfologii buněk a tkání jednotlivých orgánů po akutní a chronické expozici nanočásticím kovů. K vyhodnocení vlivu inhalovaných nanočástic olova a kadmia na buněčné úrovni budou použity metody biochemické analýzy.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Na experimenty je plánováno použití maximálně tří set laboratorních myši ročně. K experimentům budou využiti dospělí jedinci obou pohlaví a březí samice, experimenty budou prováděny po dobu několika dní až několika měsíců.

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

Nežádoucí účinky u zvířat nejsou očekávány. Klasifikace závažnosti je mírná. Po ukončení experimentu budou zvířata usmrcena cervikální dislokací.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Experimenty budou prováděny na laboratorních myších, neboť testy in vitro nemohou poskytnout informace o distribuci nanočástic v organismu po jejich inhalaci. Alternativní metody nemohou postihnout složitost zkoumané problematiky, a proto nemohou laboratorní experimenty v současné době nahradit. Uvedený počet je nezbytný z důvodu vytvoření dostatečně velkých experimentálních skupin.

Inhalační experimenty budou prováděny ve speciálně upravených skleněných boxech s vlastní vzduchotechnikou a klimatizací. V rámci krátkodobých experimentů budou myši podrobeny expozici nanočástic pouze několik dní a poté budou usmrceny. U dlouhodobých experimentů budou myši podrobeny expozici nanočástic řádově týdny až měsíce.

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

Při plánování pokusu jsme se zaměřili na omezení počtu pokusných zvířat především na základě našich předchozích experimentů, ve kterých jsme počty experimentálních zvířat optimalizovali. Uvedený počet zvířat je nezbytný pro možnou variabilní odpověď jedinců na vliv nanočástic.

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.

Laboratorní myš byla zvolena jako modelový organismus z důvodů fyziologických parametrů podobných člověku z hlediska toxikologie nanočástic kovů. Zvířata budou chována za standardních podmínek, budou mít k dispozici potravu a vodu ad libitum. V průběhu experimentu nebude prováděn odběr krve ani tkání, veškeré tkáně budou odebrány až po usmrcení zvířat.