

NETECHNICKÉ SHRNUTÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Anti-hemostatické serpiny z klíštěte *Ixodes ricinus* a jejich vliv na přenos patogenů

Doba trvání projektu pokusů

do XII/2021

Klíčová slova - maximálně 5

Inhibitory proteáz, *Ixodes ricinus*, zánět, hemostáza, přenos borelií

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)

Cílem této studie je otestovat několik inhibitorů proteáz ze slin klíštěte *Ixodes ricinus* na jejich protizánětlivé, antihemostatické a imunomodulační účinky, což může vést k objevení nových mechanismů v interakci klíště-hostitel-patogen, k identifikaci nových potenciálních farmakologických cílů pro terapie různých zánětlivých chorob a k vývoji vakcín blokujícím přenos patogenů.

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)

Očekáváme především, že výsledky pokusů přinesou cenné informace o vlivu klíštěcích proteázových inhibitorů na koagulaci krve, srážení destiček a imunitní systém hostitele a rozšíří portfolio klíštěcích imunomodulačních molekul, u nichž byl prokázán terapeutický potenciál.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Laboratorní myš (*Mus musculus*), kmen C57BL/6 – 700 jedinců, kmen C3H/HeN – 200 jedinců

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

U zvířat se předpokládá navození zánětlivých stavů v různých částech těla. Tímto bude způsoben myším diskomfort, případně bolest. Maximální míra závažnosti pokusu je střední. Po skončení pokusů budou zvířata usmrcena zlomením vazů.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Pokusy s buněčnými populacemi či tkáňovými kulturami mohou naznačit, jaké mechanismy a jaké procesy jsou ovlivněny. Je však třeba otestování na organismální úrovni, aby *in vitro* a *ex vivo* pozorované výsledky byly potvrzeny jako relevantní. Jelikož zatím neexistuje způsob, jak nahradit pokusné zvíře při studiu komplexní imunitní reakce, neexistují bohužel zatím adekvátní alternativní metody.

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

Počet zvířat ve skupině v jednotlivých pokusech je na základě literatury a předchozích zkušeností stanoven tak, že odpovídá nejmenšímu statisticky potřebnému počtu. Bude testováno více proteinů najednou, aby mohla být použita kontrolní skupina pro všechny testované skupiny. Všechny testované proteiny budou nejprve otestovány na buněčné úrovni, což zajistí přesnější výběr vhodného *in vivo* modelu a zamezí zbytečnému použití nevhodného modelu.

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.

Modelové zvíře bylo vybráno z důvodu velikosti, z kapacitních důvodů a kvůli podobnosti myšího imunitního systému s lidským, tím pádem použitelnosti výsledků pro případný budoucí preklinický a klinický výzkum. V myším modelu také existuje obrovská flexibilita, co se používání různých myších kmenů, či GMO myši týká. V projektu se sice nepočítá s použitím jiných, než uvedených kmenů, je však možné na výsledky tohoto projektu dále navázat s použitím například myši se specifickou delecí konkrétního genu.

Všude, kde zvířeti hrozí výrazný diskomfort či bolest, a kde to bude z hlediska pokusu možné, budou použity adekvátní způsoby anestezie. Zvířata budou držena v bariérovém IVC chovu s nastaveným střídáním tmy a světla, které simuluje den a noc, čímž se snižuje míra stresu. Zvířata budou v klecích maximálně po pěti jedincích, v případě vzájemného napadání budou zvířata oddělena do samostatných klecí. Zvířata budou denně kontrolována, pravidelně bude měněna podestýlka, doplňována voda a krmivo.