

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Reoxygenace ischemické kostní dřene jako model reperfučního tkáňového poškození (MUS MUSCULUS)

Doba trvání projektu pokusů do 12/2019

Klíčová slova - maximálně 5 Ischemie, perfuze, hematopoetické buňky, oxidační stres

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 projektu je evaluace míry oxidativního stresu u krvetvorných kmenových a progenitorových buněk po ischemii a následné reoxygenaci, a také ve tkáni regenerující po jednorázovém vystavení ionizujícímu záření. Druhým cílem je pak ověřit možnost, že selhání regenerující dřene při kotransplantaci s normální dřeni je způsobeno zvýšenou tvorbou ROS v intenzivně proliferující tkáni.

Návazným cílem je pak zvýšení transplantability kostní dřene farmakologickou inhibicí MPTP, zejména pak u dosud téměř netransplantovatelných vysoce metabolicky aktivních progenitorových buněk s vysokým regeneračním potenciálem, které se vyskytují v expanzivně regenerující kostní dřeni po ozáření.

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)

Myši krvetvorba je pro svou podobnost s krvetvorbou lidskou standardně využívaným modelem pro studium mechanismů její regulace. Poznatky vyplývající z předkládaného projektu by v budoucnu tedy mohly sloužit pro optimalizaci protokolů pro izolaci a transplantaci hematopoetických buněk v humánní medicíně. Projekt navazuje na předchozí výzkum regenerace krvetvorné tkáně v naší laboratoři a vychází i z aktuálních poznatků z vědecké literatury.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

V experimentech budou použity inbrední myši kongenních kmenů geneticky se od sebe lišících pouze expresí varianty antigenu CD45 (tudíž zcela histokompatibilních), a to konkrétně kmene C57BL/6J (CD45.2) a B6.SJL-Ptpra Pepcb/BoyJ (CD45.1).

Pro experimenty s teplou ischemií bude použito celkem 5 pokusných skupin, každá o 5 myších. Pro transplantace bude použito odpovídající množství (5 x 5) příjemců. Stejně schéma bude uplatněno i v experimentech s ionizujícím zářením. Celkem tedy bude využito 100 pokusných zvířat (samice ve věku dvou až šesti měsíců).

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

- 1) při injekční aplikaci a/nebo odběr krve; nejsou očekávány nežádoucí účinky.
- 2) Střední závažnost – jednorázová dávka ionizujícího záření (6 Gy) způsobující pouze částečnou myeloablaci v rámci přípravy na příjem transplantátu kostní dřene. Ozářená zvířata zpravidla nevykazují změny chování či úbytky hmotnosti. Transplantát bude pocházet od kongenního kmene, neočekává se tudíž imunitní odpověď.

Po skončení pokusu budou zvířata usmrcena předávkováním inhalačním anestetikem a následným zlomením vazů; likvidaci zajišťuje uživatelské zařízení, ve kterém budou pokusná zvířata umístěna.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Projekt pracuje s modely ischemie-reperfuze a regenerací krvetvorné tkáně in situ a po transplantaci – procesy odehrávající se v mikroprostředí kostní dřene není s využitím současných poznatků a technologií možné replikovat in vitro.

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

Projekt je navržen tak, aby bylo dosaženo získání dostatečného množství výsledků umožňujícího statistické zpracování za použití nejmenšího možného počtu pokusných zvířat.

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.

Myši inbredních kongenních kmenů C57BL/6J a B6.SJL-Ptpra Pepcb/BoyJ jsou nejčastěji užívanými modely při studiu krvetvorby. Výsledky studie budou proto zasazeny do širokého spektra poznatků vygenerovaných na stejném experimentálním modelu.

Po ozáření submyeloablativními dávkami ionizujícího záření s následnou spontánní regenerací či transplantací syngenní kostní dřene nejsou u myši patrné změny chování, stejně tak po odběru krve. Po celou dobu experimentu budou zvířata umístěna v chovných nádobách konvenčního chovu, budou mít přístup k potravě a vodě ad libitum a jejich stav bude pravidelně kontrolován.