

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Vliv larev tasemnic *Mesocostoides corti* a *Taenia crassiceps* na rozvoj a šíření nádorových onemocnění u myší

Doba trvání projektu pokusů - v měsících 45 měsíců (do VIII/2024)

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾ Mesocostoides, Taenia, nádorová onemocnění,

Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností

- | | |
|-------------------------------------|---|
| ☒ | základní výzkum |
| ☐ | translační a aplikovaný výzkum |
| ☐ | kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže) |
| ☐ | legislativní účely |
| ☐ | a běžná výroba |
| ☐ | jiné zkoušení účinnosti a tolerance |
| ☐ | zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie |
| ☐ | běžná výroba |
| ☐ | ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat |
| ☐ | zachování druhů |
| ☐ | vyšší vzdělávání |
| ☐ | odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí |
| ☐ | trestní řízení a jiné soudní řízení |
| ☐ | udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech |

Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb

Studie v rámci základního výzkumu si klade za cíl charakterizovat vliv souběžné infekce tasemnicemi na rozvoj vybraných druhů nádorů, především na rozvoj melanomů jako velmi agresivního (invazivního) typu nádoru u zvířat i člověka. Pro toto studium jsme zvolili myší model (několik odlišných kmenů myší). Charakterizovány budou zejména proteiny tasemnic, které buď přímo či nepřímo prostřednictvím stimulace imunitního systému inhibují rozvoj primárních nádorů a metastáz.

Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)

V případě potvrzení předpokládané protinádorové aktivity larev tasemnic *Mesocostoides corti* a *Taenia crassiceps* by tyto druhy mohly v experimentech zastoupit např. tasemnici *Echinococcus granulosus*, u které je popsán protinádorový efekt, ale je vysoce patogenní pro člověka. Předpokládáme také identifikaci parazitárních produktů, u nichž bude možno uvažovat o jejich budoucím využití v prevenci či terapii vybraných typů nádorů.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání

Pro udržení modelových tasemnic v laboratorních podmínkách budou larvy tasemnic injekčně aplikovány do peritoneální dutiny myši pod anestezií, kde budou ponechány maximálně tři měsíce, a poté bude část použita na infekci dalších myši a část na další experimenty. V případě infekčních pokusů budou larvy tasemnic či jejich produkty injikovány stejným způsobem. Nádorové buňky budou aplikovány injekčně do podkoží nebo do peritoneální dutiny.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků

U zvířat použitých pro udržování populace larev tasemnic v laboratorních podmínkách se neočekávají žádné nepříznivé účinky na zvířata, jelikož jsou drobní hlodavci jejich přirozenými hostiteli. U myši, kterým budou aplikovány nádorové buňky, se může z důvodu růstu nádorů projevit zhoršení zdravotního stavu. Myši s nádory budou usmrceny maximálně 3 týdny po aplikaci nádorových buněk; při pozorování možných závažných změn, zejména úbytku hmotnosti, tvorbě ascitu, apatie nebo zhoršení dýchání, budou myši usmrceny dříve (střední závažnost).

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu

Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhado- vaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	1100			x	
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					

Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena

Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití

Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu

Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - *uved'te*

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat - *uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu*

Tam, kde to bude možné, budou experimenty na zvířatech nahrazeny kultivačními technikami (např. kultivace larev tasemnic *in vitro* za účelem dlouhodobého sběru exkrečně-sekrečních produktů tasemnic, namísto v obratlovčím hostiteli), nebo pokusy *in vitro* (ověřování vlivu larev tasemnic či jejich produktů na nádorové či imunitní buňky v *in vitro* systémech). Pro testování vlivu tasemnic a jejich

produktů na imunitní systém, růst a metastázování nádorů je však nutno použít pokusných zvířat, jelikož komplexní procesy probíhající v živém organismu nelze simulovat *in silico* nebo *in vitro*.

Omezení používání zvířat - vysvětlete, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).

Počet zvířat (5-7 na skupinu) byl plánován s ohledem na statistické vyhodnocení tak, aby množství zvířat bylo minimalizováno, ale zároveň umožňovalo provedení analýzy získaných dat.

Šetrné zacházení se zvířaty - uveďte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu

Během pokusů bude zvířatům zajištěna co nejmenší míra stresu. Kromě úkonů nezbytných k pokusu budou zvířata ponechána v klidu a bude o ně pečováno dle platných zoohygienických předpisů a jejich biologických potřeb, na lidskou ruku a manipulaci budou pravidelně navykána. Veškeré manipulace s pokusnými zvířaty budou vždy prováděny pracovníkem s osvědčením dle § 15d odst. 3 zákona č. 246/1992 Sb. Při aplikaci larev tasemnic a nádorových buněk budou myši uvedeny do celkové anestezie, stejně jako při ukončení experimentu cervikální dislokací.

Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií

Pro pokusy budou využity tři kmeny laboratorních myší (*Mus musculus*). Myši kmene BALB/c budou použity k udržování larev tasemnic v laboratorním prostředí. Inbrední myši kmene C57BL/6 budou použity pro pokusy s koinfekcemi myší tasemnicemi či jejich produkty a nádorovými buňkami. Tento kmen byl vybrán, jelikož z něj pochází původní izolát melanomové linie B16F10. Dále je v plánu použit outbrední kmen myší ICR, jelikož má jiné imunologické pozadí a nižší vnímavost na tento typ nádorových buněk.

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nespecifikovaného savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech