

| NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 71/2020<br>upravené podle PR 2020/569                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-------|---------|---------|
| <b>Název projektu pokusů</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| Testování léčiva gastrointestinálního traktu na myším modelu kancerogeneze vyvolané AOM/DSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| Doba trvání projektu pokusů - v měsících                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                   | 29                                                               |                                          |       |         |         |
| Klíčová slova - <i>maximálně pět 1)</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                   | AOM, DSS, tlusté střevo, kancerogeneze, léčivo,                  |                                          |       |         |         |
| <b>Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | základní výzkum                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | translační a aplikovaný výzkum                                                                    |                                                                  |                                          |       |         |         |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)                                  |                                                                  |                                          |       |         |         |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | legislativní účely                                                                                | jiné zkoušení účinnosti a tolerance                              |                                          |       |         |         |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | a běžná výroba                                                                                    | zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie |                                          |       |         |         |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | běžná výroba                                                                                      |                                                                  |                                          |       |         |         |
| <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                                                                                  |                                                                  |                                          |       |         |         |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí                      |                                                                  |                                          |       |         |         |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | trestní řízení a jiné soudní řízení                                                               |                                                                  |                                          |       |         |         |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech |                                                                  |                                          |       |         |         |
| <b>Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| Hlavním cílem navrženého projektu je objasnit vliv léčivé látky X při tvorbě střevních nádorů následujících po chronické kolitidě vyvolané DSS (dextranulfát). Zmíněné léčivo je již zavedeno na trhu coby antiflogistikum v gastritidě, ale vyvstal požadavek ověřit jeho funkci při střevní kancerogenezi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| <b>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)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| Navržené experimenty přispějí k rozšíření poznatků a případnému přípanému průkazu nulového účinku léčiva X v indikaci nádorového bujení ve střevě. Tyto poznatky mohou přispět k rozvoji nových terapeutických přístupů.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| <b>Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| Zdravotní stav zvířat bude dlouhodobě monitorován a v daných časových intervalech pak budou zvířata hodnocena na základě úbytku tělesné hmotnosti, kvality stolice a okultního krvácení. Aplikace AOM, léčiva X a PGE2 bude probíhat nejšetrnějším možným způsobem buďto orálně nebo intra-peritoneálně dle výše uvedeného aplikačního schématu.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| <b>Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| Myši podstoupí zánět a následné rakovinné bujení ve střevě, které však nevede k bezprostřednímu úmrtí zvířete. Po rozvoji onemocnění budou myši pravidelně monitorovány a tumory by neměly dosáhnout stadia karcinomu ani obstrukce trávicí trubice. V případě opakované intraperitoneální aplikace látek se může u myši rozvinout peritonitida; tyto myši budou bezprostředně utraceny. Totéž učiníme v případě, že dojde k poranění myši během opakované aplikace žaludeční sondy. Před terminálním vykrvením budou zvířata sedována isofluranem. Po ukončení pokusu budou zvířata usmrcena cervikální dislokací či za použití CO <sub>2</sub> . Likvidace kadáverů bude provedena asanační službou, se kterou má pracoviště smlouvu. |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| <b>Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| Druh zvířat 2)<br>- vyberte ze seznamu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                   | Odhadovaný počet                                                 | Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti |       |         |         |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                   |                                                                  | Nenabude vědomí                          | Mírná | Střední | Závažná |
| Myš laboratorní (Mus musculus)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                   | 300                                                              |                                          |       | 300     |         |
| Zvolte položku.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| Zvolte položku.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |
| Zvolte položku.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                   |                                                                  |                                          |       |         |         |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  |  |  |  |   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|--|--|---|
| Zvolte položku.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  |  |  |  |   |
| <b>Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |  |  |  |  |   |
| Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  |  |  |  | 0 |
| Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |  |  |  |  | 0 |
| Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |  |  |  |  | 0 |
| Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - <i>uved'te</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |  |  |  |   |
| <b>Uplatňování 3R</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |  |  |  |  |   |
| <b>Nahrazení</b> používání zvířat - <i>uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |  |  |  |  |   |
| Hlavním cílem navrženého projektu je objasnit vliv léčivé látky X při tvorbě střevních nádorů následujících po chronické kolitidě. Takovou studii tedy nelze provést jinak než v kontextu živého organismu, protože bude posuzována odpověď střevní sliznice a imunitního systému. Alternativní cesta k takovým poznatkům není možná.                                                                                                                                                                  |  |  |  |  |   |
| <b>Omezení</b> používání zvířat - <i>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).</i> |  |  |  |  |   |
| Aby měl pokus statisticky signifikantní výsledky v obecné rovině, je vždy nezbytné použít dostatečný počet zvířat. V průběhu řešení pokusu bude kladen důraz na minimalizaci počtu jedinců v jednotlivých experimentech. Toho lze dosáhnout pečlivým plánováním experimentů.                                                                                                                                                                                                                           |  |  |  |  |   |
| <b>Šetrné zacházení</b> se zvířaty - <i>uved'te 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</i>                                                                                                                                                        |  |  |  |  |   |
| Orbitální vykrvení bude probíhat pod sedací isofluranem. Nedojde k žádnému poškození ani trvalým následkům, protože budou pak zvířata usmrcena. Zvířata budou chována v chovných klecích, kde mají dostatek prostoru, jídla a pití, a které jsou pravidelně čištěny. Manipulace při aplikaci AOM, PGE2 a léčiva X budou probíhat co nejkratší dobu. V průběhu růstu střevních nádorů bude celkový stav zvířat denně kontrolován a při radikálním zhoršení budou daní jedinci utraceni.                 |  |  |  |  |   |
| <b>Použité druhy zvířat</b> - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  |  |  |  |   |
| Laboratorní myš je vhodný modelový organismus vzhledem k vysokému stupni podobnosti mezi genetickou informací člověka a hlodavci. Pro určení podstaty působení látky X při kancerogenezi tlustého střeva budou použity myši kmene C57Bl/6 ve stáří 8-12 týdnů, jelikož v tomto stáří je stav imunity u myši pro danou studii nejvhodnější.                                                                                                                                                             |  |  |  |  |   |

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

<sup>2)</sup> 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