

## NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

### Název projektu pokusů

Výzkum vlivu ptačích schistosom na průběh experimentálních modelů autoimunitních a chronických zánětlivých onemocnění

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

40

Klíčová slova - maximálně pět <sup>1)</sup>

Astma, experimentální autoimunitní encefalomyelitida, *Trichobilharzia regenti*, *Trichobilharzia szidati*

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 jiné zkoušení účinnosti a tolerance

☐ a běžná výroba 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**

Roztroušená skleróza (RS) je vážné autoimunitní onemocnění. Jako experimentální myší model pro výzkum tohoto onemocnění slouží experimentální autoimunitní encefalomyelitida (EAE). Oproti tomu astma je chronické zánětlivé onemocnění, jehož prevalence neustále narůstá. Bylo prokázáno, že některé druhy helmintů nebo produkty jejich metabolismu zmírňují projevy EAE a/nebo astmatu. Navrhovaný projekt je zaměřen na výzkum: (a) vlivu infekce (primoinfekce i reinfekce) myší motolicí migrující do plic (*Trichobilharzia szidati*) na průběh astmatu; (b) vlivu infekce (primoinfekce i reinfekce) myší motolicí migrující centrální nervovou soustavou (CNS) (*T. regenti*) na průběh EAE; (c) vlivu parazitárních antigenů na polarizaci myších splenocytů v *in vitro* kulturách. Očekávaným přínosem je zjištění možného pozitivního vlivu infekce ptačími schistosomami, či spíše jejich produktů na průběh astmatu a EAE v myším modelu.

**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)**

Vliv helmintů na RS a astma je v posledních letech často zkoumán, ale zatím nebyl zkoumán vliv parazitů, kteří migrují do CNS nebo plic, kde jsou imunitním systémem eliminováni. Předběžné výsledky naznačují, že zvolené druhy motolic stimulují protizánětlivou imunitní odpověď a mohou významně ovlivňovat imunitní odpověď přímo v místě onemocnění. Výzkum rozšíří znalosti o imunomodulačních schopnostech helmintů a mohl by být využit při vývoji léčiv pro zmíněná onemocnění.

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

Při indukci EAE bude myším dvakrát s.c. injikován MOG peptid ve Freundově adjuvans, dvakrát bude i.p. injikován pertussis toxin. Při indukci astmatu bude myším dvakrát i.p. ovalbumin s hydroxidem hlinitým (adjuvans) a třikrát i.n. podán pouze ovalbumin. V obou případech (EAE i astma) jde o standardní protokoly používané k indukci uvedených onemocnění. Část myší bude vystavena perkutánní nákaze cercáriemi ptačích schistosom ve vodě po dobu maximálně jedné hodiny. Před odběrem krve, tkání nebo buněk budou myši uspány i.p. podáním kombinace Rometar/Narkamon nebo aplikací inhalační anestezie (isofluran).

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

Snížená hybnost a hmotnost zvířat s indukovanou EAE, přibližně 30 dní. Indukce astmatu na zvířata zjevné nepříznivé účinky nemá.

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

Druh zvířat <sup>2)</sup>

- vyberte ze seznamu

Odhadovaný

Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti

Nenabude

Mírná

Střední

Závažná

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | počet | vědomí |      |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|--------|------|-----|
| Myš laboratorní (Mus musculus)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 1312  |        | 1070 | 242 |
| 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 - uveďte                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |       |        |      |     |
| <b>Uplatňování 3R</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |       |        |      |     |
| <b>Nahrazení používání zvířat - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |       |        |      |     |
| Tam, kde to bude možné, budou experimenty na zvířatech nahrazeny kultivačními technikami (např. využití buněčných linií z <i>in vitro</i> kultur namísto buněk izolovaných z myši).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |       |        |      |     |
| <b>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).</b>                                                                    |       |        |      |     |
| Počet zvířat byl plánován s ohledem na statistické vyhodnocení tak, aby množství zvířat bylo minimalizováno, ale zároveň umožňovalo provedení analýzy získaných dat. Při menším množství zvířat bychom nemohli získat dostatečně průkazná data, a tak by byl celý experiment znehodnocen.                                                                                                                                                                                                                                                                          |       |        |      |     |
| <b>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</b>                                                                                                                                                                                                                            |       |        |      |     |
| Veškeré manipulace s pokusnými zvířaty budou vždy prováděny pracovníkem s osvědčením dle § 15d odst. 3 zákona č. 246/1992 Sb. S pokusnými zvířaty bude zacházeno s maximální ohleduplností a budou omezeny všechny formy utrpení pokusných zvířat.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |       |        |      |     |
| Během pokusů bude zvířatům zajištěna co nejmenší míra stresu. Myším nebudou prováděny operační zákroky. Kromě úkonů nezbytných k pokusu budou zvířata ponechána v klidu a bude o ně pečováno dle platných zoohygienických předpisů a jejich biologických potřeb. U myši s indukovanou EAE bude denně pozorována jejich pohyblivost a úbytek hmotnosti, denně také bude kontrolován jejich přístup k vodě a krmivu. Utrpení pokusných zvířat při zákrocích jako celkové vykrvování, izolace buněk a perfuze bude omezeno a maximálně zmírněno za použití anestezie. |       |        |      |     |
| Eutanázie po skončení pokusu bude provedena tak, aby utrpení pokusných zvířat bylo omezeno a maximálně zmírněno, a to buď cervikální dislokací v hluboké anestezii nebo vykrvením či perfuzí v hluboké anestezii. Likvidace kadaverů bude provedena firmou Asavet.                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |       |        |      |     |
| <b>Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |       |        |      |     |
| Pro experimenty budou využity myši kmenů C57BL/6 a BALB/c (stáří při začátku dílčích experimentů 6-8 týdnů), které jsou často používány při výzkumu EAE a astmatu. Taktéž jsou v posledních letech používány v naší laboratoři při výzkumu imunitní odpovědi v náhodném hostiteli po nákaze <i>T. regenti</i> nebo <i>T. szidati</i> .                                                                                                                                                                                                                             |       |        |      |     |

<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 savece“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech