

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Vliv stresu endoplazmatického retikula na imunitní stav nádorů a účinnost imunoterapie při léčbě myšího ovariálního a renálního karcinomu

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

60

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

renální karcinom, ovariální karcinom, zvířecí model, endoplazmatické retikulum, imunoterapie

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

Cílem projektu pokusů je ověřit *in vivo* s použitím myších syngeneických modelů renálního a ovariálního epiteliálního karcinomu, zda kombinace imunoterapie s modulací stresu endoplazmatického retikula pomocí kyseliny tauroursodeoxycholové vede k potlačení růstu nádoru.

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)

Výstupy projektu mají nezastupitelný význam při studiu mechanismů imunoterapie. Konkrétně budeme testovat, zda modulace stresu endoplazmatického retikula zvyšuje účinnost podávané imunoterapie.

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

Myším bude v celkové anestezii podkožně (popřípadě intraperitoneálně) aplikována suspenze nádorových buněk. Pro účely imunoterapie budou myši náhodně rozděleny do čtyř skupin, deset myší ve skupině, poměr pohlaví 1:1 (kontrolní skupina, skupina s modulací stresu endoplazmatického retikula, skupina s imunoterapií, skupina s kombinací imunoterapie a modulace stresu endoplazmatického retikula). První dávka bude myším injikována sedm dní po subkutánní mikroinjekci nádorových buněk, léčiva budou aplikována injekčně i.p.. Další dávky léčiv budou aplikovány v intervalech tři nebo čtyři dny (maximální počet dávek bude šest). Tři dny po podání poslední dávky léčiv budou myši uspány pomocí předávkování anestetikem (eutanazie). V průběhu pokusu bude myším orientačně měřen přírůstek nádoru v podkoží pomocí posuvného měřidla, bude denní bázi sledována váha zvířat, chování zvířat, jejich celkový zdravotní stav a schopnost příjmu vody a potravy. V Při závažném zhoršení stavu pokusných zvířat bude neprodleně přistoupeno k eutanazii.

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

V případě podkožní aplikace buněk mohou pokusná zvířata pocítit dlouhodobou mírnou bolest nebo dráždění v souvislosti se zvětšujícím se tumorem v podkožním prostoru. Pokus bude ukončen v takové fázi, aby bylo zabráněno zbytečnému utrpení zvířat. Bude pravidelně sledováno chování zvířat, jejich celkový zdravotní stav a schopnost příjmu vody a potravy. Při závažném zhoršení stavu pokusných zvířat bude neprodleně přistoupeno k eutanazii. V případě intraperitoneální xenotransplantace mohou pokusná zvířata pocítit dlouhodobou mírnou až střední bolest v souvislosti se zvětšujícím se tumorem/ascitem v oblasti peritonea. K intraperitoneální mikroinjekci buněk však bude přistoupeno pouze tehdy, pokud bude třeba ověřit výsledky studie se subkutánním modelem (například na vyžádání recenzenta). Pokus bude ukončen v takové fázi, aby bylo zabráněno zbytečnému utrpení zvířat. Na denní bázi bude sledována váha zvířat, chování zvířat, jejich celkový zdravotní stav a schopnost příjmu vody a potravy. Při závažném zhoršení stavu pokusných zvířat bude neprodleně přistoupeno k eutanazii.

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

Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	650		550	100	

Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
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>					
-					
Uplatňování 3R					
Nahrazení 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>					
Provedení pokusu na zvířatech je nezbytné, uvedený počet zvířat je minimální pro získání validních dat. Navazujeme na literární rešerši, a především na sérii experimentů s využitím buněčných kultur.					
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlíte, 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>					
Počet pokusných zvířat minimalizujeme před samotným provedením pokusů na zvířatech pečlivým testováním léčiv prostřednictvím <i>in vitro</i> testů na buněčných liniích. Vlastní experiment na zvířatech bude zachovávat pravidlo použití pouze minimálního možného počtu zvířat, který ještě umožní správné statistické vyhodnocení. Je možné zredukovat počet zvířat, neboť lze podkožně aplikovat buněčné linie současně na oba boky jedince. Na konci každého pokusu bude provedena pitva, jejíž součástí bude odběr a uchování nádorové tkáně, krve a dalších zkoumaných orgánů. Tyto vzorky poslouží pro další laboratorní analýzy. Vzorky budou odebrány v dostatečném množství, aby bylo dostatek materiálu na opakování laboratorních analýz a nemusel se opakovat pokus na zvířeti.					
Šetrné zacházení 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>					
Zvířata budou ustájena skupinově. Prostředí jejich ustájení je klidné a má stabilní podmínky (teplota, vlhkost vzduchu, osvětlení). Po transportu bude dodržena patřičná doba k adaptaci zvířat na nové prostředí (1 týden). Při podkožní injekci bude zajištěna celková anestezie, poté dostatečná doba rekonvalescence (2-3 dny). Pokus bude ukončen v takové fázi, aby bylo zabráněno zbytečnému utrpení zvířat. Bude pravidelně sledováno chování zvířat, jejich celkový zdravotní stav a schopnost příjmu vody a potravy. Při závažném zhoršení stavu pokusných zvířat bude neprodleně přistoupeno k eutanazii. Personál pracující se zvířaty je řádně proškolen, aby se zvířaty manipuloval klidně, tiše a tak, aby zamezil zbytečnému stresu.					
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
Myš laboratorní (<i>Mus musculus</i>), kmeny Balb/c a C57BL/6, dospělí jedinci.					

- 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