

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

### Název projektu pokusů

Úloha B lymfocytů v imunitě proti ortotopickým nádorům hlavy a krku

Doba trvání projektu pokusů - v měsících 12 měsíců

Klíčová slova - maximálně pět <sup>1)</sup> Nádory hlavy a krku, B lymfocyty, protinádorová imunita

### Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností

- |                                     |                                                                                                   |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <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                                                                                |
| <input type="checkbox"/>            | a běžná výroba                                                                                    |
| <input type="checkbox"/>            | jiné zkoušení účinnosti a tolerance                                                               |
| <input type="checkbox"/>            | 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 |

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

Ověření klíčové úlohy B lymfocytů v protinádorové imunitní odpovědi proti nádorům hlavy a krku

**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)**

Nejnovějším trendem v léčbě nádorů je v současnosti imunoterapie. Současné imunoterapeutické protokoly mají i při počáteční úspěšnosti obvykle pouze přechodné účinky. Zařazení B lymfocytů jakožto cíle nových imunoterapeutických postupů by mohlo vést k výraznému prodloužení doby účinnosti imunoterapie. Tento projekt si klade za cíl potvrdit roli B lymfocytů v přežívání k nádoru specifických T cytotoxických lymfocytů.

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

Intravenózní aplikace deplečních protilátek, intramuskulární injekční aplikace nádorových buněk do svaloviny jazyka (v celkové anestezii), intraperitoneální podání anestetika (ketamin-xylozin) a intraperitoneální aplikací luciferinu – trvání v řádech jednotek minut

Neinvazivní zobrazování bioluminiscence – trvání jednotky minut

Usmrcení zvířat cervikální dislokací.

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

Předpokládá se možnost zhoršení příjmu potravy (mechanická překážka v hrdle) – bude podáváno krmivo v gelové formě. Při zaznamenání neschopnosti přijímat potravu/vodu nebo trvající ztrátě hmotnosti budou zvířata vyřazena z experimentu a usmrcena cervikální dislokací.

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

| Druh zvířat <sup>2)</sup><br>- vyberte ze seznamu                   | Odhadovaný počet | Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti |       |         |         |
|---------------------------------------------------------------------|------------------|------------------------------------------|-------|---------|---------|
|                                                                     |                  | Nenabude vědomí                          | Mírná | Střední | Závažná |
| Myš laboratorní (Mus musculus)                                      | 60               |                                          |       | 60      |         |
| 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>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |   |
| Zvířata musí být utracena pro získání tkání.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |   |
| <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>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |   |
| Řídíme se pravidly stanovenými v Russell, W.M.S., Burch, R.L (1959). The Principles of Humane Experimental Technique. London UK: Methuen. 238pp.<br>V současné době neexistuje rovnocenný alternativní relevantní systém pro výzkum chování nádorů hlavy a krku v živém organismu, proto je nutno použít model laboratorní myši. (Ověřeno v seznamu validovaných alternativních metod ECVAM).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |   |
| <b>Omezení</b> 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 vzorků 3 pro každou ze 2 skupin představuje minimum pro statistické vyhodnocení. Každý vzorek bude získán ze 2 myši, pro předpokládanou malou velikost nádorů. Tři týdny po inokulaci nádoru bude kvůli možné větší variabilitě v pozdější fázi pokusu v každé skupině 4 myši.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |   |
| <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>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |   |
| Experimenty budou prováděny v Centru pokročilého preklinického zobrazování 1. LF UK v souladu se zákonem. Myši budou ponechány k adaptaci na nové prostředí a přivykány na manipulaci. Během experimentu bude sledován zdravotní stav zvířat - v případě neuspokojivého zdravotního stavu zvířete bude pokus ukončen. V případě projevů bolesti bude pokus ukončen. Při posuzování stavu zvířat vycházíme z konkrétní literatury.<br>Např. Stokes, W.S. (2000). Reducing Unrelieved Pain and Distress in Laboratory Animals Using Humane Endpoints. ILAR J 41, 59-61<br>Carstens, E., Moberg, G.P. (2000). Recognizing pain and distress in laboratory animals. ILAR J 41:69-71.<br>Wiepkema P.R, Koolhaas, J.M. (1993). Stress and Animal Welfare. Animal Welfare 2, 195-218.<br>National Research Council. Pain and Distress in Laboratory Animals. Washington DC. National Academy Press, 1992.<br>National Research Council (NRC) (1996). Recognition and Alleviation of Pain and Distress in Laboratory Animals. National Academy Press, Washington D.C |   |
| <b>Použití druhů zvířat</b> - <i>vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |   |
| V pokusu bude využito maximálně 60ks dospělých samic laboratorní myši linie C3H, ve věku 5-10 týdnů.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |   |

- <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