

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 53/2020

upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Imunologická, mikroskopická a molekulární studie strukturálních změn v zánětlivém a nádorovém mikroprostředí u konvenčních vs. bezmikrobních (GF) myších modelů a studie strukturálních a imunologických změn ve střevě u bezmikrobních myší v průběhu konvencionalizace.

Doba trvání projektu pokusů - v měsících 2020-2023

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾ Myš, nádor, zánět, mikroprostředí, imunomodulace

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 je studium imunologických a strukturálních změn vedoucích k rozvoji patologického zánětu a rakoviny v různých mikroprostředích. Budeme studovat strukturu stromatu nádoru ve vztahu k imunitním buňkám a imunologickému mikroprostředí v tlustém střevě během zánětu a / nebo rakoviny. Přínosem výzkumného projektu je získání nových poznatků klíčových jak pro pochopení biologie těchto závažných onemocnění tak pro vývoj nových diagnostických postupů.

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)

Očekáváme rozšíření znalostí o časných procesech, které podporují vývoj zánětu, a jejich roli v utváření nádoru a následně v identifikaci nových terapeutických cílů, které mohou být přínosem pro plánování léčby pacientů a jejich kvalitu života. Dále očekáváme prohloubení znalostí týkajících se strukturálních a imunologických změn v rané fázi konvencionalizace bezmikrobních zvířat, což může vést k lepšímu pochopení vlivu mikrobiomu na regulační funkci imunitního systému ve střevě i na systémové úrovni.

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

Jednorázový odběr krve ze srdce v celkové anestezii na konci experimentu, po kterém již zvíře dále nenabude vědomí; jednorázová (kombinovaný model) nebo opakovaná podkožní injekce AOM (model AOM, 5x s.c. injekce, 1x týdně), pití 3% DSS v pitné vodě ve 3 cyklech po 7-10 dnech následovaných 7-10 denní pauzou.

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

Nežádoucí účinky - indukce nádoru a/nebo zánětu po dobu trvání pokusu. Navrhovaná míra závažnosti - střední. kafilerní box FgÚ AV ČR (Praha), odvoz Asanace spol. s.r.o., pracoviště Žichlínek (Nový Hrádek).

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)	150	x			
Myš laboratorní (Mus musculus)	850			x	
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 – uveďte	
Všechna zvířata budou po ukončení experimentů usmrcena (eutazie isofluran, ketamine/xylozine, cervikální dislokace), a jejich orgány odebrány pro další analýzu, případně dále sdíleny. Navržení předkládaného projektu pokusu neumožňuje opakované použití zvířat, jejich návrat do přírody, či umístění do zájmového chovu.	
Uplatňování 3R	
Nahrazení používání zvířat - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu	
Alternativní metody (jako studie in vitro na buněčných liniích, 3D buněčné kultury) dostatečně nevystihují komplexitu imunitní zánětlivé odpovědi a vývoje nádorového mikroprostředí a proto nemohou nahradit navrhované pokusy. Některé dílčí experimenty (např. stimulace splenocytů působením DSS a/nebo AOM) budou nahrazeny experimenty in vitro, což nám umožní snížit spotřebu zvířat.	
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).	
Experimentům bude předcházet důkladné studium již publikovaných vědeckých výsledků, aby se předešlo opakování experimentů a nadměrné spotřebě zvířat. Zvířata budou používána v minimálních počtech, které umožní statistické vyhodnocení rozdílů mezi jednotlivými skupinami a pokud to bude možné, vzorky budou sdíleny. Analýzou většího počtu parametrů najednou (použitím moderních, citlivých metod) docílíme další redukce potřebného počtu zvířat.	
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	
Veškerá manipulace se zvířaty bude co nejohleduplnější a co nejméně narušující přirozené potřeby zvířat. Zvířata budou pravidelně kontrolována zkušenými experimentátory i personálem zvěřince a budou držena ve skupinách. Pro snížení případného diskomfortu experimentálních zvířat bude použita anestezie. V případě zhoršení zdravotního stavu v důsledku aplikace léčiv budou zvířata utracena.	
Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií	
Studie bude prováděna na BALB/c a C57BL/6 myších. Vybrané kmeny zvířat jsou vhodné pro studium experimentálních zánětů a nádorů a imunitní odpovědi proti nim. Zmiňované experimentální modely jsou běžně používány k dosažení cílů projektu a naše skupina má s jejich použitím dlouhodobé zkušenosti.	

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