

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 80/2018

Název projektu pokusů

Analýza imunomodulačních účinků látky MitoTam a predikce účinnosti kombinované chemoimunoterapie nádorů.

Doba trvání projektu pokusů Do 31. 12. 2020

Klíčová slova - *maximálně 5* Chemoterapie nádorů, imunoterapie nádorů, protinádorová imunita

Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka

☒	základní výzkum
☐	translační nebo aplikovaný výzkum
☐	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
☐	zachování druhů
☐	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení

Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

MitoTam, mitochondriálně cílený derivát Tamoxifenu, je nové nízkomolekulární onkologické léčivo, jehož účinnost byla prokázána v preklinických experimentech a v současnosti je klinicky testováno. Jeho interakce s imunitním systémem a role imunitního systému v terapeutickém efektu však dosud nejsou plně objasněny. Cílem experimentů je objasnit, jakou roli hraje imunitní systém v terapii Mitotamem, konkrétně, zda jeho aplikace indukuje či naopak potlačuje imunitní odpověď. Dalším hlavním cílem je ověřit účinnost kombinované chemoimunoterapie, kdy je MitoTam podán společně s terapeutickou dávkou cytokinů nebo s agens potlačující imunosupresi.

Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)

Tyto preklinické experimenty přinesou důležité poznatky pro optimalizaci dalšího klinického testování protinádorových účinků MitoTamu.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

K experimentům budou použity imbreďní C57BL/6 myši, jimž budou transplantovány syngenní nádorové buňky (rostoucí nebo prošlé imunogenní buněčnou smrtí). Syngenní vztah mezi hostitelem a nádorovou buňkou umožní sledovat parametry nádorového růstu a účinnost experimentální imunizace či imunoterapie za geneticky a imunologicky definovaných podmínek. Budou použiti samci myšního kmene C57Bl/6, ve stáří 2-4 měsíců, případně 12 měsíců, celkem je plánováno cca 200 kusů na rok.

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Očekávané nežádoucí účinky aplikace buněk jsou mírné až střední. Dávky všech používaných agens a jejich toxicita byly již testovány v našich předešlých experimentech. Míra závažnosti je vzhledem k testování růstu nádorů střední, jako závažná je považována možnost buněčné linie B16 tvořit metastázy, i když v našich podmínkách jejich tvorbu obvykle nepozorujeme. Zbytečnému utrpení zvířat bude zabráněno častou kontrolou a anestezií při odběru krve. Po skončení pokusu budou zvířata usmrcena cervikální dislokací nebo CO₂. Likvidace kadáverů bude provedena asanační službou, se kterou má pracoviště smlouvu.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Alternativní metody nemohou nahradit navrhované pokusy, protože *in vitro* techniky nemohou postihnout komplexní *in vivo* odpověď – účinnost protinádorové terapie, změny v mikroprostředí nádoru, kinetiku tvorby a účinku cytotoxických lymfocytů ve slezinách experimentálních zvířat, hladinu cytokinů apod.

Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

Počet zvířat bude omezen čerpáním informací z literatury, provedením experimentů *in vitro* na tkáňových kulturách a bude minimalizován pro možnost statistického vyhodnocení experimentu. V průběhu pokusů bude sledováno co nejvíce parametrů zároveň. Uvedený počet zvířat je maximální a lze předpokládat menší množství použitých zvířat.

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.

Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.

Laboratorní kmeny myši jsou nejběžnějším druhem savců pro testování látek s potenciálním terapeutickým účinkem. K experimentům budou používány samci myšního kmene C57Bl/6, ve stáří 2-4 měsíců, kterým budou podkožně transplantovány syngenní nádory, což je standardní postup pro *in vivo* testování protinádorové imunity a také experimentální protinádorové terapie. Syngenní vztah mezi hostitelem a nádorovou buňkou umožňuje sledovat parametry imunitního systému, nádorového růstu a účinnost terapie za geneticky definovaných podmínek. Počty zvířat v jednotlivých skupinách se řídí minimálními požadavky na statistickou průkaznost *in vivo* výsledků, tj. 6-8 zvířat ve skupině, u následných *in vitro* analýz 3-4 zvířata ve skupině.