

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Radiobiologické studie na experimentálních modelech

Doba trvání projektu pokusů v měsících	24	
Klíčová slova	Radioprotekce	
Léčba nemoci z ozáření	Experimentální zvířata	
0	0	

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Multisystémové [PB11]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Cílem projektu je sledovat radioprotektivní efekt vybraných radioprotektivních látek (malých molekulárních inhibitorů, nízkomolekulárních peptidů a nanopartikulí kyseliny hyaluronové) po ozáření experimentálních zvířat (malých hlodavců a prasat).

Potenciální přínosy projektu pokusů

Experimentální léčba akutní nemoci z ozáření. Sledování biologických účinků vybraných mitigátorů před a po ozáření malých molekulárních inhibitorů, nízkomolekulárních peptidů a nanopartikulí kyseliny hyaluronové) po ozáření experimentálních zvířat (malých hlodavců a prasat) má potencionální význam při vytváření nových terapeutických postupů pro pacienty, kteří byli vystaveni dávce ionizujícího záření.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Zvířata (myši Balb/c a C57Bl/6) budou ozářena dávkou 1-17 Gy (gama záření, interval 0,1Gy). 30 dní nebo do 30 minut před ozářením; nebo do dvou hodin po ozáření jim budou aplikovány buď/nebo intraperitoneálně/intratracheálně radioprotektiva (malé molekulární inhibitory; nízkomolekulární peptidy - Juvenil, nanopartikule kyseliny hyaluronové). Poté bude monitorováno přežívání po dobu 30 dní a za 4, 7, 10, 12, 14, 21, 26, 30, 60, 105, 150, 190 dní bude sledována hematopoetická a imunologická odpověď v periferní krvi a v hematopoetických orgánech metodou průtokové cytometrie a celkový krevní obraz hemoanalyzerem. Vzorky tkání budou zpracovány v histologické laboratoři. Experimentální zvířata budou v uvedených intervalech usmrcena a bude jim odebírána periferní krev a hematopoetické orgány. Délka experimentu bude maximálně 190 dní. V případě excelentních výsledků z experimentů s radioprotektivními látkami na myších, dojde k výběru nejúčinnějších kandidátů z řad malých molekulárních inhibitorů/amifostinu nebo nanočástic pro pokračování experimentů na velkém savčím modelu miniaturního prasete. Prasata budou ozářována dávkami 0-10 Gy a bude jim aplikován vybraná radioprotektivní látka v koncentraci mg/kg nebo nanočástice. Poté bude monitorováno přežívání po dobu 30 dní a každý třetí den po dobu 30 dní bude sledována hematopoetická a imunologická odpověď

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata, a doba trvání těchto účinků

Nebudou. Nežádoucí účinky u zvířat nejsou očekávány. Navrhovaná klasifikace závažnosti pokusů je střední. Po skončení pokusu budou zvířata usmrcena a kadávery budou smluvně odvezeny ke kafilernímu zpracování dle technologických postupů platných na FVZ.

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

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
	Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
myš laboratorní (Mus musculus) [A1]	0	0	4640	0

prasata (Sus scrofa domesticus) [A14]	0	0	100	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi				
Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat			
	Opětovné použití	Navrácení do chovu, do přírodního stanoviště	Do zájmového chovu	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty				
Malá laboratorní zvířata (myši C57Bl/6 a Balb/c) budou přivedena do narkózy v parách Isofluranu. Eutanázie bude provedena dislokací krční páteře a pak intracardiálním vykrvením. Velká laboratorní zvířata (miniaturní prasata) budou uvedena do narkózy pomocí Zoletilu 100 + Xylapanu (20mg/ml) + Narketanu (100mg/ml), bezexcitační eutanázie bude provedena injekčním roztokem T 61 i. v. (Intervet). Po usmrcení bude kadavér smluvně odvezen ke kafilernímu zpracování dle technologických postupů platných v FVZ.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Navrhované schéma experimentu nelze nahradit buněčným nebo jiným in vitro modelem, neboť je nutno sledovat odpověď na celoorganismové úrovni. Není možné použít alternativní metody z důvodu stanovení účinků látek, které zmírňují nebo eliminují účinky ionizujícího záření a tím zabraňují rozvoji akutní nemoci z ozáření (ANO).				
Omezení používání zvířat				
Bude použito minimální nezbytné množství zvířat. Počet zvířat na každou skupinu je daný, aby mohl být experiment statisticky vyhodnotitelný a odebraný biologický materiál byl dostačující na všechny laboratorní testy, a aby nemusel být pokus znovu opakován.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Po dobu celého experimentu bude zvíře v celkové anestezii, ke zvířeti bude přistupováno klidně. Zvířata nebudou opakovaně použita. Veškeré odběry biologického materiálu u malých hlodavců budou prováděny po eutanazii zvířete. Odběry periferní krve u prasete budou prováděna při hřbetní fixaci bez anestezie.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

K experimentu jsme zvolili inbrední myši linie C57Bl/6 nebo Balb/c, protože se jedná o dobrý pokusný model pro studie radioprotektiv, citlivosti hematopoetického systému po aplikaci ionizujícího gama záření v České republice i v zahraničí. Excelentní výsledky z experimentů na malých savčích modelech jsou ověřovány na velkém savčím modelu (miniaturní prase), který je dostupný experimentální model, velmi dobře charakterizovaný, blízký člověku, vhodný pro snadnou manipulaci a možnost opakovaných odběrů.