

NETECHNICKÉ SHRNU TÍ PROJEKTU POKUSŮ	
Název projektu pokusů	
Experimentální farmakologická terapie karcinomu prsu pomocí inhibitorů IL6, IL8, MFG-E8 a VEGF-A na myším modelu	
Doba trvání projektu pokusů	1.3.2024
Klíčová slova - maximálně 5	neutralizační protilátky; biologická léčba; karcinom prsu; cílená terapie
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)	
V našich předchozích in vitro experimentech jsme identifikovali několik genů odpovědných (zejména: IL6, IL8, MFG-E8, VEGF-A) za interakci fibroblastů s nádorovými buňkami v triple positive (ER+, PR+, HER2+) invazivním duktálním karcinomu prsu. Cílem projektu je ověřit synergismus protinádorového účinku aplikovaných protilátek/léčiv.	
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)	
Ukázalo se, že monoterapie solidních tumorů často nevede k požadované odpovědi. Experiment má prokázat synergistický účinek blokace až 4 faktorů odpovědných za vytváření nádorového mikroprostředí karcinomu prsu. Výsledky přispějí ke zdůvodnění designu možné klinické studie.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Pro studium aktivity lidských buněk je nevyhnutné použít imunodeficientní zvířata. Pro tyto experimenty jsou vhodné zejména NU/NU (postrádá tymus a T-lymfocyty) a SCID (bez T a B lymfocytů) myši. Pro celý navrhovaný experiment plánujeme použít max. 90 NuNu a 90 SCID dospělých samic myši starých 8-10 týdnů. Tyto experimenty nelze nahradit studiemi na buněčných kulturách a ani na počítačovém modelu, neboť na rozdíl od experimentů realizovaných na pokusném zvířeti neumožňují pozorování živého organismu v celém komplexu buněčných interakcí a fyziologických a patologických reakcí. V in vitro podmínkách by nebylo možné studovat zejména růst a šíření nádorové masy a odezvu na biologickou léčbu pomocí blokačních protilátek.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Podkožní aplikace EM-G3 nádorových buněk je spojena s růstem solidního tumoru pod kůží v místě aplikace. Experiment bude ukončen, kdy maximální rozměr tumoru bude 2cm. Růst tumoru do 2 cm není spojen s bolestí, dyskomfortem, či hubnutím experimentálních zvířat. Aplikace všech testovaných protilátek je plánovaná v netoxických dávkách intraperitoneálně 3-krát za týden. T těchto důvodů nebude v experimentu použita anestézie ani analgezie. Po ukončení experimentu budou zvířata usmrcena cervikální dislokací. Navrhovaná míra závažnosti je střední (2).	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Proces růstu nádorů je komplikovaný a komplexní proces, který dosud podle dostupné literatury nebyl plně nahrazen neanimálním modelem, kromě klinických studií fáze I – II. Tuto skutečnost jsme ověřili také v databázi validovaných alternativních metod schválených a přijatých Evropskou společností pro alternativní metody (European Center for the Validation of Alternative Methods – ECVAM).	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Minimální množství zvířat nacházejících se v jednom souboru je vzhledem k eliminaci rozptylu výsledků na základě individuálních rozdílů mezi jedinci (statistická kalkulace pomocí χ^2 testu predikuje, že při použití 10 zvířat na skupinu bude dosaženo statistické významnosti $p < 0.01$ při dosažení rozdílů $> 60\%$ ve vypočítaných objemech tumorů mezi léčenými skupinami a kontrolou) určen na 10. Nejvýznamnější výhodou použití imunodeficientních myši je možnost sledování lidských buněk na standardním modelu. Nádory a vybrané orgány z experimentálních myši budou zamrazeny na -80°C za účelem dalšího využití pro další výzkum, aby se nemusel samotný animální pokus opakovat.	
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.	
Experimenty budou probíhat v akreditovaném zvěřinci. Prostory zajišťují standardní a předepsaný komfort pro krátkodobé i dlouhodobé umístění: odhlučněné místnosti, řízená ventilace, sterilní prostředí, konstantní teplota ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) a relativní vlhkost (60%), zajištění střídání biorytmu den/noc (až 12 hod). Tito optimální podmínky a péče proškoleného personálu (osvědčení podle §15d odst. 3 nebo §15e odst. 1 zákona č. 246/1992 Sb.) zajišťují pravidelné doplnění potravy a tekutin, pravidelnou výměnu podestýlky a vlastní "handling" jsou pak nezbytným předpokladem minimalizace stresu. V případě neuspokojivého zdravotního stavu zvířete bude pokus ukončen a myš usmrcena.	