

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Nanoterapeutika dopravující proteázový inhibitor a cytostatika pro pokročilou léčebnou strategii chemorefrakterních nádorů hlavy a krku

Doba trvání projektu pokusů v měsících	48
Klíčová slova	Nádory hlavy a krku
Polymerní nosič	Doprava léčiv
Proteázový inhibitor	Synergismus

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Onkologie [PB1]

Translační a aplikovaný výzkum: Rakovina u lidí [PT21]

0

0

Cíle projektu pokusů

Hlavní cíl tohoto projektu je prověřit potenciál nových nanoterapeutik nesoucích kombinaci derivátu proteázového inhibitoru a konvenčního cytostatika pro pokročilou léčbu lidských nádorů hlavy a krku (HNT). Látky s protinádorovou aktivitou budou kovalentně navázány k vodorozpustným, dlouhocirkulujícím, biokompatibilním a biodegradovatelným diblokovým a/nebo tří, či čtyřramenným hvězdicovým polymerním nosičům tvořených lineárními kopolymery spojenými pomocí biodegradovatelných spojek. Takovéto polymerního nosiče zajistí zvýšenou akumulaci v HNT díky tzv. „Enhanced permeability and retention“ efektu. Biodegradovatelné spojky pak umožní degradaci polymerního nosiče na jednotlivé polymerní řetězce a eliminaci z organismu pomocí renální filtrace. Vybrané proteázové inhibitory nelfinavir, saquinavir a atazanavir budou derivovány pomocí různých oxokarboxylových kyselin s cílem umožnit jejich navázání na polymerní nosič pomocí hydrazonové vazby. Jejich cytostatická a cytotoxická aktivita bude testována jak samostatně, tak v kombinaci s docetaxelem, doxorubicinem a cis-platinou in vitro. Nejúčinnější deriváty proteázových inhibitorů budou kovalentně navázány k polymernímu nosiči spolu s vybraným konvenčním cytostatikem. Určíme rychlost jejich uvolňování z polymerního nosiče a kinetiku degradace polymerního nosiče.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Výsledky projektu mohou přispět ke zdokonalení léčby zhoubných nádorů.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Intraperitoneální podání nově syntetizovaných léčiv a určení jejich maximální tolerované dávky v myším organismu. Subkutánní podání nádorových buněk buď v podobě transplantátů od lidských pacientů, nebo v podobě suspenze nádorové buněčné linie myšího či lidského původu. Léčba syntetizovanými léčivy a sledování jejich protinádorového potenciálu.

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

Zvířata mohou pocítit déletrvající mírnou bolest, změnu váhy a diskomfort způsobené indukci a růstem nádoru nebo aplikací léčiv (chemoterapie, imunoterapie) - míra závažnosti střední. Eutanázie, předání kadaverů do kafilního boxu a jejich odvoz asanačním ústavem.

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	2800	0

0	0	0	0	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

Po ukončení experimentů budou zvířata, která neuhynula v důsledku toxicity či růstu nádoru, usmrcena cervikální dislokací, jelikož jejich další výzkumné využití není možné.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat

Alternativní metody nám neumožňují sledovat vliv léčby na nádor a imunitní reakce hostitele proti nádoru, růst nádoru a změny jeho mikroprostředí, interakci nádoru a imunitního systému hostitele. Některé dílčí experimenty na zvířatech (např. stanovení protinádorového efektu polymerních cytostatických/cytotoxických léčiv na nádorové buňky nebo vliv na jednotlivé populace buněk v imunitním systému) budou nahrazeny experimenty in vitro, což umožní snížit potřebu pokusných zvířat.

Omezení používání zvířat

Experimentům bude předcházet důkladné studium již publikovaných vědeckých výsledků, aby se předešlo opakováním experimentů a nadměrné spotřebě zvířat. Zvířata budou používána v minimálních počtech, které umožní statistické vyhodnocení rozdílů mezi skupinami. Pokud to bude možné, tak budou sdíleny vzorky získané v experimentech. Analýzou většího počtu parametrů najednou (použití moderních, citlivých metod) docílíme další redukce potřebného počtu zvířat.

Šetrné zacházení se zvířaty

Veškerá manipulace se zvířaty bude co nejohleduplnější a co nejméně narušující přirozené potřeby zvířat. Zvířata budou pravidelně kontrolována zkušenými experimentátory, budou držena ve skupinách a v případě zásadního zhoršení zdravotního stavu v důsledku aplikace léčiva budou utracena.

Použité druhy zvířat - vysvětlení

Myši inbrední kmeny BALB/c, C57BL/6 a kongenní kmen B6 SJL, dále C3H/HeN nebo DBA/2 jsou vhodnými modely pro studium modulace imunitního systému a protinádorové terapie. Myši imunodeficitní (např. athymické nu/nu myši či NSG myši) nebo geneticky modifikované (např. RAG -/- myši) jsou vhodné pro výzkum nádorových xenograftů. Transgenní myši OT-I a OT-II mají na svých T buňkách uniformní receptor rozpoznávající definovaný antigenní peptid odvozený z kuřecího ovalbuminu; mohou být využity pro studium specifické imunitní odpovědi proti nádoru a její indukce/ovlivnění (lze využít nádorové buňky EL4 nebo B16-F10, které nesou daný antigenní epitop). Stáří myši na počátku pokusu bude od 8 do 16 týdnů.