Vyplňujte jen bílé kolonky!
Formulář vyplňujte na počítači; kolonky se zvětší automaticky podle množství textu.

NETECHNICKÉ SHRNUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Experimentální studium mutageneze v onkogenech spojených s rezistencí BCR-ABL1-pozitivních leukémií k léčbě inhibitory tyrozinových kináz na myších modelech

Doba trvání projektu pokusů - *v měsících*	38 měsíců
Klíčová slova - *maximálně pět* [1])	Leukémie, BCR-ABL1, tyrozin-kinázové inhibitory, somatické mutace

Účel projektu pokusů - *zaškrtněte políčko; možno i více možností*

☐	základní výzkum	
☒	translační a aplikovaný výzkum	
☐	legislativní účely a běžná výroba	kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)
☐		jiné zkoušení účinnosti a tolerance
☐		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 pokusů je s využitím vhodných myších modelů objasnit rozvoj rezistence BCR-ABL1-pozitivních leukémií na léčbu inhibitory tyrozinových kináz (TKI) včetně určení vlivu specifických mutací na vývoj tumoru a jeho klonální evoluci. Projekt pomůže zásadně rozšířit poznatky získané ze studií na mutovaných buněčných liniích in vitro, kdy specifické parametry in vivo sytému (vztahy s mikroprostředím, hypoxie, metabolické změny, farmakokinetika) umožní získat informace s větší relevancí pro nastavení optimální léčby leukemických pacientů. Myši s xenotransplantovanými leukemickými buňkami rezistentními na tyrozin-kinázové inhibitory budou rovněž vystaveny experimentální léčbě s cílem eliminovat vyvinuté rezistentní leukemické buňky nesoucí mutace, nebo zabránit jejich vzniku a subklonální expanzi. Získané poznatky mohou mít významné klinické uplatnění v prevenci či léčbě primární a získané rezistence u BCR-ABL1-pozitivních leukémií.

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)*

Preklinický výzkum nových léčebných postupů zaměřených na eradikaci leukemických buněk rezistentních na tyrozin-kinázové inhibitory

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

Jednorázová podkožní aplikace leukemických buněk. Léčba myší s etablovanými tumory: 2–3 týdny. Léčebné postupy navržené na základě in vitro dat: imatinib (100 mg/kg 1-2 x denně orálně sondou), venetoclax (100 mg/kg 1x denně orálně sondou), S63845 (25 mg/kg intraperitoneálně), palbociclib (80 mg/kg denně orálně sondou), copanlisib (10 mg/kg intravenózně či intraperitoneálně den 1 a den 2), duvelisib (50 mg/kg 2x denně orálně sondou), capivasertib (50mg/kg 1 x denně orálně sondou). Odběr krve z orbitálního sinu v inhalační anestezii max. 1x za 2 týdny. Chirurgické zákroky nejsou plánovány.

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

Podkožní aplikace leukemických buněk je spojena s růstem podkožního tumoru. Vzhledem k tomu, že experiment bude ukončen v okamžiku, kdy maximální rozměr tumoru přesáhne 2 cm, není růst takto malého tumoru v podkoží spojen s bolestí, dyskomfortem či hubnutím experimentálních zvířat. Celkový zdravotní stav myší bude sledován a v případě, že dojde k hubnutí (>20 %) a/nebo alternaci celkového stavu, budou zvířata usmrcena cervikální dislokací. Aplikace všech plánovaných léčiv je v uvedených dávkách netoxická. Odběr krve z orbitálního sinu bude probíhat při znecitlivění myší v šetrné inhalační anestezii. Samotný zákrok nemá na kvalitu života myší žádný negativní dopad. Navrhovaná míra závažnosti je tudíž 2 (střední).

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

Druh zvířat [2]) *- vyberte ze seznamu*	Odhado-vaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	750			750	
Zvolte položku.					
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 navrácena 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 na konci experimentu utracena.

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*

Pro plánované experimenty byl vybrán model imunodeficientní laboratorní myši, která umožňuje přihojení, růst a následnou léčbu lidských leukemických buněk. V současné době neexistuje jiná metoda, která by umožnila studium rozvoje mutací v BCR-ABL1 a klonální evoluci rezistentních klonů *in vivo* a testování účinnosti nových protinádorových léčiv proti resistentním BCR-ABL1-pozitivním buňkám před tím, než budou testována v rámci klinických studií na pacientech. In vivo modely zahrnují řadu klíčových parametrů (vztahy s mikroprostředím, hypoxie, metabolické změny, farmakokinetika), které v *in vitro* systémech nelze testovat vůbec, nebo jen v omezené míře.

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).*

Experimenty jsou plánovány tak, aby byl zajištěn minimální počet zvířat pro získání relevantních údajů o rozvoji mutací spojených s rezistencí BCR-ABL1-pozitivních leukémií na léčbu TKI *in vivo* a o možnostech protinádorového účinku experimentálních léčebných látek (v kombinaci s TKI) u těchto onemocnění.

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*

Zdravotní stav zvířat a jejich reakce na podané léčivo bude sledována v průběhu experimentu od okamžiku aplikace až do ukončení experimentu. V případě pozorování negativních změn u laboratorního zvířete bude pokus ukončen a zvíře usmrceno.

Použité druhy zvířat - *vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií*

Tento typ studie není možné realizovat jinak než s použitím laboratorních zvířat – v současné době není k dispozici žádný alternativní systém či model, kterým by bylo možné laboratorní zvíře nahradit. Imunodeficientní NSG (*NOD-SCID-gamma*), NSG-SGM3 (s transgenní expresí lidských cytokinů IL3, GM-CSF a SCF) a NOD-RAG myši jsou deficientní v T i v B buněčné imunitě a navíc vykazují poruchy nespecifické imunity, což umožňuje přihojení (xenotransplantaci) nádorových buněk v myším organismu. Pro tento projekt předpokládáme spotřebu max. 750 myší (samic na pokusy).

[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