

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Test tumorigenicity a analýza účinku vybraných protinádorových látek na myším modelu

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

60

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

Solidní nádory, test tumorigenicity, protinádorová terapie, NOD/SCID gamma

Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností

☐ základní výzkum

☒ translační a aplikovaný výzkum

☐ kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)

☐ legislativní účely jiné zkoušení účinnosti a tolerance

☐ a běžná výroba 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 je pomocí testu tumorigenicity identifikovat tumorigenní buněčné linie derivované z nádorové tkáně pacientů a následně pomocí těchto linií ustanovit xenograftové modely různých druhů solidních nádorů in vivo. Na xenograftových modelech nádorů budou následně testovány nízkomolekulární inhibitory proteinových kináz, reaktivátory proteinů rodiny p53, vybrané látky přímo ovlivňující specifické mitochondriální funkce, či jejich kombinace se standardními chemoterapeutiky za účelem popsání jejich protinádorového efektu.

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)

Přínosem projektu bude analýza protinádorového účinku použitých reaktivátorů proteinů rodiny p53, dále vybraných látek přímo ovlivňující specifické mitochondriální funkce a jejich kombinací se standardními chemoterapeutiky na xenograftových modelech solidních nádorů. Dalším přínosem projektu bude zavedení metody detekce fosforylace kináz ve vzorku nádorové tkáně jako vhodného nástroje pro výběr nízkomolekulárních inhibitorů kináz, které budou následně aplikovány jakožto prostředek cílené protinádorové léčby.

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

Všem experimentálním zvířatům bude injekčně aplikována suspenze nádorových buněk. V závislosti na typu experimentu budou některým skupinám zvířat podávány protinádorové látky orální gaváží nebo subkutánně či intraperitoneálně v závislosti na typu použité látky.

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

Krátkodobým nepříznivým účinkem může být způsobení bolesti při injekční aplikaci nádorových buněk. V případě rozšíření nádoru do různých orgánů těla, mohou být omezeny některé fyziologické funkce pokusného zvířete, což může v důsledku vést ke ztrátě hmotnosti či omezení hybnosti.

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

Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	500			500	
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 navracena do přírodního stanoviště či systému chovu	0
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu	0
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - <i>uved'te</i>	
Veškerá zvířata budou po ukončení pokusu usmrcena.	
Uplatňování 3R	
Nahrazení používání zvířat - <i>uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>	
Podstatou projektu pokusů je test tumorigenicity buněk nádorových linií izolovaných z lidských solidních nádorů, který se standardně provádí <i>in vivo</i> na imunodeficientních modelech. Z tohoto důvodu nelze test tumorigenicity <i>in vivo</i> nahradit jiným testem v podmínkách <i>in vitro</i> . Stejně tak účinky následné aplikace protinádorových látek je nutné analyzovat v podmínkách <i>in vivo</i> , neboť sledujeme nejen vliv na vlastní nádor, ale i patofyziologickou odpověď celého organismu.	
Omezení používání zvířat - <i>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).</i>	
V každé pokusné skupině bude použit pouze nezbytný počet zvířat nutných ke správnému statistickému vyhodnocení. Navržené počty jsou v souladu s publikovanými studiemi (např: Babar IA, et al., PNAS, 2012, 109:E1695-704; Petrovic K, et al., PLoS One, 2019, 14:e0224015; Lelliott EJ, et al., Sci Rep, 2019, 9:1225) a dle předchozích výsledků (Skoda J, et al., Tumour Biol, 2016, 37:9535-48; nepublikovaná data) jsou dostatečné pro statistické zhodnocení velikosti tumorů mezi jednotlivými skupinami na hladině významnosti 0,05 při 90% síle testu.	
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uved'te 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</i>	
Se zvířaty bude zacházeno tak, aby se minimalizovala míra utrpení. Především bude kladen důraz na dostatečnou adaptaci pokusných zvířat v klecích určených pro experimenty, dále na klidné zacházení a tichý přístup do místnosti se zvířaty, stejně jako na používání pomůcek, které nepůsobí zvířeti strach. V případě identifikace jakéhokoli typu utrpení (např. poranění jiným zvířetem) bude takový jedinec bezodkladně utracen.	
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>	
Celý pokus bude probíhat pouze na myších imunodeficientního kmene. Jedná se o standardně používaný model pro testy tumorigenicity a následné testování vlivu protinádorových látek.	

- 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