

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Studium vývoje, progresu a terapie B-buněčných malignit na myším modelu obsahujícím lidské mikroprostředí – II

Doba trvání projektu pokusů v měsících

60

Klíčová slova

leukémie

lymfom

mikroprostředí

PDX model

ibrutinib

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Onkologie [PB1]

Translační a aplikovaný výzkum: Rakovina u lidí [PT21]

0

0

Cíle projektu pokusů

Cílem projektu je optimalizace nového myšího modelu indolentních B-buněčných nádorových onemocnění (chronická lymfatická leukémie, folikulární lymfom) s využitím biomateriálů a podpůrných buněk, které budou společně napodobovat vlastnosti skutečného nádorového mikroprostředí, které se vyskytuje v lidském těle. Model bude využíván k velmi detailnímu studiu chování nádorových B-lymfocytů a bude sloužit pro testování nové kombinatorní léčby cílící na interakci těchto buněk v mikroprostředí. Testovány budou kombinace klinicky ověřených látek využívaných při léčbě leukémií a lymfomů s novým potenciálním terapeutikem, jehož účinnost byla již potvrzena v in vitro experimentech.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Dle našich poznatků v současnosti neexistuje podobný xenotransplantační model, který by umožnil stabilní uchycení primárních buněk chronické lymfatické leukémie nebo folikulárního lymfomu a studium jejich in vivo interakce s lidským nádorovým mikroprostředím. Tento projekt může v dlouhodobém hledisku významně přispět k pochopení biologie a možností léčby tohoto typu nádorových onemocnění.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Zvířatům budou v celkové anestezii (trvání do 45 minut) aplikovány matrice porostlé buňkami, které budou napodobovat mikroprostředí vyskytující se v lidských mízních uzlinách. Následně budou myším injikovány lidské leukemické nebo lymfomové buňky a bude sledováno jejich uchycení a efekt testované terapie. Sledování progresu onemocnění bude prováděno prostřednictvím odběru malého množství krve (do 50 µl) z ocasní žíly, nejvýše jednou týdně. Testovaná terapie bude podávána dle druhu léčiva podkožní nebo nitrožilní injekcí nebo perorálně sondou jednou denně po dobu nejvýše tří týdnů.

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

Míra závažnosti pokusů je střední. U myši se mohou projevit příznaky související s vývojem nádorového onemocnění (neprosívání, hubnutí) nebo způsobené vedlejšími efekty podávaných léčiv. Tyto jevy však nemohou být zjištěny jinak než pozorováním živých zvířat. Myši pocítí bolest při injekční aplikaci anestetik, při injekční aplikaci buněk a při odběrech periferní krve, které budou prováděny maximálně šetrně. Po skončení experimentu (v případě, že se u zvířat projeví závažné příznaky onemocnění) budou zvířata utracena zlomením vazů a bude provedena analýza krve a histologické vyšetření orgánů. Kadávery budou předány na likvidaci specializovanou firmou.

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	600	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				
Pro vyhodnocení je nezbytné usmrcení zvířat na konci experimentu. Tkáně a orgány všech zařazených zvířat budou podrobeny molekulární a histologické analýze.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Využití zvířecích modelů je nezbytné ke zkoumání jevů, které mohou nastat pouze v živém organismu. V našem případě je důležité sledovat např. repopulaci organismu nádorovými buňkami, komunikaci těchto buněk se živými tkáněmi, účinky terapie na repopulační schopnost buněk a také celkové přežívání zvířat. Pro tyto experimenty neexistuje adekvátní alternativa a nemohou být úspěšně provedeny na buněčných ani na orgánových kulturách.				
Omezení používání zvířat				
Odhadovaný počet myši potřebných k dosažení cílů Projektu byl stanoven na 600 zvířat v průběhu pěti let jeho trvání. V pokusných skupinách bude použit pouze nezbytný počet zvířat nutných ke statistickému vyhodnocení. Pro jeden dílčí experiment (jedna kombinace léčiv) bude použito 6-30 myši pro dosažení relevantních výsledků. Při optimalizaci transplantačního modelu budeme provádět pilotní experimenty na minimálních počtech zvířat (6–12 myši), teprve na základě jejich vyhodnocení budeme volit vhodnou strategii pro použití na vyšším počtu zvířat. Experimenty budou plánovány tak, aby nedocházelo ke generování stejných nebo nadbytečných výsledků.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Myši, které budou využívány k experimentům, mají nefunkční imunitní systém (postrádají lymfocyty a NK buňky), což umožňuje, aby jim mohly být úspěšně transplantovány lidské leukemické a lymfomové buňky. Zvířata budou chována v odpovídající podmínkách a bude s nimi vždy zacházeno tak, aby se minimalizovala míra trápení. Myši budou před úvodní implantací uspány injekcí nebo inhalací anestetika a nebudeme provádět opakované zákroky na jednom jedinci. V případě objevení symptomů navozené nemoci (úbytek na váze, vypadávání srsti, prohnutá záda, výskyt tumorů) poukazujících na progresi nemoci, budou zvířata bez prodlení humaně usmrcena cervikální dislokací. Pokusy budou realizovány výhradně pod dohledem proškolených a zkušených pracovníků.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

K pokusům budou používány dospělé imunodeficientní laboratorní myši.