

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569**Název projektu pokusů**

Analýza biodistribuce monoklonálních protilátek specificky rozpoznávajících nádorové buňky pro účely vývoje zcela nové řady léčivých přípravků na bázi konjugátů s vysoce účinnými toxiny pro léčbu rakoviny žaludku, pankreatu a prsu, projekt na modelu laboratorní myši

Doba trvání projektu pokusů - v měsících Od schválení 2021 – 1.3.2024, maximálně 46 měsíců

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾ Monoklonální protilátky, konjugát doxorubicinu -

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 předkládané studie je charakterizace vlastností kandidátního klonu zcela nově vyvinuté monoklonální protilátky, jež umožňuje dopravu vysoce toxické substance (derivát chemoterapeutika doxorubicinu, 10 000krát více účinný než původní sloučenina) specifickým způsobem vazbou na známý antigen do buněk rakoviny žaludku, prsu a slinivky břišní.

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)

Očekávaným výsledkem experimentu je ověření kandidátního klonu s toxikologicky nejvhodnějším poměrem vazby do nádorové versus zdravé tkáně. Molekula bude následně vyrobena v GMP kvalitě a podána pacientům ve fázi I klinických zkoušek. Předpokládáme dlouhodobý přínos výsledků této studie.

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

Injekční aplikace – jednorázová s.c. aplikace nádorových buněk na pravý bok (v celkové anestezii plyným isofluranem), i.v. aplikace testované protilátky do ocasní žíly (dle testované skupiny 2-3x za dobu trvání experimentu).

Zobrazování CT-SPECT – opakovaně ve stanovených časových bodech (v celkové anestezii plyným isofluranem)

Usmrcení určitých skupin v definovaných časových bodech – stržení vazy nebo předávkování isofluranem.

Ex-vivo pitva zájmových orgánů pro měření na přístroji autogammacounter (AGC)

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

Nežádoucí účinky, které lze očekávat při testování nových monoklonálních protilátek in-vivo, zahrnují vyšší zatížení metabolismu, nechut' k jídlu, možnou ztrátu na váze vedoucí až k apatii. Pokud budou příznaky trvat déle než několik dní, bude pokus na zvířatech ukončen. Injekční aplikace protilátky látky může vést k ruptuře cévy v místě aplikace a vytvoření hematomu (minimální bolestivost, hojení v délce několika dnů).

Tumor nesoucí myši (s velikostí nádoru do 20 mm) budou po pokusu humánně utraceny. Zvířata pro zobrazování na CT-SPECT budou 3 týdny po 1.aplikaci testované protilátky pozorována kvůli případným změnám chování či zdravotního stavu, jejichž výrazná změna by vedla k ukončení testování této protilátky. Zvířata budou usmrcena při dosažení velikosti nádoru 20mm v jakémkoliv směru. V případě jakékoliv nečekané změny a/nebo zhoršení zdravotního stavu zvířete bude pokus předčasně ukončen.

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)	900			900	
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>					
Laboratorní zvířata není možné opakovaně využít v jiných projektech, mohlo by tak dojít k vzájemnému ovlivnění výsledků. Proto budou zvířata nejpozději po dokončení pokusu bezbolestně utracena.					
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>					
Nově vyvinuté monoklonální protilátky, umožňující cílenou terapii rakoviny dopravením vysoce toxického agens přímo do nádorové tkáně, je třeba testovat v živých organizmech. Pouze takto je možné zhodnotit případnou interakci se zdravými tkáněmi, kterou nelze experimentálně in vitro vyloučit. Zároveň je nutno sledovat biodistribuci léčiva v živém organismu pro nastavení optimálního dávkovacího schématu. V současné době neexistuje rovnocenný alternativní relevantní systém pro testování in vivo (ověřeno v seznamu validovaných alternativních metod ECVAM), proto je nutno použít laboratorní myši.					
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>					
Projekt zahrnuje pro každou ze tří nádorových buněčných linií (BxPC3, MB231 a MCF7) 300 zvířat rozdělených do 14 skupin. Velikost skupin byla stanovena pro zajištění minimálního počtu zvířat pro relevantní statistické zpracování dat. Tento počet zahrnuje i zvířata na testování kontrolní izotypové protilátky a rezervní skupiny zvířat. Celkový maximální počet zvířat je stanovený na 900ks dospělých samic linie NuNu.					
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>					
Projekt bude realizován v souladu se zákonem. Během experimentu bude sledován zdravotní stav zvířat a jejich prostředí. Pokus bude při neuspokojivém zdravotním stavu zvířat ukončen. Při projevech bolesti budou zvířatům podávána analgetika.					
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
Pro tento typ experimentu je zvolena linie imunodeficientních laboratorních myší, Nu/Nu, ve věku 6-8 týdnů, jako syngenní se zvolenou nádorovou linií karcinomu pankreatu BxPC3 a karcinomů prsu linie MB231 a MCF7.					

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