

NETECHNICKÉ SHRNTÍ PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Úloha mozkových bariér v periferní neuropatii indukované chemoterapií – potkaní model

Doba trvání projektu pokusů v měsících	52
Klíčová slova	Paklitaxel
DAMPs	cytokiny
plexus choroideus	spinální ganglia

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Nervová soustava [PB3]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Sledování změn hematolikorové bariéry mozku při šíření neurozánětu v CNS po chemoterapii

Potenciální přínosy projektu pokusů

Výsledky projektu by měly přispět k objasnění mechanismu, kterým vzniká periferní neuropatie v důsledku onkologické léčby chemoterapeutikem Paklitaxel.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Pro experimenty budou použiti laboratorní potkani kmene Wistar, samci o hmotnosti 250 - 300g, v počtu 107 ročně, což je minimální možný počet pro statistické vyhodnocení výsledků experimentů. Tento počet zvířat bude rozdělen do skupin: 1. skupina s aplikací Paklitaxelu (PTX) nebo kombinace PTX a antagonisty receptoru (n=48). 2. Skupina s aplikací vehikula (n=48). 3. Referenční skupina naivních zvířat pro imunohistochemické vyšetření IHC (n=5). 4. Referenční skupina naivních zvířat pro Western blot (WB) (n=6). Periferní neuropatie bude indukována intraperitoneální aplikací PTX ve čtyřech jednotlivých dávkách 2mg/kg, objem jednotlivé dávky pak bude 1,25ml i.p. Kontrolní skupině zvířat bude ve stejných intervalech aplikována objemově totožná dávka vehikula ve složení alkohol, cremophor a fyziologický roztok v poměru 1:1:18 (VEH; koncentrace alkoholu - 5%). Projevy periferní neuropatie navozené intraperitoneální aplikací chemoterapeutika PTX u pokusných zvířat budou prokázány pomocí behaviorálních testů. Pomocí imunohistochemické metody (IHC) a metody Western Blot (WB) budou hodnoceny exprese receptorů TLR9, TLR4 a FPR2, molekul jejich signálních kaskád a prozánětlivých cytokinů IL-1 β , IL-6 a TNF α . Periferní neuropatie bude ovlivněna intraperitoneální aplikací antagonistů (ANT) receptorů.

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

Aplikace látek vyvolá středně závažné klinické účinky.

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
potkan laboratorní (Rattus norvegicus) [A2]	44	0	0	0

0	0	0	0	0
potkan laboratorní (Rattus norvegicus) [A2]	0	0	384	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				
Eutanázie bude realizována formou předávkování anestetika nebo oxidem uhličitým. Likvidace mrtvých zvířat je organizována LF MU.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Experimentální model na laboratorních zvířatech nelze v současné době ničím nahradit – pro vyhodnocení imunitní odpovědi v rozvoji periferní neuropatie indukované Paklitaxelem a možností jejího ovlivnění lze provádět pouze experimenty in vivo. V databázích alternativních metod (dle „European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing“, https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/) není uvedena validovaná metoda, která by nahradila navrhované pokusy na zvířatech (ověřeno v lednu 2021).				
Omezení používání zvířat				
V každé pokusné skupině bude použit pouze minimální nezbytný počet zvířat nutný ke správnému statistickému vyhodnocení. Počítáme se zařazením 107 zvířat ročně.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Pokusné zvíře bude po přinesení do laboratoře ponecháno před zahájením pokusu v klidu minimálně 30 min. Při práci bude používáno klidné zacházení v tichém prostředí. Budou použity takové návyky uchopení rukou i pomůcky, které zvířeti minimalizují strach i bolest z probíhajícího pokusu.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Pro naše pokusy jsme zvolili laboratorního potkana, který je běžně používaným zvířecím druhem pro navrhované modely.