

Formulář vyplňujte na počítači; kolonky se zvětší automaticky podle množství textu.

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Význam vybraných molekul účastnících se angiogeneze pro přihojení, růst a šíření agresivních lymfomů na myších modelech	
Doba trvání projektu pokusů	3 roky (do 31. 12. 2022)
Klíčová slova - maximálně 5	Maligní lymfomy, angiogeneze, CD31/PECAM-1, CD38, VEGF
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
☐	základní výzkum
☒	translační nebo aplikovaný výzkum
☐	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
☐	zachování druhů
☐	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení
Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
Myší modely založené na xenotransplantaci lymfomových buněk do imunodeficientních myši se v posledních několika letech staly standardem výzkumu biologie lymfomů. Myší modely mají řadu nesporných výhod oproti in vitro pokusům, neboť umožňují testování vlivu vybraných faktorů na přihojení, růst a šíření lymfomu a in vivo testování zahrnuje řadu klíčových parametrů (vztahy s mikroprostedím, hypoxie, acidóza, metabolické změny), které v in vitro systémech relevantně testovat nelze. Na základně pilotních experimentů a dosud publikovaných dat jsme vytypovali 3 molekuly, které se účastní procesu přihojení, angiogeneze a šíření lymfomu po xenotransplantaci lymfomových buněk do imunodeficientních myši: CD31, CD38 a VEGF. Pomocí klonování jsme připravili subklony vybraných lymfomových linií se stabilně zvýšenou expresí CD31, CD38 a VEGF a subklony s nulovou expresí CD31, CD38 a VEGF. Předpokládáme, že zvýšená exprese CD31, CD38 a VEGF povede k rychlejšímu přihojení (engraftment), růstu a šíření lymfomu po podkožní xenotransplantaci do imunodeficientních myši. Růst bude měřen pomocí kaliperu ve třech na sobě kolmých rovinách a následným výpočtem nádorového objemu. Šíření lymfomu bude analyzováno metastazováním do ipsilaterálních axilárních uzlin, event. do sleziny.	
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)	
Plánované experimenty nám pomohou in vivo konfirmovat roli vybraných molekul v biologii agresivních lymfomů s event. možností je terapeuticky ovlivnit např. pomocí blokujících monoklonálních protilátek (anti-CD38 daratumumab, anti-VEGF bevacizumab).	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Tento typ studie není možné realizovat jinak než s použitím laboratorních zvířat – v současné době není k dispozici žádný alternativní preklinický systém či model, kterým by bylo možné laboratorní zvíře nahradit Pro tento projekt předpokládáme spotřebu max. 420 myši (dospělých samic).	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Navrhovaná míra závažnosti je 2 (střední). Růst podkožního lymfomu není spojen s bolestí, diskomfortem či hubnutím experimentálních zvířat. Proto není plánováno použití anestezie či analgezie. PO SKONČENÍ POKUSU BUDOU ZVÍŘATA USMRČENA	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Pro plánované experimenty byl vybrán model imunodeficientní laboratorní myši, která umožňuje přihojení, růst a následnou léčbu lidských lymfomových buněk. V současné době neexistuje jiná metoda, která by umožnila relevantní preklinické testování (ověření) role vybraných regulátorů angiogeneze na přihojení, růst a šíření agresivních lymfomů. Tuto skutečnost jsme ověřili také v databázi validovaných alternativních metod schválených a přijatých Evropskou společností pro alternativní metody (European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM)).	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Navrhované experimenty nebyly dosud testovány na myších modelech agresivních lymfomů. Ověření proběhlo v databázích vědeckých prací SCOPUS, MedLINE, Web of Science a PubMed, naposledy v listopadu 2019. Statistická kalkulace pomocí χ^2 (chi-kvadrát) testu predikuje, že při použití 10 zvířat na skupinu bude dosaženo signifikance $p < 0.01$ při dosažení rozdílu o $>60\%$ ve vypočítaných objemech tumorů mezi experimentální a kontrolní skupinou.	
Setrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetnější použití z hlediska vědeckých cílů.	
Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.	
Zdravotní stav zvířat bude sledována v průběhu experimentu od okamžiku aplikace lymfomových buněk až do ukončení experimentu. V případě pozorování negativních změn u laboratorního zvířete bude pokus ukončen a zvíře usmrceno. Podkožní modely lymfomů jsou (ve srovnání se systémovými modely diseminovaných lymfomů založenými na intravenózní xenotransplantaci lymfomových buněk) pro myši šetrnější, neboť nevedou k hubnutí, alternaci celkového stavu či pre-terminální paralýze.	