

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 68/2018

Název projektu pokusů

Analýza imunogenních a protinádorových účinků nádorových buněk ošetřených látkou MTPP(EG)4 na bázi porfyrinu v kombinaci s ozářením na modelech experimentálních myších nádorů.

Doba trvání projektu pokusů Do 31. 12. 2020

Klíčová slova - *maximálně 5* Imunogenní buněčná smrt, protinádorová fotodynamická terapie, hypericin

Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka

<input checked="" type="checkbox"/>	základní výzkum
<input type="checkbox"/>	translační nebo aplikovaný výzkum
<input type="checkbox"/>	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
<input type="checkbox"/>	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
<input type="checkbox"/>	zachování druhů
<input type="checkbox"/>	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
<input type="checkbox"/>	trestní řízení a jiné soudní řízení

Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

Fotodynamická terapie, tj. terapie založená na aplikaci fotosensitivní látky, která může být akumulována v nádorové tkáni a po ozáření světlem určité vlnové délky působí imunogenní buněčnou smrt je potenciální modalitou v léčbě nádorů. Stejným způsobem je možné připravit *in vitro* buňky, které mohou být použity jako tzv. buněčné vakcíny pro experimenty zaměřené na studium protinádorové imunity a imunoterapie. Cílem projektu vyhodnocení nové fotosensitivní látky a její schopnosti indukovat imunogenní buněčnou smrt nádorových buněk a přinést nové klinicky relevantní poznatky. Bude porovnána její účinnost ve srovnání s již experimentálně používaným hypericinem a dalšími induktory imunogenní buněčné smrti v *in vivo* experimentech na myších modelech. Bude otestována schopnost takto ošetřených nádorových buněk vyvolat efektivní imunitní odpovědi inhibující růst experimentálních myších nádorů.

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)

Budou provedeny imunologické analýzy a vyhodnoceny schopnosti nádorových buněk, u nichž je indukována imunogenní buněčná smrt, a to jejich ošetřením novou fotosensitivní látkou následnou fotoaktivací indukovat protektivní protinádorovou imunitu, případně inhibovat růst nádorů. Budou tak získány nové poznatky o možnostech nových i stávajících látek pro fotodynamickou terapii a obecně tyto pokusy přispějí k vývoji nových postupů pro léčbu nádorů.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

K experimentům budou použity imberdní C57Bl/6 myši, jimž budou transplantovány syngenní nádorové buňky (rostoucí nebo prošlé imunogenní buněčnou smrtí). Syngenní vztah mezi hostitelem a nádorovou buňkou umožní sledovat parametry nádorového růstu a účinnost experimentální imunizace či imunoterapie za geneticky a imunologicky definovaných podmínek. Budou použiti samci myšího kmene C57Bl/6, ve stáří 2-4 měsíců, celkem je plánováno cca 200 kusů na rok.

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Očekávané nežádoucí účinky aplikace buněk jsou mírné. Míra závažnosti je vzhledem k testování růstu nádorů závažná. Zbytečnému utrpení zvířat bude zabráněno častou kontrolou a anestezií při odběru krve. Po skončení pokusu budou zvířata usmrcena cervikální dislokací nebo CO₂. Likvidace kadáverů bude provedena asanační službou, se kterou má pracoviště smlouvu.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Alternativní metody nemohou nahradit navrhované pokusy, protože *in vitro* techniky nemohou postihnout komplexní *in vivo* odpověď – účinnost protinádorové terapie, změny v mikroprostředí nádoru, kinetiku tvorby a účinku cytotoxických lymfocytů ve slezinách experimentálních zvířat, hladinu cytokinů apod.

Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

Počet zvířat bude omezen čerpáním informací z literatury, provedením experimentů *in vitro* na tkáňových kulturách a bude minimalizován pro možnost statistického vyhodnocení experimentu. V průběhu pokusů bude sledováno co nejvíce parametrů zároveň. Uvedený počet zvířat je maximální a lze předpokládat menší množství použitých zvířat

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.

Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.

Laboratorní kmeny myši jsou nejběžnějším druhem savců pro testování látek s potenciálním terapeutickým účinkem. K experimentům budou používány samci myšího kmene C57Bl/6, ve stáří 2-4 měsíců, kterým budou podkožně transplantovány syngenní nádory, což je standardní postup pro *in vivo* testování protinádorové imunity a také experimentální protinádorové terapie. Syngenní vztah mezi hostitelem a nádorovou buňkou umožňuje sledovat parametry imunitního systému, nádorového růstu a účinnost terapie za geneticky definovaných podmínek. Počty zvířat v jednotlivých skupinách se řídí minimálními požadavky na statistickou průkaznost *in vivo* výsledků, tj. 6-8 zvířat ve skupině, u následných *in vitro* analýz 3-4 zvířata ve skupině.