

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 101/2019

Název projektu pokusů

Využití cílených polymerních nosičů k diagnostice a terapii lidský život ohrožujících nemocí a stavů v modelových organismech

Doba trvání projektu pokusů Ukončení pokusů 30. 11. 2024

Klíčová slova - *maximálně 5* Cílené polymerní konjugáty

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

<input type="checkbox"/>	základní výzkum
<input checked="" 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)

Cílem projektu je vyvinout nová léčiva na bázi cílených polymerů, kde budou testovány jednak nové způsoby spojení polymer – cílicí biomolekula a zároveň se zaměříme na relativně speciální skupinu onemocnění, kde zatím chybí účinná cílená terapie, bez zásadních vedlejších účinků. Případně se pokusíme ukázat nový směr pro řešení život ohrožujících stavů po intoxikaci jedem za použití „animal origin free“ přípravků.

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)

V Euro-Atlantické populaci jsou nádorová onemocnění momentálně na čelních žebříčkách z pohledu úmrtnosti v lidské populaci. Se vzrůstajícím počtem těchto chorob vrůstá i potřeba tyto stavy léčit či aspoň zmírňovat jejich dopad na zdraví jedince potažmo celé společnosti.

Na druhou stranu v oblastech s méně rozvinutou a dostupnou lékařskou péčí, typicky Afrika, oblasti Jižní Ameriky či jihovýchodní Asie, stále mnoho lidí a hlavně dětí umírá každoročně na „banální“ uštknutí či kousnutí jedovatými živočichy, což by z pohledu naší západní bohaté společnosti mělo být také bráno v potaz.

Oповědí na některé problémy mohou být cílená polymerní léčiva, která specificky zasáhnou v místě účinku, jsou netoxická, zvyšují rozpustnost funkčních molekul, zároveň jsou dobře organismy snášena a snižují tak systémové zatížení organismu. V neposlední řadě mohou částečně nahradit séra proti hadímu (či jinému) uštknutí a tím i snížit zatížení produkčních zvířat, ze kterých se tato séra získávají. Navíc, jako chemické entity, jsou mnohem lépe charakterizované a stabilnější než živočišné produkty.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

V experimentu budou použity laboratorní myši kmeny BALB/c, 57BL/6J, tam kde existuje myší model lidského onemocnění či život ohrožujícího stavu a BALB/c-Nude a Nu-Nu myši, NSG a NSG-SGM3 myši, tam kde bude potřeba ke studiu xenotransplantátů, neboť tyto myši kmeny neodhojují cizí transplantované orgány či buňky. Maximální počet bude 500 myší, ale předpoklad je méně.

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

Charakter studie nevyvolá nadměrné utrpení ani nadměrný stres pokusných zvířat. Bolest, kterou pokusná zvířata pocítí je srovnatelná s bolestí injekčního vpichu. U zvířat, kterým budou předem aplikovány nádorové buňky určité linie, nedosáhne rostoucí nádor velikosti, kdy dochází k nekróze nádorové tkáně případně velikosti, kdy jsou zvířata rostoucím nádorem omezoována v pohybu. V případě testování cílených polymerních konjugátů proti toxinům mohou zvířata chvilkově trpět, ale v takovém případě budou pod stálým dohledem a v případě, že stav bude seznán jako neslučitelný se zásadami welfare and health care, budou zvířata neprodleně utracena. Účinky námi zvoleného polymeru v živých organismech jsou již známy a nepředpokládáme žádné výraznější vedlejší účinky. Jedná se o střední míru závažnosti nežádoucích účinků. Po skončení pokusu budou zvířata usmrcena cervikální dislokací nebo aplikací CO₂. Likvidace zvířat 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.

Prohlašuji, že pokus na zvířecích modelech nelze nahradit alternativními metodami. Pro určení stability konjugátů v podmínkách *in vivo* a jejich schopnosti dosáhnout léčivého účinku je zatím nemožné aplikovat počítačové modely či *in vitro* experimenty na tkáňových kulturách, které však budou vždy předcházet testování na myším modelu a pouze ty konjugáty, které v tkáňových kulturách prokáží nejlepší účinky, budou následně testovány *in vivo*.

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

Uvedený počet zvířat je maximální pro testování všech námi připravených konjugátů a lze předpokládat menší množství

použitých zvířat. O průběhu a výsledcích všech provedených experimentů budou pečlivě vedeny protokoly, výsledky budou průběžně hodnoceny k optimalizaci experimentální strategie a snížení počtu potřebných experimentálních zvířat. Design experimentu je uveden výše. Podle našich předchozích zkušeností je potřebný minimální počet 4 až 8 zvířat ve skupině k zajištění reprodukovatelnosti a interpretovatelnosti pozorovaných rozdílů.

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.

Charakter studie nevyvolá nadměrné utrpení ani nadměrný stres pokusných zvířat. Bolest, kterou pokusná zvířata pocítí je srovnatelná s bolestí injekčního vpichu. U zvířat, kterým budou předem aplikovány nádorové buňky určité linie, nedosáhne rostoucí nádor velikosti, kdy dochází k nekróze nádorové tkáně případně velikosti, kdy jsou zvířata rostoucím nádorem omezoována v pohybu. Také v případě zjevného utrpení, které může být způsobeno metastázami (většinou jsou pokusná zvířata usmrcena dříve, než k metastatickému rozsevu dojde) budou pokusná zvířata šetrně usmrcena. Stejně tak při snížení hmotnosti pod body score condition 2, který je časnějším ukazatelem změny kondice než změna váhy o 20%. Při testování využití cílených polymerů proti přírodním toxinům bude s myšimi modely zacházeno obdobně, v případě zhoršení stavu bude postupováno, jak je popsáno výše.

S pokusnými zvířaty bude nakládáno podle zásad bezbolestného zacházení se zvířaty, během experimentů bude zajištěn dostatek potravy a vody, při bolestivých zákrocích budou použita anestetika. Dodržování předpisů ochrany zvířat bude kontrolovat pravidelně vedoucí pokusů, nebo jím pověřená kvalifikovaná osoba.