

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ	
Název projektu pokusů	
Studium vývoje, progresu a terapie B-buněčných malignit na myším modelu obsahujícím lidské mikroprostředí.	
Doba trvání projektu pokusů	5 let (10/2022)
Klíčová slova – maximálně 5	leukémie, lymfom, mikroprostředí, ibrutinib, B-raf
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)	
Cílem projektu je zavedení nového myšího modelu indolentních B-buněčných nádorových onemocnění (chronická lymfatická leukémie, folikulární lymfom) s využitím biomateriálů a podpurných buněk, které budou společně napodobovat vlastnosti skutečného nádorového mikroprostředí, které se vyskytuje v lidském těle. Model bude využíván k velmi detailnímu studiu chování nádorových B-lymfocytů a bude sloužit pro testování nové kombinatorní léčby cílící na interakci těchto buněk v mikroprostředí. Testovány budou kombinace klinicky ověřených látek využívaných při léčbě leukémií a lymfomů s inhibitory kinázy B-raf, která je již úspěšně cílena např. při léčbě nádorů štítné žlázy nebo maligního melanomu.	
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)	
Dle našich poznatků v současnosti neexistuje podobný xenotransplantační model, který by umožnil stabilní uchycení primárních buněk chronické lymfatické leukémie nebo folikulárního lymfomu a studium jejich <i>in vivo</i> interakce s lidským nádorovým mikroprostředím. Tento projekt může významně přispět k pochopení biologie a možností léčby tohoto typu nádorových onemocnění.	
Druhy a přibližné počty zvířat , jejichž použití se předpokládá	
K pokusům budou používány dospělé imunodeficientní laboratorní myši. Počítáme celkem s využitím maximálně 200 myši	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Zvířatům budou v celkové anestezii aplikovány matrice porostlé buňkami, které budou napodobovat mikroprostředí vyskytující se v lidských mízních uzlinách. Následně budou myším injikovány lidské leukemické nebo lymfomové buňky a bude sledováno jejich uchycení a efekt testované terapie. Míra závažnosti pokusů je střední. U myši se mohou projevit příznaky související s vývojem nádorového onemocnění (neprospívání, hubnutí) nebo způsobené vedlejšími efekty podávaných léčiv. Tyto jevy však nemohou být zjištěny jinak než pozorováním živých zvířat. Myši pocítí bolest při injekční aplikaci anestetik a při odběrech periferní krve, které budou prováděny maximálně šetrně a ne častěji než v intervalu dvou týdnů. Po skončení experimentu (v případě, že se u zvířat projeví závažné příznaky onemocnění, nejdéle však tři měsíce od zahájení pokusu) budou zvířata utracena zlomením vazů a bude provedena analýza krve a histologické vyšetření orgánů. Kadávery budou předány na likvidaci specializovanou firmou.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Využití zvířecích modelů je nezbytné ke zkoumání jevů, které mohou nastat pouze v živém organismu. V našem případě je důležité sledovat např. repopulaci organismu nádorovými buňkami, komunikaci těchto buněk se živými tkáněmi, účinky terapie na repopulační schopnost buněk a také celkové přežívání zvířat. Pro tyto experimenty neexistuje adekvátní alternativa a nemohou být úspěšně provedeny na buněčných ani na orgánových kulturách.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
V každé pokusné skupině použijeme jen nezbytný počet zvířat nutný ke správnému statistickému vyhodnocení.	
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.	
Myši, které budou využívány k experimentům, mají nefunkční imunitní systém (postrádají lymfocyty a NK	

buňky), což umožňuje, aby jim mohly být úspěšně transplantovány lidské leukemické a lymfomové buňky. Zvířata budou chována v odpovídající podmínkách a bude s nimi vždy zacházeno tak, aby se minimalizovala míra trápení. Myši budou před úvodní implantací uspány injekcí nebo inhalací anestetika a nebudeme provádět opakované zákroky na jednom jedinci. Pokusy budou realizovány výhradně pod dohledem proškolených a zkušených pracovníků.