

## **Netechnické zhrnutie k projektu podľa §40 nariadenia vlády SR č. 377/2012 Z.z.**

**Názov projektu:** Predklinické sledovanie toxického efektu humanizovaných protilátok voči CAIX.

**Kľúčové slová:** protilátky, predklinické testy, CAIX

### **Účel projektu:**

Translačný výskum

**Cieľ projektu:** Hlavným cieľom projektu je zistiť toxicitu podávanej liečebnej dávky humanizovanej protilátky voči karbonickej anhydráze IX (CAIX) a jej päťnásobného zvýšenia v myšacom modeli. Na odporúčenie Európskej liekovej agentúry (EMA, European Medicinal Agency) je nutné otestovať vplyv dávkovania humanizovanej protilátky na zdravotný stav myši ešte pred použitím týchto protilátok na klinické testovanie u ľudí.

**Prínos projektu:** Hlavným prínosom tohoto projektu bude zistenie toxického efektu humanizovanej protilátky voči CAIX na myšiu organizmus. V prípade priaznivých výsledkov bez toxického efektu, budú môcť byť protilátky použité v klinických testoch na ľuďoch a v budúcnosti použité na liečbu rôznych nádorových ochorení.

**Počet a druh použitých zvierat:** Myš laboratórna (*Mus musculus*), SCID beige samice 320 ks

### **Predpokladaný nepriaznivý vplyv/ujma na použité zvieratá v rámci vykonávania projektu:**

Zvieratá budú označené farbou na chvoste a 1x do týždňa odvážené. Na váženie si zvieratá rýchlo privyknu a nespôsobuje im stres. Počas váženia je pri zvieratách skúsená osoba, na ktorú sú zvieratá zvyknuté. Označenie zvierat na chvoste je neinvazívny zákrok a zvieratám nespôsobuje žiadnu bolesť.

Pri odoberaní krvi z v. saphena lateralis (laterálna ružová žila) budú zvieratá pod inhalačnou anestéziou. Maximálne odobraté množstvo bude 100 mikrolitrov. Krv bude odoberaná 1x v priebehu 14 dní - každá skupina bude rozdelená na dve podskupiny a tieto sa budú striedať. To znamená, že po dobu 4 týždňov trvania postupu, bude každému zvieraťu odobratých niekoľko kvapiek krvi 2x, takže by nemalo dochádzať k výraznej ujme. Po odbere bude zvieratám venovaná zvýšená pozornosť, bude im čo najskôr umožnený prístup k vode a potrave.

Všetky postupy na zvieratách sú vykonávané skúsenými pracovníkmi, pri vykonávaných postupoch sa minimalizuje počet osôb, hluk a všetkým postupom predchádza dôkladná príprava, pretože iba v takom prípade je možné vykonať postup v klude a dostatočne rýchlo. Tým sa minimalizuje stres zvierat.

Keďže hlavným cieľom projektu je zistenie toxicity podávanej látky, budeme pozorovať či nedochádza k zhoršeniu zdravotného stavu zvierat. Zhoršenie zdravotného stavu sa môže prejaviť stratou hmotnosti a/alebo sťaženým dýchaním, nechutenstvom. Zdravotný stav zvierat sa však bude denne kontrolovať. Moribundné zvieratá budú humánne utratené podľa human end points a bude vykonaná pitva. Zvieratá sa usmrtia v inhalačnej anestézii (Isoflurin) a následnou dekapitáciou za účelom získania čo najväčšieho objemu krvi. Usmrtenie zvierat na konci pokusu je nevyhnutné pre získanie krvi pre stanovenie biochemických a hematologických parametrov ako aj získanie všetkých orgánov za účelom histologického vyšetrenia.

**Predpokladaná úroveň krutosti:** stredná

**Súlad s požiadavkami „3R“**

**Nahradenie:**

Protilátky, ktoré budeme v tomto postupe testovať vykazujú vo všetkých *in vitro* testoch na bunkových kultúrach, vrátane 3D modelov nádorových sferoidov, významnú protinádorovú aktivitu. Takisto boli už humanizované protilátky testované na tzv. cytokínovú búrku na ľudskej krvi a nevykazovali žiadnu zvýšenú imunologickú aktivitu. Na to, aby bolo možné prejsť na klinické testovanie na ľuďoch, musí byť zrealizované testovanie na hlodavcoch, ktoré sa v tomto štádiu nedajú nahradiť iným relevantným postupom.

**Obmedzenie:**

Z experimentov uskutočnených na bunkových kultúrach *in vitro* a z dostupnej vedeckej literatúry sme schopní určiť dávkovanie protilátok ako aj frekvenciu dávkovania.

Počet zvierat v skupinách je minimalizovaný tak, aby mohli byť získané štatisticky vyhodnotiteľné výsledky. Ak získame štatisticky významné dáta z menšieho počtu zvierat, nebude potrebné použiť celkový plánovaný počet.

Postupy a zloženie pokusných skupín sú naplánované tak, aby bolo možné využiť jednu kontrolnú skupinu zvierat pre čo najviac testovaných látok.

**Zjemnenie:**

Zvieratá budú držané v skupinách umožňujúcich prirodzené sociálne správanie so stálym prísunom potravy a pitnej vody. Máme vypracované postupy, ktoré minimalizujú traumatizovanie zvierat počas injekčných aplikácií. Na projekte sa budú podieľať len skúsení pracovníci vyškolení na prácu s laboratórnymi zvieratami. V prípade potreby bude vykonané humánne ukončenie postupu. Prostredie, v ktorom sú zvieratá ustajnené je obohatené papierovými rolkami, papierovou vatou, prípadne paličkami na ohryzovanie. So zvieratami sa zaobchádza opatrne a citlivo.

**Spätné posúdenie projektu:**

Nie