

Netechnické zhrnutie projektu

Názov projektu: Modely onkologických ochorení pre včasnú diagnostiku a inovatívne terapeutické prístupy

Kľúčové slová: kolorektálny karcinóm, uveálny melanóm, pankreas, nanočastica

Účel projektu: Základný výskum

Cieľ projektu:

- A. Stanoviť bezpečnosť a účinnosť kombinovanej terapie nádorov hrubého čreva s využitím rozvetvených nanonosičov
- B. Vytvoriť *in vivo* model na definovanie algoritmu pre skorú diagnostiku a sledovanie pacientov s neuroendokrinným nádorom pankreasu
- C. Vytvoriť *in vivo* model malígneho melanómu uvey na štúdium metastázovania a epigenetického editovania

Prínos projektu: Projekt je zameraný na riešenie aktuálnych onkologických otázok. Jeho riešenie rozšíri poznatky o bezpečnosti využitia nanočastíc ako nosičov liečiv, overí účinnosť protinádorovej liečby kombinujúcej viaceré prístupy (chemoterapia epigenetická terapia a génová terapia); prispeje k vyvinutiu nástroja pre skorú diagnostiku neuroendokrinných nádorov pankreasu (nádor s veľmi nepriaznivou prognózou, ktorý je často diagnostikovaný až v metastatickom štádiu); prispeje k pochopeniu mechanizmov metastatického šírenia malígneho melanómu uvey (zhubný vnútroočný nádor) a možností jeho liečby.

Počet a druh použitých zvierat: imunodeficientné laboratórne myši kmeňov SCID/bg a NSG 1923 ks

Predpokladaný nepriaznivý vplyv/ujma na použité zvieratá v rámci vykonávania projektu: Zvieratám budeme jednorazovo aplikovať pod kožu nádorové bunky za účelom vyvolania rastu nádorov. Subkutánne nádory do 1cm³ nemajú negatívny vplyv na zdravie a pohodu. Necháme ich rásť maximálne do tejto veľkosti, nesmú mať známky nekrózy alebo zápalu. Injekčné podanie buniek spôsobí krátkodobý stres. Zvieratá budú vystavené tiež miernemu krátkodobému stresu pri (opakovanom) injekčnom podávaní liečiv, aj pri podávaní analgetík. Budú opakovane uvádzané do anestézie (chirurgické odstránenie nádoru, podanie nádorových buniek do sleziny alebo medzi lopatky, *in vivo* zobrazovacie techniky) V tomto prípade nemôžeme vylúčiť určitý stupeň pooperačnej bolesti. Aj pri nízkej pravdepodobnosti nie je možné vylúčiť nepriaznivú systémovú reakciu na podanie nanočastíc (obsahujúcich liečivo). Môže sa prejavíť sťaženým dýchaním, zníženou aktivitou až letargiou. Opakovaný odber krvi z očného sínusu (v anestézii) spôsobí zvieratám stres. Za najvýraznejšiu ujmu v projekte považujeme vyvolanie metastatického rozsevu nádorových buniek. Prítomnosť metastáz sa prejaví sťaženým dýchaním, úbytkom hmotnosti, zhrbeným postojom a zníženou aktivitou zvierat.

Predpokladaná úroveň krutosti:

Zárok	Krutosť
označovanie myší tetovaním	slabá
váženie	slabá
jednorazová subkutánna aplikácia buniek	slabá
rast a monitorovanie veľkosti subkutánnych nádorov (do 1 cm ³)	slabá
chirurgický zákrok – odstránenie primárneho nádoru	stredná

jednorazové podávanie nádorových buniek s.c. a i.v.	slabá
podávanie buniek do sleziny v anestézii	stredná
subkutánna implantácia nádorového tkaniva v anestézii	stredná
odber krvi v anestézii v priebehu postupov	slabá
kardiálna punkcia pred usmrtením zvieratá	slabá
metastatický rozsev nádoru	krutá
opakované neinvazívne monitorovanie rastu metastáz In Vivo (zobraz, MRI)	stredná
jednorazové podávanie liečiv	slabá
opakované injekčné podávanie liečiv	stredná
systémová reakcia na podanie nanoliečiva	slabá - krutá
opakované uvádzanie do anestézie	stredná
prepravovanie zvierat	slabá
usmrtenie zvieratá na konci postupov	slabá
celková klasifikácia	krutá

Súlad s požiadavkami „3R“

Nahradenie

Hlodavce v tomto štádiu experimentov nie je možné nahradiť bunkovými kultúrami, ani nižším druhom živočíchov. Experimentom na zvieratách predchádzajú štúdie na bunkách bez použitia zvierat. *Je nutné zistiť* systémovú reakciu na liečbu pomocou nanočastíc, ktorá rovnako ako metastatické modely vyžaduje komplexitu celého organizmu.

Obmedzenie:

Na základe našich skúseností z predchádzajúcich projektov, údajov z vedeckej literatúry a našich *in vitro* štúdií sme schopní odhadnúť dávky podaných buniek na indukciu nádorov a metastáz, dávkovanie liečiv. Materiál z pilotných experimentov, v ktorých budeme nastavovať dávky buniek využijeme pre následné analýzy, tým je možné znížiť počet zvierat v skupinách. Na molekulárno-biologické analýzy a izolácie nukleových kyselín použijeme izolačné metódy a súpravy, ktoré vyžadujú malé množstvo vstupného materiálu.

Počet zvierat v skupinách je minimalizovaný tak, aby mohli byť získané výsledky štatisticky vyhodnotené. Ak získame štatisticky signifikantné dáta z menšieho počtu zvierat, nebude potrebné použiť celkový plánovaný počet. Plánujeme využitie jednej kontrolnej skupiny pre viacero experimentálnych skupín.

Zjemnenie:

Zvieratá budú preferenčne držané v skupinách umožňujúcich prirodzené sociálne správanie so stálym prísunom potravy a pitnej vody. Prostredie bude obohatené (úkrytmi a materiálom na stavbu hniezd), myši budú prevažne pochádzať z vlastného chovu a prejdú procesom „handlingu“ v miere, akú umožňuje skutočnosť, že majú vážne narušený imunitný systém.

Máme vypracované postupy, ktoré minimalizujú traumatizáciu zvierat počas injekčných aplikácií. Na projekte sa budú podieľať len skúsení pracovníci vyškolení na prácu s laboratórnymi zvieratami. Budeme dôsledne uplatňovať humánne ukončenie postupu.

Spätné posúdenie projektu:

Áno, do troch mesiacov od ukončenia projektu