

Vyplňujte jen bílé kolonky!

Formulář vyplňujte na počítači; kolonky se zvětší automaticky podle množství textu.

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Experimentální terapie maligních lymfomů zaměřená na inhibici signalizace z B-buněčného receptoru a na inhibici PI3K-AKT-mTOR signální dráhy *NA MYŠÍCH MODELECH*

Doba trvání projektu pokusů 12 měsíců (od schválení do 30.9.2019)

Klíčová slova - maximálně 5 Maligní lymfomy, cílená terapie, patient-derived xenograft (PDX)

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)

Maligní lymfomy (ML) představují nejčastější typ hematologických malignit v České republice. U části pacientů se nedaří lymfom vyléčit za použití standardních léčebných postupů, což vyžaduje testování nových protilymfomových látek. PI3K (phosphatidylinositol-3-kinase) kináza, kináza AKT a protein mTOR (mammalian target of rapamycin) tvoří osu, která hraje spolu s kinázou SYK (spleen tyrosine kinase) klíčovou roli v přenosu signálu z povrchových imunoreceptorů a metabolických a prorůstových senzorů do jádra buňky a hraje důležitou roli v onkogenní signalizaci maligních B-lymfocytů. Entospleninib je inhibitor kinázy SYK. AZ8186 a idelalisib jsou vysoce selektivní inhibitory PI3K. AZ2014 je inovativní inhibitor onkoproteinu mTOR. Na základě in vitro dat (testování na lymfomových buněčných liniích) bylo zjištěno, že látka AZ8186 vykazuje významný protinádorový synergismus s látkou AZ2014, neboť dochází k víceúrovňové inhibici kaskády PI3K-AKT-mTOR. Dále bylo zjištěno, že entospleninib vykazuje protinádorový synergismus in vitro v kombinaci s ibrutinibem a idelalisibem. Hlavním cílem předkládaného projektu je ověřit (potvrdit) synergismus mezi látkami AZ8385 + AZ2014 (část A) a mezi látkami entospleninib + ibrutinib a entospleninib + idelalisib (část B). Pokusy budou provedeny na vybraných myších modelech agresivních lymfomů odvozených od pacientů (tzv. patient-derived xenografts, PDXs).

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)

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Tento typ studie není možné realizovat jinak než s použitím laboratorních zvířat – v současné době není k dispozici žádný alternativní systém či model, kterým by bylo možné laboratorní zvíře nahradit. Imunodeficientní NSG (*NOD-SCID-gamma*) a NOD-RAG myši jsou deficientní v T, i v B buněčné imunitě a navíc vykazují poruchy nespecifické imunity, což umožňuje přihojení (xenotransplantaci) nádorových buněk v myším organismu. Pro tento projekt předpokládáme spotřebu max. 400 myší (dospělých samic).

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

Podkožní aplikace lymfomových buněk je spojena s růstem lymfomu v podobě podkožního tumoru. Vzhledem k tomu, že experiment bude ukončen v okamžiku, kdy maximální rozměr tumoru přesáhne 2cm, není růst takto malého tumoru v podkoží spojen s bolestí, dyskomfortem či hubnutím experimentálních zvířat. Aplikace všech léčiv v plánovaných dávkách je zcela netoxická. Proto není plánováno použití anestezie či analgezie. Navrhovaná míra závažnosti je tudíž 2 (střední).

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Pro plánované experimenty byl vybrán model imunodeficientní laboratorní myši, která umožňuje přihojení, růst a následnou léčbu lidských lymfomových buněk. V současné době neexistuje jiná metoda, která by umožnila preklinické *in vivo* testování (ověření) účinnosti a/nebo biodistribuce nových protinádorových léčiv před tím, než budou testována v rámci klinických studií na pacientech. Většinu protinádorových látek lze pouze omezeně testovat in vitro, jejich plnou protinádorovou účinnost lze preklinicky testovat pouze in vivo na zvířecích modelech, nejčastěji na myších modelech. Tuto skutečnost jsme ověřili také v databázi validovaných alternativních metod schválených a přijatých Evropskou společností pro alternativní metody (European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM)).

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

Experimentální terapeutické postupy budou validovány na reprezentativním počtu PDX modelů hematologických malignit (obvykle 4-5 různých PDX modelů). AZ8186 a AZ2014 jsou unikátní patentově chráněné látky (vyvinuté firmou Astra Zeneca), které dosud nebyly testovány na modelech PDX. Ověření proběhlo v databázích vědeckých prací SCOPUS, MedLINE, Web of Science a PubMed, naposledy v květnu 2018.

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

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

Zdravotní stav zvířat a jejich reakce na podané léčivo bude sledována v průběhu experimentu od okamžiku aplikace až do ukončení experimentu. V případě pozorování negativních změn u laboratorního zvířete bude pokus ukončen a zvíře usmrceno. Experimentální léčba na myších modelech založených na xenotransplantaci primárních lymfomových buněk (tzv. patient-derived xenografts) představuje uznávanou preklinickou alternativu k léčbě pacientů s daným typem nádorového onemocnění. Podkožní modely lymfomů jsou (ve srovnání se systémovými modely diseminovaných lymfomů založenými na intravenózní xenotransplantaci lymfomových buněk) pro myši šetrnější, neboť nevedou k hubnutí, alternaci celkového stavu či pre-terminální paralýze.