

NETECHNICKÉ SHRNUTÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Nové imunoterapeutické postupy u maligních lymfomů využívající novou monoklonální protilátku anti-CD38 daratumumab na myších modelech

Doba trvání projektu pokusů do 31.12.2019

Klíčová slova - maximálně 5 imunoterapeutické postupy, maligní lymfom, daratumumab

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

<input checked="" type="checkbox"/>	základní výzkum
<input 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 navrhovaného projektu je komplexní testování protinádorového účinku daratumumabu u CD38+ ne Hodgkinových lymfomů vycházejících z B-lymfocytů (B-NHL), a to in vivo na PDX (patient-derived xenograft) myších modelech B-NHL, které jsme odvodili na ústavu patologické fyziologie 1.LF UK. Při koncipování předkládaného projektu jsme vycházeli ze skutečnosti, že v případě návratu (relapsu) lymfomu není pacient nikdy léčen stejnou kombinací cytostatik, nicméně téměř ve všech případech (s výjimkou klinických studií) jsou pacienti opakovaně léčeni „stejnou“ anti-CD20 protilátkou rituximab. Řada pacientů po selhání léčby 1.linie vykazuje navíc poruchy v expresi CD20 antigenu. Pomocí myších modelů B-NHL bychom rádi ověřili hypotézu, že u pacientů s návratem B-NHL a poruchou exprese CD20 je smysluplné použít monoklonální protilátku s jinou afinitou, konkrétně anti-CD38 daratumumab, který byl schválen v léčbě mnohočetného myelomu, ale u B-NHL nebyl dosud testován. Místo pacientů využijeme myši PDX modely odvozené od pacientů s B-NHL při diagnóze či po selhání léčby založené na rituximabu. Kromě aplikace monoklonálních protilátek (anti-CD20 rituximab, anti-CD38 daratumumab) testovaným zvířatům, jehož výsledkem je zejména navození cytotoxicity navozené komplementem (CDC), neboť imunodeficientní myši nemají lymfocyty, budeme testovat také protilymfomový účinek současné aplikace protilátek a ex vivo pomnožených NK-buněk získaných od zdravých dárců- výsledkem této kombinace bude navození cytotoxicity závislé na buňkách (ADCC), neboť NK buňky představují hlavní efektorové buňky, které ADCC zprostředkovávají. NK buňky budou podány intravenózně (do ocasní žíly) a jejich migraci do místa rostoucího lymfomu budeme testovat jednak pomocí průtokové cytometrie (analýza buněčné suspenze xenotransplantátu), jednak pomocí imunohistochemické analýzy myších xenotransplantátů fixovaných ve formolu a zalitých do parafinu. Jako kontrolu k terapeutickými monoklonálními protilátkám budou kontrolní skupině myši podávány polyklonální imunoglobuliny (např. přípravek Flebogamma, v dávce 10mg/kg, 3 x týdně i.p.).

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)

Preklinické zdůvodnění pro design klinické studie fáze 2 testující účinek daratumumabu a rituximabu a jejich možný synergismus, případně kombinace s využitím NK-buněk u pacientů s B-NHL.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Ve studii plánujeme použití samic imunodeficientních myši NOD-Rag1null IL2rynull (tzv. NSG myši, NOD-SCID-gamma) ve věku 8-16 týdnů v celkovém počtu 200 myši za rok trvání projektu. Uvedené myši jsou vhodným modelem pro xenotransplantace lidských nádorů včetně hematologických malignit.

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

Míra závažnosti pokusů střední. Po skončení pokusu budou myši usmrceny cervikální dislokací. Kadavery budou odvezeny k likvidaci firmou ASAVET. U myši lze očekávat příznaky vyvolané infiltrací jednotlivých myších orgánů lidskými lymfomovými buňkami. V pokročilém stupni rozvoje lymfomu u myši očekáváme obecné příznaky od neprospívání a hubnutí po terminální paralýzu.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

V současné době neexistuje jiný preklinický způsob ověření in vivo účinnosti nových monoklonálních protilátek kromě pokusů v rámci klinických studií fáze 1-2. V současné době neexistuje rovnocenný alternativní relevantní systém pro test nových protinádorových látek v živém organismu, proto je nutno použít laboratorní myši. 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: Vysvětlíte, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

Experimenty jsou plánovány tak, aby byl zajištěn minimální počet zvířat pro pilotní ověření funkce a biologické aktivity zkoumané léčebné látky.

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlíte 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.

Experimenty budou prováděny v souladu se zákonem a s ohledem na maximální welfare zvířat. Analgetika nelze použít z důvodu možného ovlivnění výsledku pokusu. Během experimentu bude sledována velikost nádorů a zdravotní stav zvířat - v případě neuspokojivého zdravotního stavu zvířete bude pokus ukončen a zvíře usmrceno.