

**NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ**

**Název projektu pokusů**

Studium selektivních inhibitorů proteinů Chk1 a DOT1L na buňkách lidských leukémií a lymfomů transplantovaných do myšního kmene NOD/SCID IL2R $\gamma$ -null

**Doba trvání projektu pokusů**

do 10/2022

**Klíčová slova - maximálně 5**

leukémie, MEC-1, kinázové inhibitory, fludarabin

**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)**

Podstata projektu spočívá v ověření potenciálního protinádorového účinku inhibice proteinu *checkpoint kinase 1* (Chk1) a histonových metyltransferáz v myším modelu. Testování bude prováděno na (a) permanentních buněčných liniích odvozených z leukémií a lymfomů a (b) primárních buňkách (klinických vzorcích) vybraných leukémií a lymfomů. Ověřován bude účinek selektivních inhibitorů, a to samostatně (jako „single-agent“) a v kombinaci s chemoterapií.

**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)**

Testování základních selektivních inhibitorů umožní ověřit jejich potenciální využitelnost u pacientů s leukemickým onemocněním. Jelikož tyto inhibitory vykazují v testech *in vitro* pozitivní výsledky, a to jak u lymfoidních buněčných linií, tak i u primárních kultur CLL a lymfoidní malignity by měly být dle literatury citlivé k inhibici proteinu Chk1 a metyltransferázy DOT1L, je nutné tento přístup otestovat v systému *in vivo*.

**Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá**

Bude využit imunodeficientní myš kmen, u něhož jsme předem ověřili účinnost a reprodukovatelnost xenotransplantace buněčné linie MEC-1. V našich experimentech počítáme s využitím maximálně 300 laboratorních zvířat v průběhu 4 let.

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

Máme ověřeno, že nežádoucí účinky vznikající po samotné xenotransplantaci linie MEC-1 se projevují až od 4. týdne po aplikaci. Experimenty jsou naplánovány tak, aby nepřesáhly tuto dobu. Koncentrace zmíněných inhibitorů a fludarabinu budou finálně použity tak, aby měly co nejmenší dopad na fyziologii a chování laboratorních zvířat. Celkově je tedy v projektu počítáno se střední závažností experimentů. Po ukončení pokusů budou vždy všechna laboratorní zvířata humánně utracena.

**Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)**

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

Navrhované schéma pokusu nelze nahradit jiným modelem, ani nelze provést v podmínkách *in vitro*, neboť potřebujeme otestovat účinnost inhibitorů v rámci celého organismu. Pro terapeutickou účinnost bude totiž klíčová mj. metabolická stabilita inhibitorů v komplexních tkáních a také jejich pronikání do orgánů zasažených leukémií (resp. v našem modelu leukemickými buňkami). *In vivo* model je nezbytným předpokladem pro další postup směrem ke klinickému testování obou inhibitorů.

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

V každé pokusné skupině bude použit pouze nezbytný počet zvířat nutných 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.

Se zvířaty bude po celou dobu experimentů zacházeno tak, aby se minimalizovala míra jejich utrpení. V případě identifikace jakéhokoliv typu utrpení (např. úraz jiným zvířetem) bude takový jedinec bezodkladně utracen. Veškeré práce budou prováděny vždy jen pracovníky s odpovídající kvalifikací.