

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Nové terapeutické a prediktivní cíle u non-Hodgkinských lymfomů na základě charakterizace molekulárních interakcí při vzniku signálu na B-buněčném receptoru.	
Doba trvání projektu pokusů	1.1.2019 - 31.12.2021
Klíčová slova - <i>maximálně 5</i>	maligní lymfom, B-buněčný receptor, signalizace, experimentální terapie
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
<input type="checkbox"/>	základní výzkum
<input checked="" 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)	
Inhibice signalizace z B-buněčného receptoru je jednou z nových strategií léčby non-Hodgkinských lymfomů vzniklých z B-lymfocytů. Naše a další publikované studie popsaly závislost vybraných typů B-buněčných non-Hodgkinských lymfomů, vzniklých z B-lymfocytů, na aktivní a bazální signalizaci B-buněčného receptoru (B-cell receptor, BCR). Popsali jsme také, že vybrané lymfomy jsou závislé na fosforylaci tyrosinu 188 BCR ko-receptorové molekuly CD79A. Avšak podobně jako u normálních B-lymfocytů, nejsou zásadní detaily signalizace B-buněčného receptoru u lymfomů zcela popsány, zejména kinázy a relevantní motivy v CD79A/B koreceptorových molekulách nezbytné pro iniciaci signálu. Dále také nejsou známy nádorové charakteristiky signalizace z B-buněčného receptoru využitelné pro diagnostickou predikci odpovědi na léčbu pomocí jeho inhibitorů, či změny signalizace s rozvojem rezistence. Cílem plánované studie je popis těchto molekulárních interakcí u lymfomů se zaměřením na potenciál jejich využití v léčbě lymfomů jako terapeutické cíle či v predikci odpovědi na dostupné specifické inhibitory. Konkrétní cíle zahrnují popis kinázy či kináz nezbytných pro aktivaci bazální BCR signalizace pomocí testování významu kandidátních kináz (zejména z rodiny Src tyrozinových kináz) pro bazální a aktivní signalizaci BCR (pomocí CRISPR/Cas9 screeningu), detailní popis kritických motivů ko-receptorových molekul BCR komplexu (CD79A a CD79B) a dalších charakteristik BCR signalizace potenciálně spojených s rozvojem rezistence či predikci odpovědi na specifickou inhibici BCR. Výsledky získané analýzou na modelových buněčných liniích budou ověřeny na myších modelech.	
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)	
Navrhovaná studie má velký potenciál jak z hlediska popisu a ověření nových a vysoce specifických terapeutických cílů tak i metod predikce odpovědi na stávající léčbu.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
BALB/c myši umožňují posuzovat růst A20 nádorových buněk za přítomnosti normálního imunitního systému. Po dobu trvání projektu předpokládáme spotřebu max. 70 BALB/c myši (samice), ve věku 5 – 16 týdnů. Imunodeficientní NSG (NOD-SCID-gamma) myši mají deficit imunity, což umožňuje přihojení (xenotransplantaci) lidských lymfomových buněk nebo lidských nádorových linií v myším organismu. Pro dobu trvání projektu předpokládáme spotřebu max. 180 myši (samice) ve věku 5 – 16 týdnů.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Míra závažnosti pokusů střední. U myši lze očekávat pouze místní příznaky vyvolané podkožním růstem nádoru. Kadavery budou odvezeny k likvidaci firmou ASAVET.	
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 rovnocenný alternativní relevantní systém pro provedení navrhovaných experimentů a posouzení růstu nádorových buněk a jejich vlastností v živém organismu. Testování v buněčných kulturách je příliš vzdálené normálnímu prostředí růstu nádorových buněk a neumožňuje adekvátní experimentální posouzení k možnosti skutečné léčby nádorů. 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.	
Počet zvířat ve skupině vychází z předchozích zkušeností a kvalifikovaného odhadu je volen tak, aby byl dostatečný k předpokládanému statistickému zpracování a zároveň nebylo používáno více jedinců než je absolutně nezbytné. V pilotní fázi bude experimentální strategie ověřena na malém počtu jedinců a cílem eliminovat nutnost opakování pokusů.	
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.	
Experimenty budou prováděny v souladu se zákonem a s ohledem na maximální welfare zvířat při dodržení všech etických	

principů chovu laboratorních zvířat. Myši budou denně kontrolovány a bude sledován jejich celkový stav a velikost nádoru. Myši budou usmrceny pokud budou vykazovat celkové klinické symptomy nádorového onemocnění, známky utrpení či bolesti, či velikost nádoru dosáhne 2 cm.