

Vyplňujte jen bílé kolonky!

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

NETECHNICKÉ SHRNTÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Vícetupňová inhibice PI3K-AKT-mTOR signální dráhy v experimentální terapii maligních lymfomů (Multilevel inhibition of PI3K-AKT-mTOR signalling pathway in experimental therapy of malignant lymphomas)	
Doba trvání projektu pokusů	do dubna 2019
Klíčová slova - maximálně 5	PI3K, mTOR, maligní lymfom, PDX, experimentální terapie
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)	
<p>Myší modely založené na xenotransplantaci primárních lymfomových buněk do imunodeficientních myši (tzv. patient-derived xenografts, PDX) se v posledních několika letech staly standardem testování či ověřování preklinických experimentálních léčebných postupů v hematologii. PDX modely mají řadu nesporných výhod oproti buněčným liniím, neboť umožňují testování účinnosti experimentální látky na růst a šíření lymfomu a in vivo testování zahrnuje řadu klíčových parametrů (vztahy s mikroprostředím, hypoxie, metabolické změny, farmakokinetika), které v in vitro systémech testovat nelze. Maligní ne Hodgkinovy lymfomy představují nejčastější typ hematologických malignit na západní polokouli. U části pacientů se nedaří lymfom vyléčit za použití standardních léčebných postupů, což vyžaduje testování nových protilymfomových látek. Signální dráha PI3K (phosphatidyl-inositol-3-kinase) – AKT (kináza AKT) – mTOR (mammalian target of rapamycin) hraje klíčovou roli v přenosu signálů přežití z mikroprostředí, B-buněčného receptoru, integrinů a řady receptorových tyrozin-kináz do nitra buňky. Dráha PI3K-AKT-mTOR hraje klíčovou roli v onkogenní signalizaci maligních B-lymfocytů a v jejich metabolickém přeprogramování směrem k anaerobní glykolýze. Látka AZD8186 je vysoce selektivní inhibitor beta a delta podjednotek PI3K kinázy. Na základě in vitro dat (testování na lymfomových buněčných liniích) bylo zjištěno, že látka AZD8186 vykazuje u většiny testovaných maligních lymfomů významný protinádorový synergismus s vysoce selektivním inhibitorem mTOR proteinu AZD2014. Hlavním cílem projektu je ověřit synergismus mezi látkami AZD8186 a AZD2014 in vivo - na vybraných myších PDX modelech maligních lymfomů se zaměřením na difuzní velkobuněčný B-lymfom. PDX modely představují dle dnešních znalostí in vivo modely s vysokou relevancí pro případné použití testovaných látek na pacientech v raných fázích klinických studií.</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 ověření protinádorového synergismu mezi inhibitorem PI3K (beta-delta) AZD8186 a inhibitorem mTOR AZD2014 jako základ pro koncipování časných klinických studií u pacientů s maligními lymfomy	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
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) lidských lymfomových buněk v myším organismu. Pro dobu trvání projektu (po dobu 1 roku od schválení projektu pokusů, cca do dubna 2019) předpokládáme potřebu max. 210 myši (dospělých samic).	
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 příznaky vyvolané růstem lymfomu ve formě podkožního tumoru. Myši budou usmrceny zlomením vazů. Kadávery budou odvezeny a likvidovány kafilérií firmou.	
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 a toxicity nových protinádorových látek 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: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Počet zvířat ve skupině vychází z našich předchozích zkušeností a je volen tak, aby umožnil kvalitní a podložené statistické zpracování, ale přitom nebyla zvířata k pokusům používána ve větším počtu, než je nezbytné. Maximální možné redukce počtu zvířat je tudíž dosaženo přesným plánováním experimentů a jejich event. spojením, kde se využije společná kohorta neléčených zvířat pro jinak dva různé experimenty.	
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 akreditovaném zvířetníku 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.