

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Experimentální terapie agresivních lymfomů založená na kombinované léčbě BH3 mimetiky na myších modelech

Doba trvání projektu pokusů v měsících	40
Klíčová slova	maligní lymfomy
experimentální terapie	BH3 mimetika
apoptóza	BCL2

Účely projektu pokusů

Translační a aplikovaný výzkum: Rakovina u lidí [PT21]

0
0
0

Cíle projektu pokusů

Cílem práce je in vivo confirmace protinádorové účinnosti BH3 mimetik venetoklaxu, A1155463 a jejich kombinace v experimentální terapii vybraných hematologických malignit na myších PDX modelech (patient-derived xenograft), konkrétně agresivních lymfomů a akutních leukémií. Dalším cílem projektu je analýza molekulárních mechanismů rezistence na venetoclax a možnosti jeho překonání. Projekt představuje náražku studie fáze 2 na pacientech, jedná se "myší" studii fáze 2 za použití dostatečného množství PDX modelů odvozených od pacientů po selhání standardních léčebných postupů. Předpokládáme tudíž značnou relevanci výsledků myších experimentů s případnou léčbou lidských subjektů.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Navržené experimenty povedou k ověření předpokládaného protinádorového účinku inovativní cílené léčebné kombinace a odhlední molekulárních mechanismů zodpovědných za rozvoj rezistence. Pro účely dalšího vývoje těchto látek jako potenciálních protinádorových chemoterapeutik a zejména pro možnost společného vývoje s komerční sférou a případnou komercializací je nezbytné prokázat účinnost vyvíjených inhibitorů v racionálně zvolených zvířecích modelech nádorových onemocnění. Výsledky mohou přispět k rozvoji nových terapeutických přístupů v onkologii.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Jednorázová podkožní aplikace leukemických či lymfomových buněk. Léčba myší s etablovanými tumory: 3 týdny. Léčebné postupy: venetoclax (100mg/kg per os D1-D4, D8-D11, D15-18), A1155463 (5mg/kg i.p. D1-D4, D8-D11, D15-18), resp. jejich kombinace. Chirurgické zákroky nejsou plánovány.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata, a doba trvání těchto účinků

Podkožní aplikace leukemických buněk je spojena s jejich růstem v podobě podkožního tumoru. Vzhledem k tomu, že experiment bude ukončen v okamžiku, kdy maximální rozměr tumoru dosáhne 2 cm, není růst takto malého tumoru v podkoží spojen s bolestí, diskomfortem či hubnutím experimentálních zvířat. Aplikace všech léčiv v plánovaných dávkách je pro pokusná zvířata netoxická.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
	Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
myš laboratorní (Mus musculus) [A1]	0	0	870	0

0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi				
Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat			
	Opětovné použití	Navrácení do chovu, do přírodního stanoviště	Do zájmového chovu	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty				
Všechna zvířata budou na konci experimentu utracena. Jejich opakované použití není možné.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Pro plánované experimenty byl vybrán kmen imunodeficientních myší, který umožňuje xenotransplantaci leukemických buněk a následnou léčbu myší pomocí experimentálních léčebných postupů. V současné době neexistuje jiná metoda, která by umožnila preklinické in vivo testování (ověření) účinnosti nových protinádorových látek před tím, než budou testovány v rámci klinických studií na pacientech. Většinu protinádorových léčiv 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				
Počty pokusných zvířat a jejich rozdělení do skupin budou navrženy tak, aby minimalizovaly jejich počet a zároveň umožnily získat statisticky průkazná data. Pro experimenty se zvířaty budou vybrány 1-3 připravené inhibitory, které budou mít co nejvyšší účinnost v předcházejících buněčných modelech in vitro. Omezeně účinné inhibitory nebudou zvířatům podávány. Navrhované sloučeniny nebyly dosud testovány in vivo. Ověření proběhlo v databázích vědeckých prací (Pubmed, Scifinder CAS, Patent Scope) naposledy v červnu 2021. Tumory a vybrané orgány z pokusných myší budou zamrazeny za účelem využití pro případné translační výzkum, aby nemusely být pokusy z těchto důvodů opakovány. Celkový plán počtu použitých pokusných zvířat je stanoven s ohledem na rozsah a nutnost opakování z důvodu heterogenity fenotypu použitého kmene, individuální odezvy na xenotransplantaci lidských nádorových buněk i z důvodu nutnosti opakování následných in vitro analýz. Jednotlivé pokusy budou probíhat striktně v souladu s dodržováním pravidla 3R a experimentální zvířata budou vydávána jen proti platnému projektu pokusu.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
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. Xenotransplantace lidských krevetvorných buněk je pro imunodeficientní myši netoxická. Experimentální léčba na myších modelech založených na xenotransplantaci primárních leukemických buněk představuje uznávanou preklinickou alternativu k léčbě pacientů s daným typem nádorového onemocnění. Podkožní tumory jsou (ve srovnání se systémovými modely diseminovaných nádorů založenými na intravenózní xenotransplantaci leukemických buněk) pro myši šetrnější, neboť nevedou k hubnutí, alternaci celkového stavu či pre-terminální paralýze.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

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) jsou deficientní v T, i v B buněčné imunitě a navíc vykazují poruchy nespecifické imunity, což umožňuje připojení (xenotransplantaci) lidských leukemických buněk v myším organismu. Pro tento projekt předpokládáme spotřebu max. 1070 myší (dospělých samic) za > 3 roky trvání projektu.