

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Ověření profylaktického účinku imunoregulačních nanopreparátů na průběh infekce SARS-CoV-2 u hACE2 transgenních myší.

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

36

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

SARS-CoV-2, imunoregulační nanopreparáty, hACE2 transgenní myši

Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností

☐ základní výzkum

☒ translační a aplikovaný výzkum

☐ kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)

☐ legislativní účely jiné zkoušení účinnosti a tolerance

☐ a běžná výroba zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie

☐ běžná výroba

☐ ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat

☐ zachování druhů

☐ vyšší vzdělávání

☐ odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí

☐ trestní řízení a jiné soudní řízení

☐ udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech

Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb

Ověření léčebných účinků připravených imunoregulačních nanopreparátů na rozvoj nemoci a závažnost poškození plicní tkáně u transgenních myší s lidským ACE2 (hACE2) infikovaných virem SARS-CoV-2.

Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)

Potenciálním přínosem navrhovaného projektu je příprava optimalizovaného nanopreparátu, který by zmírnil poškození orgánů virem SARS-CoV-2 nebo zastavil rozvoj virové infekce aktivací přirozené a následně adaptivní imunitní odpovědi. Průběh nemoci a patologické změny orgánů u experimentálního modelu transgenních hACE2 myší je analogický klinickým změnám u lidí, a tudíž lze předpokládat využití získaných výsledků v humánní medicíně.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání

1x a 3x celková anestezie Avertinem (injekční aplikace intraperitoneálně; i.p.) – cca 30 min

V této anestezii

1x infekce SARS-CoV-2 (intranazálně pipetou)

1x a 3x intranazální podání nanopreparátů

1x anestezie inhalační na závěr pokusu – humánní utrácení pokusných zvířat předávkováním inhalačním anestetikem

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků

Dopady na zvířata budou minimalizovány prováděním všech zákroků v celkové anestezii.

Předpokládané projevy infekce SARS-CoV-2:

ztráta hmotnosti, zvýšená teplota a zjevení srsti, nečinnost/snížená hybnost – postupná progresse až do poklesu hmotnosti o více než 25% původních hodnot či výrazného snížení hybnosti, kdy budou myši humánně utráceny předávkováním inhalačním anestetikem. Předpokládaná doba infekce 5-10 dnů. Po 14-21 dnech budou všechna přeživší pokusná zvířata humánně utrácena.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu					
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabu de vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	K18-hACE2: 36-42/ 1 pokus Opakování max. 5x			K18-hACE2: 36-42/ 1 pokus Opakování max. 5x	
Myš laboratorní (Mus musculus)	AAV-hACE2: 36-42/ 1 pokus Opakování max. 6x			AAV-hACE2: 36-42/ 1 pokus Opakování max. 6x	
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					0
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					0
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					0
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - <i>uved'te</i>					
N/A					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - <i>uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>					
V současné době neexistuje rovnocenný alternativní relevantní systém pro testování léčebných postupů proti SARS-CoV-2 v živém organismu, proto je nutno použít laboratorní myši.					
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlíte, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).</i>					
Experimenty jsou plánovány tak, aby byl zajištěn minimální počet zvířat pro získání statisticky hodnotitelných výsledků (skupiny po 4-6 zvířatech), minimálně ve třech opakováních. Imunitní odpověď bude nejdříve otestována na zdravých myších (jiný projekt pokusů) a vybraná kombinace jednotlivých složek nanopreparátu aplikována infikovaným myším.					
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uved'te příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu</i>					
Experimenty budou prováděny v akreditovaném zvířetníku v souladu se zákonem a s ohledem na maximální pohodu zvířat. V průběhu pokusů nepředpokládáme vznik bolestivých stavů. Analgetika nebudou používána. Během experimentu bude sledován stav zvířat. Při poklesu váhy pod 25% výchozí váhy nebo při závažných změnách hybnosti budou myši humaně utraceny předávkováním inhalačním anestetikem.					
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
SARS-CoV-2 infikuje lidské buňky pomocí vazby na lidský ACE2 (hACE2), který slouží jako jeho receptor. Vstup do myších buněk pomocí vazby na myší ACE2 je mnohem méně účinný. Proto je nutné použít myši transgenní, které exprimují hACE2. Budou použity 2 dostupné myší modely, které se liší distribucí hACE2 a SARS-CoV-2 v organismu. Bude v nich porovnávána patogeneze a efekt studovaných preparátů. Budou to: Myš laboratorní transgenní pro lidský ACE2 (K18-hACE2) a myš laboratorní transdukováná AAV-hACE2 Stáří 6 týdnů až 6 měsíců					

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nespecifikovaného savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech