

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ 18/2020

Název projektu pokusů

GENOVÁ TERAPIE HUNTINGTONOVY NEMOCI – KOMPARATIVNÍ PREKLINICKÁ STUDIE NA TRANSGENNÍCH MINIPRASTECH

Doba trvání projektu pokusů Od schválení do 31. 12. 2021,

Klíčová slova - *maximálně 5* genová terapie, stereotaktická aplikace, mozek, miniprase

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)

Cílem je tedy provést studii na 9ks transgenních miniprasat (TGHD), exprimujících N-terminální fragment lidského mutovaného huntingtinu, kterým budou intratekálně nebo stereotakticky intrastriatálně (obě hemisféry) aplikovány testované AAV vektory, které jsou již v současné době testovány pro terapii onemocnění u lidí. Experiment spočívá v ustájení experimentálních zvířat a monitorování průběhu modelové terapie a odběru vzorků pro analýzu před a po vlastní aplikaci AAV vektorů.

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)

Pro klinické testování nové genové terapie Huntingtonovy nemoci lidí je nutné otestovat efektivitu a bio-distribuci terapeutických vektorů a exprimovaných molekul (mHtt, miRNA, reporterové sekvence) v CNS a periferních orgánech v preklinickém experimentu na velkém zvířecím modelu. Pro monitorování klinické studie snižování huntingtinu (HTT) se používá detekce mutovaného huntingtinu (mHTT) v mozkomíšním moku (CSF). V případě, kdy se terapie aplikuje intrastriatálně, může být takovéto monitorování zavádějící. Z tohoto důvodu cílem této preklinické studie je aplikovat terapeutikum (AAV-miRNA-HTT) na snížení mutovaného huntingtinu intratekálně (3 TGHD miniprasata) a intrastriatálně (3 TGHD miniprasata) a porovnat snížení mHTT v mozku a v CSF. 3 TGHD miniprasata budou použita jako kontrolní.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Miniaturní prasata obou pohlaví, váhová kategorie 50-100kg v množství 9ks + 2 ks rezervní.

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

Nejsou očekávány závažné nežádoucí účinky u zvířat. Klasifikace závažnosti je střední z důvodu stereotaktické intrastriatální/intratekální aplikace v celkové anestezii, injekční sedace za účelem opakovaného odběru žilní krve a CSF lumbální punkcí. Zvířata budou na konci projektu usmrcena za účelem získání tkání pro biochemické a histologické analýzy.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

K tomu, aby mohly být nové formy léčiv zavedeny do běžné klinické praxe, je nutné provést studii na relevantním velkém experimentálním modelu. Výsledky experimentu na praseti jsou aplikovatelné pro lidské subjekty. Obdobná studie doposud nebyla na miniprasatech provedena. S ohledem na charakter studie (účinnost a bio-distribuce) a nutnou blízkou anatomickou a fyziologickou příbuznost je použití laboratorního zvířete (miniaturní prase) nezbytné a nelze nahradit žádnou alternativní metodou.

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

Ve studii bude použito 9 + 2ks miniprasat. Uvedený počet zvířat (3ks/skupina) představuje minimum pro získání primárních a bio-distribučních dat a variabilní odpověď prasat/miniprasat po aplikaci nové formy léčiva pro terapii neurodegenerativního onemocnění u lidí.

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 vykonávány v minimální možné míře pro získání primárních farmakokinetických a bio-distribučních dat a především z důvodu nejmenšího možného ovlivnění klinického obrazu experimentálními postupy. Veterinární zákroky (odběry žilní krve a CSF, sedace) představují opakovaný střední a krátkodobý stress pro zvířata. Při jakémkoliv zhoršení zdravotního stavu budou zvířatům podávána analgetika – Vetalgín, Flunixin, Tramal nebo Fentanyl (i.m.) nebo budou bezodkladně utracena.