

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 0.44/2015

Název projektu pokusů

R6/2 model Huntingtonovy choroby

Doba trvání projektu pokusů 5 let

Klíčová slova - maximálně 5 Huntingtonova choroba, zvířecí model, neurodegenerace, nestabilita tripletů.

Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka

X	základní výzkum
X	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)

Hlavním cílem studie je založení a udržování chovu R6/2 myši, které budou používány pouze k odběru tkání pro účely srovnávací studie se vzorky pacientů s Huntingtonovou chorobou.

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)

Navrhovaný výzkum přináší klíčové poznatky využitelné v klinické medicíně. Budou popsány změny v počtu tripletů v somatických buňkách mozku a dalších tkání myši a člověka. Budou popsány změny v O-GlcNAc modifikacích na pozadí HD a jejich vliv na mitochondrie. Budou identifikovány oligomery, monomery mutovaného huntingtinu a jejich vazebných partnerů v primárních buňkách pomocí hmotnostní spektrometrie. Budou charakterizovány protein-protein interakce huntingtinu a jejich biochemické efekty v primárních buňkách mozku, svalu, dermálních fibroblastů, testes a samčích zárodečných buněk.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Laboratorní myši R6/2 linií v počtu max. 400 zvířat nesoucích transgen za rok.

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

R6/2 linie se vyznačují velmi časným nástupem fenotypu, který rychle progreduje a vede k předčasnému úmrtí jedince. Z důvodu získání terminálních stadií vývoje onemocnění, budou některá zvířata usmrcena až po dosažení věku 9-20 týdnů, kdy se plně rozvinou neurologické potíže, kachexie atd. V této době dochází k předčasným úmrtím. Míra závažnosti pokusu je „závažná“. Většina zvířat však bude usmrcena před nebo těsně po nástupu prvních příznaků onemocnění, především v období 0 – 12 týdnů, které je předmětem studia.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Veškeré pokusy budou prováděny in vitro na odebraných tkáních a buňkách získaných z usmrcených zvířat. R6/2 myši slouží jako standardizovaný hlodavčí model Huntingtonovy nemoci. Sledování a porovnání neuroanatomických změn mozku, ale i jiných orgánů nelze v takovém rozsahu dosáhnout jinak než s využitím zvířecího modelu. Alternativní metody, jako tkáňové kultury, nepostihují složitost zkoumané problematiky, především anatomické změny mozku, a proto nemohou nahradit navrhované pokusy.

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

Uvedený počet zvířat je nezbytný pro možný variabilní průběh onemocnění a k udržení kolonie myši. Ze zvířat budou odebrány vzorky vícero orgánů a tkání, které budou sdíleny s několika vědeckými pracovišti. V průběhu studie budou průběžně vyhodnocována data a v případě dosažení statistické významnosti již v jejím průběhu budou počty chovných zvířat redukovány na reprodukční minimum.

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.

Odběry tkání budou provedeny buď v hluboké anestezii nebo post mortem. Odběry biologického materiálu budou vykonávány v minimální možné míře pro uspokojení statistických potřeb experimentu a s ohledem na zdravotní stav experimentálních zvířat. Plánujeme odebírat vzorky jak z období před nástupem, tak i z období plně rozvinutých příznaků.