

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 59/2020

upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Hodnocení a validace kombinované léčby založené na DNA vakcínách pro chronickou hepatitidu B v neinfekčním myším modelu

Doba trvání projektu pokusů - v měsících 06/2020 – 05/2023

Klíčová slova - *maximálně pět 1)* chronická hepatitida B, neinfekční in vivo model, DNA vakcíny, kombinovaná terapie

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

Cílem předkládaného projektu pokusů je nalezení efektivní léčby chronické hepatitidy B (cHBV) na základě aktivace imunitního systému. Bude vyhodnocen potenciálně synergický účinek kombinované imunoterapie založené na anti-HBV DNA vakcínách s cyklickými dinukleotidy (CDN) popř. prolátkami jako adjuvans, alternativně kombinace s terapeutickými protilátkami.

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)

Vzhledem k preklinickému testování pomocí ustanoveného in vivo modelu přispějí získané poznatky k porozumění mechanismu účinku látek a detailnějšímu pochopení specifické imunitní odpovědi v patofyziologii cHBV. Dále předpokládáme, že nejúčinnější anti-cHBV terapie by mohla postoupit do klinických studií.

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

Testování terapií: indukce modelu pomocí hydrodynamické injekce (ocasní žíla), opakované odběry v mírné anestezii (ocasní žíla, popř. retroorbitální odběr krve), aplikace potenciálních terapeutik (intravenózně, intraperitoneálně, intradermálně) a elektroporace DNA. Operace nebudou v průběhu experimentu prováděny.

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

Navrhovaná míra závažnosti je střední. Celkově mírný stres a bolestivost vpichu jehly při odběrech z ocasní žíly. Onemocnění cHBV probíhá latentně a nemá vliv na běžné fyziologické funkce zvířat a kvalitu života. Po ukončení pokusu budou zvířata usmrcena.

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

Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhado- vaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	3000			x	
Zvolte položku.					
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>uvedte</i>	
Uplatňování 3R	
Nahrazení používání zvířat - <i>uvedte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>	
Pokus je prováděn jako součást evaluace anti-HBV imunoterapie v neinfekčním modelu cHBV za účelem vývoje nové, inovativní a perspektivní léčby. Výsledky jsou nenahraditelné, nelze je získat žádným alternativním přístupem.	
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlete, 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>	
Počet zvířat v experimentu je omezen na minimum nutné pro získání dostatečného množství dat pro statistické zpracování výsledků a určení účinků vyvíjené terapie.	
Setrné zacházení se zvířaty - <i>uvedte 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>	
Se zvířaty bude nakládáno v souladu s právními předpisy, personál je proškolený, pracoviště je pravidelně dozorováno. Zvířata budou mít nepřetržitě k dispozici vodu a krmivo. Zdravotní stav zvířat bude kontrolován od počátku experimentů až po usmrcení. Na zvířatech nebudou prováděny operace. Bolestivost bude minimální, pouze vpichy jehly v mírné či celkové anestezii, pravidelné odběry krve a elektroporace DNA.	
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>	
Do studie jsou vybráni samci inbredního kmene C3H/HeN. C3H/HeN kmen je zvolen z důvodů vysoké perzistence HBV ověřené na základě předchozí studie k zavedení neinfekčního cHBV modelu (PP 77/2018). Experiment bude zahájen ve věku myši v rozmezí 4-6 týdnů z důvodu optimální indukce a ustanovení modelu cHBV. Kmeny BALB/c a C57BL/6 jsou zvoleny vzhledem k dostupnosti reagentů pro studium specifické buněčné imunitní odpovědi a v důsledku co nejširšího pokrytí MHC I alel. Testování na těchto kmenech bude probíhat ve věku 6-20 týdnů.	

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