

## NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 93/2019

<b>Název projektu pokusů</b>	
ZQ175 MODEL HUNTINGTONOVY CHOROBY	
Doba trvání projektu pokusů	Od schválení do 31. 12. 2021,
Klíčová slova - <i>maximálně 5</i>	farmakokinetika, intravenózní podání, zQ175, terapie
<b>Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka</b>	
<input checked="" type="checkbox"/>	základní výzkum
<input checked="" type="checkbox"/>	translační nebo aplikovaný výzkum
<input checked="" type="checkbox"/>	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
<input type="checkbox"/>	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
<input type="checkbox"/>	zachování druhů
<input checked="" type="checkbox"/>	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
<input type="checkbox"/>	trestní řízení a jiné soudní řízení
<b>Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)</b>	
Hlavním cílem studie je založení a udržování chovu zQ175 (knock-in linie, KI) myši, které budou průběžně používány k odběru tkání jako standardizovaný hlodavčí model Huntingtonovy nemoci pro účely srovnávací studií.	
Další cíle:	
1.	Porovnání nestability tripletů v somatických buňkách mozkové tkáně myši.
2.	Sledování relativní exprese relevantních DNA reparačních enzymů na úrovni mRNA a proteinu v tkáních a řezech HD myši.
3.	Charakterizovat distribuci nemutovaného a mutovaného huntingtinu na subcelulární úrovni.
4.	Monitoring tvorby agregátů mutovaného huntingtinu u stárnoucích zvířat. Identifikace oligomerů a monomerů a jejich vazebných partnerů v primárních buňkách pomocí hmotnostní spektrometrie.
5.	Genová terapie pomocí nevirového vektoru a CRISPR CAS a siRNA technologie.
6.	Terapie pomocí malých molekul stimulujících obrat proteinů v buňkách.
<b>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)</b>	
Přínosem budou údaje o farmakokinetice a biodistribuci léčivé látky nebo malých molekul v krvi a orgánech na zvířecím modelu, které budou využity v navazujících preklinických a klinických testování nového typu léčiva v terapii Huntingtonovy nemoci lidí.	
<b>Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá</b>	
zQ175 myši obou pohlaví, v množství 400 ks ročně.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Nejsou očekávány nežádoucí účinky u zvířat. Klasifikace závažnosti je střední z důvodu injekčního podání testované látky do CNS. Budou také opakovaně aplikovány testované látky i.p.. Zvířata budou na konci projektu usmrcena za účelem získání tkání pro farmakokinetické, biodistribuční, biochemické a histologické analýzy.	
<b>Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)</b>	
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 experimentálním modelu. Obdobná studie doposud nebyla provedena. S ohledem na charakter studie (farmakokinetika a bio-distribuce) je použití laboratorního zvířete (myši) nezbytné a nelze nahradit žádnou alternativní metodou.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Ve studii bude použito max 400ks myši ročně. Uvedený počet zvířat je nezbytný pro získání primárních farmakokinetických a bio-distribučních dat a variabilní odpověď myši po aplikaci nové formy léčiva.	
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 (intracerebrální aplikace a anestezie) jsou prováděny v celkové anestezii, která bude navozena intraperitoneální jednorázovou nebo opakovanou aplikací směsi [ketamin/ xylazin] případně udržovaná inhalační anestezii pomocí izofluranu (1-2%). Při zhoršení zdravotního stavu nebo známkách bolestivosti bude zvířatům aplikován Flunixin (2,5 mg/kg SC každých 12-24 h) nebo budou okamžitě utracena. Pro zajištění termostability po operaci budou použity vyhřívané podložky. Po skončení zákroku bude zvíře umístěno do blízkosti tepelného zářiče a sledováno do probuzení nebo budou bezodkladně utracena.	