

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Toxikologie a farmakokinetika potenciálních diagnostik a terapeutik u laboratorních myši

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

60

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

toxikologie, farmakokinetika, diagnostika, terapeutika, stárnutí

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

Naše práce je zaměřena na určení toxikologického profilu nových aktivních látek/klinických kandidátů a biomarkerů účinnosti na *in vivo* modelech, ale také na studium farmakokinetiky a farmakodynamiky vybraných radioaktivně značených ligandů pro včasnou diagnostiku, ochorení nebo biologických procesů souvisejících se stárnutím buněk a/nebo organismu jako celku, pomocí zobrazovacích metod (PET/CT). Tomografická vyšetření (PET) umožňují prostorová zobrazení funkčních vlastností jednotlivých tkání a orgánů. S výhodou se využívá kombinace s CT, které detailně vykreslí tvary a strukturu jednotlivých orgánů.

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)

Stanovení toxikologického profilu, farmakokinetiky a farmakodynamiky vybraných radioaktivně značených ligandů nových aktivních látek/klinických kandidátů a biomarkerů účinnosti.

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

V pokusu bude testován nejvhodnější (1) způsob podání; (2) dávka a (3) doba podávání potenciálního léčiva, farmakokinetika.

Maximálně jednorázově podaný objem látky: i.v. - max. 5 ml/kg do laterální ocasní žíly, s.c. - max. 40 ml/kg, i.p. - max. 2 ml, i.m. - max. 0,03-0,05 ml na stranu, r.o. - max. 200 µl (maximálně 2-krát do jednoho očního splavu s denním odstupem), p.o. - max. 10-20 ml/kg. Výše uvedené aplikace nevyžadují anestezii ani tlumení bolesti, jedná se o běžnou injekční aplikaci s dodržением zásad sterilní aplikace s výjimkou retroorbitálního podání (r.o.), které se vykoná v celkové inhalační anestezii.

Perorální aplikaci může předcházet (a) hladovění: laboratorní myš – 4 hodiny; a (b) restrikce krmiva po aplikaci: zvířata zůstávají 3 - 4 hodiny bez potravy po perorální aplikaci testované látky. Případné větší objemy budou aplikovány frakcionovaně po dobu 24 hodin. Studované látky budou pokusným zvířatům podávány ve formě izotonických roztoků s fyziologickým pH.

U experimentů s radioaktivně značenými látkami budou pokusným zvířatům jednorázově i.v. podávány radioaktivně značené látky o objemech max. 5 ml/kg do laterální ocasní žíly nebo max. 200 µl retroorbitálně. Studované látky budou pokusným zvířatům podávány ve formě izotonických roztoků s fyziologickým pH v maximálně µg množstvích.

Čestnost podání:

a) v případě i.v., i.m. a p.o. aplikace maximálně 1x denně po dobu 5 dní, poté bude následovat minimálně 2 denní přestávka,

b) v případě s.c. a i.p. aplikace maximálně 2x denně po dobu 5 dní, poté bude následovat minimálně 2 denní přestávka.

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

Očekávané nežádoucí účinky u zvířat: úbytek hmotnosti (max. 7 dní), zvýšená tělesná teplota (max. 7 dní), apatie (max. 7 dní), krátkodobá mírná bolest způsobená vpichem jehly nebo zaváděním žaludeční sondy (pár sekund).

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)	1800				1800
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 - uveďte	
N/A	

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu

Alternativní metody pro ověření bezpečnosti aktivních látek, které mají stejnou spolehlivost a vypovídací hodnotu jako *in vivo* experimenty, nám nejsou známy a nenašli jsme je ani v možných zdrojích (OECD, EURL ECVAM, European Pharmacopoeia) uvedených v pokynech pro vyplňování žádosti o schválení projektu pokusů. Studium jejich cytotoxické a fotodynamické aktivity, farmakokinetiky a farmakodynamiky, toxicity, biodistribuce a metabolizace v živém organismu nemůže být jinou metodou plně nahrazeno.

Omezení používání zvířat - 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).

Jednotlivé pokusy budou probíhat striktně v souladu s dodržováním pravidla 3R a experimentální zvířata budou vydávána jen proti platnému projektu pokusu. Zvířata budou v kvalitě SPF. Všechny testované látky budou před *in vivo* použitím testované na *in vitro* buněčných systémech. Pro aplikaci zvířatům budou vybrány pouze ty, s prokázaným *in vitro* efektem. Pro omezení množství používaných zvířat se budeme při navrhování pokusu opírat o předchozí *in vivo* experimenty s podobnými látkami, resp. zářením a o informace získané v odborné literatuře:

1. OECD (2002), *Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing*, OECD Series on Testing and Assessment, No. 24, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264078413-en>.
2. OECD (2002), *Test No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264070943-en>.
3. OECD (2008), *Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264071049-en>.

Budeme používat minimální množství zvířat na skupinu, které je nezbytné pro následnou statistickou analýzu: v případě toxikologie a farmakokinetiky obvykle 3-5 zvířat na podskupinu samců a 3-5 zvířat na podskupinu samic, to znamená n=6-10 zvířat na experimentální skupinu.

Šetrné zacházení se zvířaty - uveďte 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

Laboratorní zvířata budou denně monitorována kompetentními odborníky a nebudou cíleně vystavena utrpení. V případě znaků morbidit se zintenzivní četnost kontrol zdravotního stavu zvířat a v případě moribundních znaků budou zvířata z pokusu vyřazena a humánně utracena. Všechny úkony, léčba a eutanázie jsou vykonávány osobami odborně způsobilými pro práci s laboratorními zvířaty majícími příslušné osvědčení, dle zákona č. 246/1992 Sb. v platném znění. V průběhu pokusů bude používána inhalační nebo injekční anestezie a aplikace testovaných látek i.v., i.m., i.p., r.o. nebo s.c. cestou nepřesahující rámec standardní injekční

aplikace látek. Zvířata mohou pociťovat mírnou krátkodobou bolest při vpichu injekční jehly anebo aplikaci gastrické sondy. V případech, kdy zvíře může být vystaveno stresu, může být před a během testu použita sedace. Dané úkony budou konzultovány s veterinárním lékařem a pod kontrolou vedoucího pokusu nebo zástupce vedoucího pokusu.

Použité druhy zvířat - vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií

Jako pokusná zvířata budou používány transgenní myši získané křížením v projektu pokusů „*Studium potenciálních diagnostik a terapeutik Alzheimerovy choroby u laboratorních myší*“, které jsou bez mutace v APP a PS1 genu. Transgenní myši budou použity k validaci a verifikaci výsledků *in vitro* studií.

- 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

