

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569**Název projektu pokusů**

Sledování vlivu potenciálních přírodních antidepresiv na metabolickou aktivitu vybraných biotransformačních enzymů u potkana.

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

36

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

farmakokinetika; cytochrom P450; přírodní látky; interakce

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

Stanovit vliv látek přírodního původu s prokázaným antidepresivním působením na metabolickou aktivitu vybraných biotransformačních enzymů. Přínosem studie bude znalost případných lékových farmakokinetických interakcí zkoumaných látek coby potenciálních léčiv.

Charakteristika aplikovaných látek:

Podávány budou vybrané látky, popř. extrakty přírodních látek obsahující směs níže uvedených účinných látek s anxiolytickým a/nebo antidepresivním účinkem, izolované z rostlin:

*Rozchodnice růžová - Rhodiola rosea - salidosid**Pivoňka bělokvětá- Paeonia lactiflora – paeoniflorin, albiflorin**Škornice krátkorůžkatá - Epimedium brevicornum – Icariin*

Účelem projektu je základní/translační výzkum s cílem zabránit nebo omezit v budoucnu výskyt nežádoucích účinků potenciálních antidepresiv v souvislosti s terapií jinými léčivy z důvodu odlišného způsobu biotransformace.

V rámci experimentu bude u premedikovaných zvířat ověřen antidepresivní účinek testované látky a následně bude sledován vliv na metabolickou aktivitu vybraných forem cytochromu P450 (nejvýznamnější rodina enzymů v rámci metabolismu léčiv).

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)

Poznáním interakčního potenciálu přírodních látek s anxiolytickým a/nebo antidepresivním působením přispěje k bezpečnosti terapie nejen těmito látkami, které již dnes pacienti hojně využívají v samoléčení, ale také přispěje k větší bezpečnosti ostatní zavedené medicíny.

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

Perorální podání testovaných látek, 1x denně intragastrickou sondou po dobu 5-14 dní- dle testované látky, testování antidepresivního efektu validovaným behaviorálním testem (novel object recognition test).

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

Budou testovány látky přírodního původu s již prověřeným antidepresivním účinkem v dávkách, které byly dle literatury již použity. Neočekáváme nepříznivé nebo toxické účinky na zvířata. Látky mají deklarovaný

antidepresivní účinek, neočekáváme tedy snížení hmotnosti ani stres vlivem podané látky. Může se však vyskytnout neobvyklé chování zvířat, popř. mohou látky vyvolat nevolnost a z ní plynoucí mírnou ztrátu hmotnosti nebo zastavení růstu tělesné hmotnosti.

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

Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Potkan laboratorní (Rattus norvegicus)	120		120		
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*

Z principu nelze zvířata opětovně použít, zvířata budou na konci experimentu usmrcena, budou odebrána játra a plná krev pro stanovení vlivu látek na biotransformační enzymy.

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*

Žádnou z alternativních metod (komerčně dostupnou buněčnou linií, in silico matematickým modelem) není možno užití zvířat v plánovaném experimentu plně nahradit. Komplexní účinek léčiv na biotransformační enzymy in vivo není možné studovat na žádné z alternativních metod, neboť tyto neodrážejí složitý systém biochemicko-fyziologických vazeb. V pokusu bude použit jen nezbytný počet pokusných zvířat pro validní statistické vyhodnocení sledovaných parametrů (skupina, n=10). Se zvířaty bude zacházeno tak, aby bylo minimalizováno případné utrpení – zvířatům bude po transportu umožněna dostatečná doba pro adaptaci na nové prostředí, personál pracující se zvířaty manipuluje se zvířaty tak, aby předcházel zbytečnému stresu, při testování nejsou používány pomůcky, které by způsobovaly bdělému zvířeti strach, bolest a utrpení.

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).*

Co nejmenšího počtu zvířat ve skupině bude možno použít díky použití zvířat stejného pohlaví, stáří a hmotnosti. Tato homogenita umožní použít jen maximálně 10 zvířat ve skupině a přesto prokázat případné signifikantní vlivy podávaných látek na biotransformační aktivitu enzymů. Pokus bude prováděn dle schváleného projektu pokusu s maximální pečlivostí tak, aby nebylo nutné pokus opakovat.

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*

Se zvířaty bude zacházeno dle principů 3R. Pokusná zvířata budou umístěna odděleně od místa experimentu. Ke každému jedinci se bude přistupovat jednotlivě s minimalizací bolestivých vjemů při zahájení pokusu. V rámci experimentu nebudou zvířatům prováděny žádné bolestivé výkony, Pokus bude trvat po nezbytně nutnou dobu, usmrcení zvířat ke konci experimentu bude prováděno v celkové anestezii. Pokus bude probíhat v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů a vyhlášky č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat.

Použité druhy zvířat - *vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií*

Laboratorní potkan představuje velmi vhodný model pro studium některých biotransformačních enzymů. Podobný experiment nelze modelovat pomocí počítačových modelů ani nelze tyto interakce komplexně studovat na buněčné úrovni. Podobný pokus na lidských subjektech není v této fázi výzkumu proveditelný. Současně velikost zvířat a jejich orgánů je pro daný typ experimentu vhodný a tento typ experimentů se běžně provádí na laboratorním potkanovi.

- 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