

## NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|---------|---------|
| <b>Název projektu pokusů</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <b>Stanovení profylaktické účinnosti antagonisty NMDA receptoru a jeho kombinace se zvoleným reverzibilním inhibitorem acetylcholinesterázy vůči vybrané organofosforové sloučenině</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| Doba trvání projektu pokusů - v měsících                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |  |                  | 6 měsíců                                                                                                                  |       |         |         |
| Klíčová slova - maximálně pět <sup>1)</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |  |                  | akutní účinek, hodnota LD <sub>50</sub> , antagonist NMDA receptoru, reverzibilní inhibitor aktivity acetylcholinesterázy |       |         |         |
| <b>Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input checked="" type="checkbox"/> základní výzkum                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input type="checkbox"/> translační a aplikovaný výzkum                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input type="checkbox"/> kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input type="checkbox"/> legislativní účely                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input type="checkbox"/> jiné zkoušení účinnosti a tolerance                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input type="checkbox"/> a běžná výroba                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input type="checkbox"/> zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input type="checkbox"/> běžná výroba                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input type="checkbox"/> ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input type="checkbox"/> zachování druhů                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input type="checkbox"/> vyšší vzdělávání                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input type="checkbox"/> odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input type="checkbox"/> trestní řízení a jiné soudní řízení                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <input type="checkbox"/> udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <b>Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| Hlavním cílem projektu je experimentálně zjistit na albinotických myších ICR schopnost samotného vybraného antagonisty NMDA receptoru a daného antagonisty NMDA receptoru v kombinaci se zvoleným reverzibilním inhibitorem acetylcholinesterázy snížit akutní účinek vybrané organofosforové sloučeniny v případě jejich profylaktického podání. Konkrétním cílem je kvantifikovat míru zvýšené odolnosti experimentálního zvířete (myši) vůči akutnímu vlivu organofosforové sloučeniny cestou stanovení změn hodnoty LD <sub>50</sub> v závislosti na typu farmakologické profylaxe. Výsledky projektu přispějí k rozšíření profylaktických možností. |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <b>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)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| Dlouhodobým potenciálním přínosem projektu pokusů bude zvýšení účinnosti farmakologické profylaxe v případě hrozby akutního účinku organofosforových sloučenin a tím zvýšení odolnosti člověka.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <b>Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| Pokusným zvířatům budou postupně intramuskulárně podány profylaktika, organofosforové sloučeniny a případně léčiva. Injekční aplikace potrvá několik sekund.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <b>Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| Nepříznivými účinky na zvířata budou projevy intoxikace organofosforovou sloučeninou (slinění, fascikulace), které potrvají maximálně 24 hodin.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <b>Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| Druh zvířat <sup>2)</sup><br>- vyberte ze seznamu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  | Odhadovaný počet | Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti                                                                                  |       |         |         |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |                  | Nenabude vědomí                                                                                                           | Mírná | Střední | Závažná |
| Myš laboratorní (Mus musculus)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  | 400              |                                                                                                                           |       | X       |         |
| <b>Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| 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                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |
| <b>Uplatňování 3R</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |  |                  |                                                                                                                           |       |         |         |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>Nahrazení používání zvířat</b> - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</p> <p>Provedení tohoto pokusu na zvířeti je nezbytné, nelze jej nahradit žádnými jinými <i>in vitro</i> metodami. Tento typ experimentu je nutné provádět na celoorganismové úrovni. Reálná profylaktická účinnost je výrazně ovlivněna farmakokinetickými a farmakodynamickými vlastnostmi testovaných profylaktik i toxikokinetickými a toxikodynamickými vlastnostmi zvolené organofosforové sloučeniny, které se uplatní pouze při působení těchto látek na celý organismus. Nelze proto takovéto studie provádět <i>in vitro</i> na izolovaných buňkách či tkáních. Jedná se o komplexní dynamický proces, který nelze studovat pomocí alternativních metod.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <p><b>Omezení používání zvířat</b> - 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).</p> <p>Pro jeden typ farmakologické profylaxe bude spotřebováno celkem 60 kusů myši o hmotnosti 25 – 35 g. Maximální počet využitých potkanů v daném projektu bude 400 kusů. K výpočtu přesné dávky bude použit software tak, aby nebyla zvířata nadbytečně užita.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <p><b>Šetrné zacházení se zvířaty</b> - 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</p> <p>Po celou dobu experimentu budou mít zvířata volný neomezený přístup k pitné vodě a budou krmeny <i>ad libitum</i>. Zvířata budou nejprve aklimatizována a následně přivyknuta na přítomnost experimentátorů a dalšího nezbytného personálu tak, aby byl v maximální možné míře omezen vliv stresu na experiment. Ke zvířeti bude přistupováno klidně, aby nebylo zbytečně stresováno. Bolestivost intramuskulární aplikace je srovnatelná s bolestivostí u člověka, tudíž lokální znecitlivění není požadováno. Pokusy nelze provádět v celkové anestezii, která by zásadně ovlivnila a zkreslila požadovanou informaci týkající se ovlivnění akutní toxicity vybrané organofosforové sloučeniny sledovanými profylaktickými antidoty včetně nástupu a intenzity klinických příznaků intoxikace. Po ukončení experimentu budou přeživší zvířata usmrcena předávkováním anestetikem.</p> |
| <p><b>Použité druhy zvířat</b> - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</p> <p>K danému pokusu postačí malá laboratorní zvířata, konkrétně dospělá myš.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

- 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