

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Vliv vybraných léčiv na produkci neuroaktivních steroidů - studie na laboratorním potkanovi

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

S ohledem na datum schválení maximálně 35

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

neuroaktivní steroidy, betablokátory, ACEI, SSRI, betahistin

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 práce je zjistit vliv v klinické praxi používaných skupin léčiv (betablokátorů, betahistinu, ACEI, SSRI) na syntézu neuroaktivních steroidů v mozku a jejich korelaci se syntézou steroidů v nadledvině laboratorních zvířat. Neuroaktivní steroidy mají velký význam ve vývoji úzkostných stavů a depresí.

Předpokládáme, že vedle organických příčin se na rozvoji těchto stavů podílí i používaná farmakoterapie.

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)

Objasnění vlivu používaných léčiv na syntézu neuroaktivních steroidů. Zjištění, do jaké míry betablokátory, ACEI, SSRI a betahistin ovlivní vývoj neuropsychiatrických změn u léčených pacientů.

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

V průběhu experimentu nebudou používány žádné invazivní metody. Léčivé látky budou aplikovány do pitné vody. Spotřeba vody, změny tělesné hmotnosti a zdravotní stav zvířat budou pravidelně kontrolovány a zaznamenávány.

Na konci pokusu budou zvířata usmrcena pomocí gilotiny určené k dekapitaci potkanů.

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

Nepředpokládáme, že by podávané látky u zvířat vyvolávaly bolest, stres či závažné změny chování.

Zdravotní stav a chování zvířat budou pravidelně monitorovány odborně kvalifikovanou osobou.

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)	140		140		
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

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 metoda bez použití zvířecích modelů pro navrhované studie neexistuje. Pochody, ke kterým dochází v rámci interakce vybraných léčivých látek s látkami v těle (neuroaktivní steroidy), a vliv léčiv na určité orgány (mozek, nadledviny) a na psychické projevy není dosud možné modelovat in vitro metodami. Zvířecí model jako jediný umožňuje testování za komplexních podmínek (na celém organismu, nikoli jen na jeho částech). Možnosti využití alternativních metod týkajících se této problematiky byly hledány v elektronických databázích ECVAM/FRAME, Go3Rs, Library of Science, PubMed.

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).

Počet jedinců v každé skupině byl určen na základě síly testu pro vícenásobná porovnávání 3 skupin (lipofilní a hydrofilní léčivo vs. kontrola, Dunnett test pro betablokátory a ACEI). Při 20 jedincích na skupinu bude dosažena 80% síla testu pro hladinu významnosti $\alpha < 0,05$ pro minimální poměr "rozdíl mezi skupinami / směrodatná odchylka" = 1,5658 (effect size). Dále bude použit t-test pro shodný rozptyl ve skupinách (1 kontrolní a 1 experimentální skupina - pro SSRI a betahistin). V tomto případě bude s 80% silou testu pro hladinu významnosti $\alpha < 0,05$ detekován minimální poměr "rozdíl mezi skupinami / směrodatná odchylka" = 0,91. Při 7 testovaných skupinách (6 pokusných + 1 kontrolní) je tedy minimální počet pokusných zvířat 140.

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

Zdravotní stav zvířat a jejich reakce na podanou látku budou sledovány každý den pověřenou, odborně kvalifikovanou osobou. U zvířat budou sledovány změny kůže, srsti, očí a sliznic, výskyt sekretů a exkretů a změny vegetativních funkcí (např. slzení, velikost zornic, nezvyklé dýchání). Rovněž budou sledovány změny chůze, polohy a reakce na manipulaci, případně přítomnost klonických a tonických pohybů, stereotypů (např. nadměrná péče, opakované kroužení) nebo bizarního chování (např. sebepoškozování, pohyby pozpátku). Pokus bude ukončen dekapitací sledovaných jedinců a odběrem tkáňových vzorků (mozek, nadledviny).

Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií

Pro pokus byl vybrán laboratorní potkan (*Rattus norvegicus*) kmene Wistar jakožto dobře ověřený modelový organismus vhodný pro testování účinků léčiv.

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