

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569**Název projektu pokusů****Nukleofily reaktivující acetylcholinesterasu i butyrylcholinesterasu**

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

Leden 2021 – prosinec 2023

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

Butyrylcholinesterasa, acetylcholinesterasa, oximy, nukleofily

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 projektu je otestovat nově vyvinuté sloučeniny jakožto potenciální reaktivátor acetylcholinesterasy a butyrylcholinesterasy, které by mohly být využity jako ochrana či terapie před účinky organofosforových inhibitorů acetylcholinesterasy. Jde zejména o definování akutní toxicity, nalezení terapeutické dávky a hodnocení farmakokinetiky a farmakodynamiky u nejslibnějších kandidátů z in vitro fáze výzkumu. V experimentech bude ověřena jeho/jejich účinnost a bezpečnost.

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)

Ověření toxikologických, farmakokinetických a farmakodynamických charakteristik in vivo, nadějných, nově vyvíjených molekul, které by mohly být úspěšně využity v léčbě účinků způsobených organofosforovými inhibitory jakožto součást bio-scavengingu v kombinaci s humánní butyrylcholinesterasou.

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

Akutní toxicita na laboratorních potkanech (MTD): Testované sloučeniny budou aplikovány (i.p., i.m. nebo i.v.) dle fyzikálně-chemických vlastností. Dle metodiky OECD bude definována koncentrace testované látky v testu maximální tolerované dávky. V experimentu budou použiti pouze samci. (max. 3x 10 laboratorních potkanů, celkem tedy max. 30 ks laboratorních potkanů). K hodnocení farmakokinetiky budou taktéž použiti pouze samci (max. 3 x 4 x 10 laboratorních potkanů, celkem tedy max. 120 ks laboratorních potkanů). Pro hodnocení farmakodynamiky budou využiti také použiti samci potkana, pro reaktivační studii (max. 6 x 5 laboratorních potkanů, celkem tedy max. 30 ks laboratorních potkanů) a pro hodnocení protektivního indexu (max. 30 x 3 laboratorních potkanů, celkem 90 ks laboratorních potkanů). Pro hodnocení bude tedy max. celkově využito 270 ks laboratorních potkanů.

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

Míra závažnosti: mírné. V případě vyšší zátěže pro organismus bude zvíře okamžitě usmrceno předávkováním CO₂. Kadavery budou uloženy do chladicího boxu a neškodně odstraněny asanačním ústavem.

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
Potkan laboratorní (Rattus norvegicus)	270		270		

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

Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu	
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte	
Zvířata budou plně využita pro výše uvedené experimenty. Jedná se vždy o jednorázové podání, v případě výskytu příznaků vyšší závažnosti je zvíře neprodleně usmrceno předávkováním CO ₂ .	
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	
Tento typ experimentu je nutné provádět na celoorganismové úrovni. Jedná a komplexní dynamické procesy, které nelze studovat pomocí alternativních metod. Jde o finální fázi preklinického ověření bezpečnosti a účinnosti potenciálního nového léčiva.	
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).	
Experimentální výsledky budou dosaženy pomocí sofistikovaných technologií (monitoring a vyšetření dle humánních standardů), což se projeví v potřebě omezeného počtu zvířat. Pro experimenty bude vždy použit nejmenší počet zvířat, dle doporučené metodiky, a který je nutný pro statistické zhodnocení výsledků.	
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	
Zvířata netřeba vzhledem k charakteru testovaných látek medikovat bolest tišícími prostředky. Druh zvířete je volen jako nejmenší možný pro studium toxicity, farmakokinetiky a farmakodynamiky v návaznosti na další experimenty (nejsou součástí tohoto projektu pokusů).	
Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií	
Do experimentu byli vybráni dospělí samci potkana (kmen Wistar) vzhledem k předchozím a navazujícím experimentům.	

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