

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Praktická cvičení z Farmakologie a farmacie II.

Doba trvání projektu pokusů - v měsících 4 měsíce (září-prosinec) každá rok nejpozději do 11.9.2024

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾ léčiva, praktické dovednosti, názorná výuka

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

Pokusy jsou naplní praktické výuky předmětu Farmakologie a farmacie II. Cílem pokusů je názorným způsobem seznámit studenty s účinky vybraných farmak na organismus zvířete a zároveň studentům poskytnout možnost praktické práce se zvířaty od anamnézy a základního vyšetření, přes různé způsoby aplikace léčiv až po sledování projevů jejich účinků. Sledovány jsou účinky zástupců vybraných významných skupin farmak. Jednotlivé pokusy jsou vybrány tak, aby reprezentovaly významné skupiny farmak a zároveň umožnily studentům maximální možnosti nabytí praktických zkušeností a dovedností při současné minimalizaci počtů zvířat a maximalizaci šetrnosti zacházení s nimi.

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)

Získané znalosti a dovednosti studenti uplatní při práci s pacienty v rámci dalšího studia i ve své budoucí praxi.

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

Po naskladnění bude po dobu 7-10 dnů probíhat aklimatizace a návyk zvířat na nové prostředí. Od 3. týdne zimního semestru bude sledováno působení léčiv po injekční, inhalační či zevní aplikaci, přímo či za použití přístrojů. Parasympatomimetika (fyzostigmin, pilokarpin) a parasympatolytika (atropin) jsou po základním vyšetření zvířete aplikovány ve formě očních kapek do spojivkového vaku králíka (3-5 kapek). Studenti sledují v intervalech 3, 5, 15 a 30 minut po aplikaci změny na zornici, auskultačně srdeční a dechovou frekvenci, kvalitu dýchacího šelestu, změny na intenzitě peristaltických pohybů, dále slinění, případně vyměšování. Parasympatomimetikum karbachol je aplikováno subkutánně v dávce 1ml 0,01% injekčního roztoku pro toto, sledují se obdobné parametry. Působení jednotlivých látek studenti následně porovnávají. Sympatomimetika (adrenalin, efedrin) jsou aplikována králíkům a potkanům i.m., v dávce 5mg/kg 5% roztok u efedrinu a 0,1mg/kg 1% roztoku u adrenalinu. Studenti sledují krevní tlak nekrvavou metodou (pomocí Grantovy kapsle na *a. auricularis centralis*), sledují změny na srdeční frekvenci, trávicím traktu, dýchacím systémem, zornici. Inhalační anestezii studenti navozují, sledují inhalačními anestetiky (halotan, isofluran) – u potkana v anestetizační komoře, u králíka po předchozí premedikaci (medetomidinhydrochlorid 0,06 mg.kg⁻¹ ž.hm, ketamin 4-5 mg.kg⁻¹ ž.hm) pomocí inhalačního přístroje ANAESTHESIA MACHINE Model: SD-M2000 A(P) a anestetika Isofluranu v koncentraci 1,5% v dýchací směsi s kyslíkem. Po ukončení inhalace bude pro zvrácení účinku medetomidinhydrochloridu aplikován i.m. do lumbální svaloviny atipamezolhydrochlorid 5mg/ml v dávce 0,06 mg.kg⁻¹ ž.hm. Studenti sledují průběh anestezie, její charakteristické projevy – útlum vědomí, stav reflexů, analgezii, změny dechu, pulzu. Neinhalační anestezii studenti navozují i.v. aplikací anestetika Thiopentalu v dávce 20mg/kg živé hmotnosti králíka 2,5% injekčního roztoku. Sledování je obdobné inhalační anestezii. Výsledky jednotlivých typů i látek srovnávají. Opioidní analgetika (morfin) aplikují studenti i.m. králíkovi (v dávce 5mg/kg 1% injekčního roztoku), s.c. potkanovi (v dávce 10mg/kg 1% injekčního roztoku). Sledují analgezii, změny aktivity a svalového tonu, depresi dechu, změny zorničky, teploty, trávicího traktu. Srovnávají reakce na látku u obou druhů. Na podporu utlumených funkcí po opioidním analgetiku je u králíků aplikováno i.m. centrální analeptikum 25% niketamid v dávce 1ml pro toto, studenti sledují jeho působení. Pro zvrácení účinku opioidního analgetika bude užito i.m. aplikace opioidního antagonisty Naloxonu v dávce 0,01 mg/kg. Lokální anestetika (kokain, prokain) jsou aplikována jako oční kapky (3-5 kapek) do spojivkového vaku králíka. Žiněným esteziometrem je zjišťováno znecitlivění oka, dále jsou sledovány změny zorničky,

spojivky, dechové frekvence. U potkana v celkové inhalační anestezii je proveden záznam EKG s použitím kontaktních elektrod.

Po odběru krve z ušní vény králíka punkcí v množství 1 ml jsou *in vitro* sledovány účinky různých látek na rychlost srážení krve. Vasodilatační účinky jsou sledovány a změny cévního lumen měřeny neinvazivně na ušním řečišti králíka po aplikaci amylnitritu (inhalační těkající látky po dobu 15-20 sekund). Veškeré úkony a činnosti se zvláště budou vykonávat studenti pod dohledem osoby odborně způsobilé.

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

Prováděné zákroky jsou provázeny nízkou bolestivostí a obvykle nepůsobí u zvířat nežádoucí účinky. Předpokládaná újma je, dle klasifikace kategorií závažnosti uvedené v příloze č. 9 vyhlášky č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat, mírná. Trvání účinků je krátkodobé.

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 (<i>Rattus norvegicus</i>)	160 (40ksx4)		160 (40ksx4)		
Králík domácí (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	192 (48ksx4)		192 (48ksx4)		
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	352

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte

Vzhledem k charakteru pokusů je plánováno zvířata nabídnout k adopci za dodržení veterinárních podmínek. Pokud by někteří jedinci nebyli adoptováni, budou usmrceni předávkováním celkového anestetika – u laboratorních potkanů bude použit halotan – inhalační anestetikum, u králíků pak thiopental i.v. Kadavery uhynulých či utracených zvířat budou deponovány v mrazicím pultu ve zvířetníku a dvakrát týdně odváženy k likvidaci asanačním podnikem.

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

Praktická zkušenost při manipulaci, vyšetřování, sledování zdravotního stavu a reakcí na aplikaci léčiv na pokusných zvířatech je nenahraditelnou součástí praktické výuky farmakologie. Jednotlivé pokusy jsou vybrány tak, aby reprezentovaly významné skupiny farmak a zároveň umožnily studentům maximální možnosti nabytí praktických zkušeností a dovedností, které studenti uplatní při práci s pacienty v rámci dalšího studia i ve své budoucí praxi. Pokus ani pokusná zvířata nelze nahradit jinou alternativní metodou. Tato skutečnost byla ověřena v databázi validovaných alternativních metod schválených a přijatých Evropskou společností pro alternativní metody (European Centre for the Validation of Alternative Methods – ECVAM).

Omezení používání zvířat - vysvětlíte, 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).

Zvířata jsou ve cvičeních používána pro pracovní skupiny 3-4 studentů. Tento počet umožňuje naplnění cílů cvičení při co nejmenším počtu použitých zvířat.

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

Všechny formy utrpení pokusných zvířat budou v tomto případě minimalizovány. Zvířata jsou chována a je s nimi manipulováno při dodržování všech zásad správného zacházení a správné aplikace léčiv. Pokusná zvířata budou v průběhu pokusu v péči osob s osvědčením o odborné způsobilosti podle §15d odst. 4 zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů.

Použité druhy zvířat - vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií

Celkem bude v pokusu použito ročně maximálně 40 kusů potkanů laboratorních (*Rattus norvegicus* var. *alba*) ve stáří 3 měsíců a hmotnosti 200 – 250 g (za celou dobu trvání projektu maximálně 160 ks) a ročně maximálně 48 kusů králíků domácích (*Oryctolagus cuniculus* f. *domestica*) ve stáří 2 měsíců a průměrné hmotnosti 1,8 kg, při dodržení maximální denní kapacity zařízení (za celou dobu trvání projektu maximálně 192 ks). Laboratorní potkan a králík jsou druhy, které při únosné míře chovatelských nároků poskytují dostatečné možnosti pro použití pro praktickou výuku. Jsou častým typem veterinárního pacienta i pokusného zvířete při výzkumu v oblasti léčiv. Díky svým fyzickým i fyziologickým parametrům jsou nejvhodnějšími modely pro dosažení výukových cílů.

- 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