

ŽÁDOST O SCHVÁLENÍ PROJEKTU POKUSŮ
podle § 16a zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů

IDENTIFIKAČNÍ ÚDAJE

1.	Název (případně evidenční číslo) projektu pokusů, studie, případně označení grantu		
	Farmakokinetická a farmakodynamická analýza vyvíjených léčiv ze skupiny choleretik a protizánětlivých hepatoprotektiv a jejich formulací		
2.	Identifikační údaje uživatele pokusných zvířat		
	Žadatel - název právnické osoby nebo jméno, popřípadě jména, a příjmení fyzické osoby, která provozuje zařízení		
	UNIVERZITA KARLOVA		
	IČ, bylo-li přiděleno	00216208	Registrační číslo hospodářství ¹⁾
			CZ 52760066
	Adresa sídla nebo místa podnikání žadatele (včetně PSČ)		
	UNIVERZITA KARLOVA - REKTORÁT		
	OVOCNÝ TRH 5		
	116 36 PRAHA 1		
	Adresa místa, kde hodlá vykonávat uživatel pokusných zvířat svoji činnost, včetně přesného umístění, názvu, případně jiného označení jednotlivých prostor, kde má být činnost prováděna; pokud má být na základě žádosti v rozhodnutí stanoveno, že je možno používat pokusná zvířata i mimo zařízení, uvede žadatel specifikaci místa, kde bude činnost prováděna, zejména zda bude činnost prováděna ve volné přírodě a na jakém území		
	FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ		
	Heyrovského 1203, Hradec Králové, 500 05		
	Severní budova, Prostory fakultního vivária		
	Statutární orgán žadatele - titul, jméno, popřípadě jména, a příjmení		
	Doc. PharmDr. Tomáš Šimůnek, Ph.D.		
	Osoba zmocněná k zastupování žadatele ve správním řízení²⁾ - titul, jméno, popřípadě jména, a příjmení		
	PharmDr. Ivan Vokřál, Ph.D.		
	Adresa pro doručování		
	FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ		
	Heyrovského 1203, Hradec Králové, 500 05		
	Telefon	E-mail	Datová schránka
	+420 495 067 353, +420 728 650 742	vokral@faf.cuni.cz	ID PIYJ9B4
	Číslo jednací a spisová značka rozhodnutí o udělení oprávnění k používání pokusných zvířat a doba jeho platnosti		
	č.j. 73873/2013-MZE-17214, platnost do 7. 11. 2018		
3.	Seznam osob, které se na projektu pokusů podílejí		
	Vedoucí projektu pokusů - titul, jméno, popřípadě jména, a příjmení a číslo osvědčení podle § 15d odst. 3 nebo § 15e odst. 1 zákona č. 246/1992 Sb.		
	PharmDr. Ivan Vokřál, Ph.D., CZ 01591		
	Zástupce vedoucího projektu pokusů, je-li ustanoven - titul, jméno, popřípadě jména, a příjmení a číslo osvědčení podle § 15d odst. 3 nebo § 15e odst. 1 zákona č. 246/1992 Sb.		
	Doc. PharmDr. František Trejtnar, CSc., CZ 01586		
	Osoba odpovědná za péči o pokusná zvířata - titul, jméno, popřípadě jména, a příjmení a číslo osvědčení podle § 15d odst. 3 nebo § 15e odst. 1 zákona č. 246/1992 Sb.		
	PharmDr. Ivan Vokřál, Ph.D. CZ 01591		
	Určený veterinární lékař, příp. kvalifikovaný odborník - titul, jméno, popřípadě jména, a příjmení; u kvalifikovaného odborníka uveďte rovněž číslo osvědčení podle § 15d odst. 3 nebo § 15e odst. 1 zákona č. 246/1992 Sb.		
	MVDr. Lubomír Ducháček, Ph.D. CZ 01493		
	Osoba, která řídí činnost odborné komise pro zajišťování dobrých životních podmínek pokusných zvířat - titul, jméno, popřípadě jména, a příjmení a číslo osvědčení podle § 15d odst. 3 nebo § 15e odst. 1 zákona č. 246/1992 Sb.		
	Prof. Ing. Barbora Szotáková, Ph.D. CZ 01572		
	Ostatní osoby - držitelé osvědčení podle § 15d odst. 3 nebo § 15e odst. 1 nebo § 15d odst. 4 nebo § 15e odst. 2 zákona č. 246/1992 Sb.		
	Jaroslava Adamušková – CZ-s 00061		
	Zuzana Orličková – CZ-s00102		
	Žadatel prohlašuje, že všechny osoby podílející se na tomto projektu pokusů jsou odborně způsobilé podle zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů, k příslušné činnosti s pokusnými zvířaty - správnou variantu zaškrtněte (x) do prázdného políčka		
	x	Ano	
		Ne	

NÁVRH PROJEKTU POKUSŮ

4.	<p>Účel plánovaných pokusů podle § 18 zákona č. 246/1992 Sb. - odpovídající zařazení zaškrtněte (x) do prázdného políčka</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="text-align: center; width: 30px;"><input checked="" type="checkbox"/></td> <td>a) základní výzkum</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>b1) translační nebo aplikovaný výzkum s cílem zabránit a předejít onemocnění, špatnému zdravotnímu stavu nebo jiným anomáliím nebo jejich následkům u lidí, zvířat nebo rostlin a diagnostikovat je nebo léčit</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>b2) translační nebo aplikovaný výzkum s cílem posoudit, zjistit, regulovat nebo upravit fyziologické předpoklady lidí, zvířat nebo rostlin</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>b3) translační nebo aplikovaný výzkum s cílem zlepšit životní podmínky a podmínky produkce zvířat chovaných k zemědělským účelům</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>c) jakýkoli z cílů uvedených v písmenu b) při vývoji, výrobě nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>d) ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví nebo dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>e) výzkum zaměřený na zachování druhů</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>f) vyšší vzdělávání nebo odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td>g) trestní řízení a jiné soudní řízení</td> </tr> </table>	<input checked="" type="checkbox"/>	a) základní výzkum	<input type="checkbox"/>	b1) translační nebo aplikovaný výzkum s cílem zabránit a předejít onemocnění, špatnému zdravotnímu stavu nebo jiným anomáliím nebo jejich následkům u lidí, zvířat nebo rostlin a diagnostikovat je nebo léčit	<input type="checkbox"/>	b2) translační nebo aplikovaný výzkum s cílem posoudit, zjistit, regulovat nebo upravit fyziologické předpoklady lidí, zvířat nebo rostlin	<input type="checkbox"/>	b3) translační nebo aplikovaný výzkum s cílem zlepšit životní podmínky a podmínky produkce zvířat chovaných k zemědělským účelům	<input type="checkbox"/>	c) jakýkoli z cílů uvedených v písmenu b) při vývoji, výrobě nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků	<input type="checkbox"/>	d) ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví nebo dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat	<input type="checkbox"/>	e) výzkum zaměřený na zachování druhů	<input type="checkbox"/>	f) vyšší vzdělávání nebo odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí	<input type="checkbox"/>	g) trestní řízení a jiné soudní řízení
<input checked="" type="checkbox"/>	a) základní výzkum																		
<input type="checkbox"/>	b1) translační nebo aplikovaný výzkum s cílem zabránit a předejít onemocnění, špatnému zdravotnímu stavu nebo jiným anomáliím nebo jejich následkům u lidí, zvířat nebo rostlin a diagnostikovat je nebo léčit																		
<input type="checkbox"/>	b2) translační nebo aplikovaný výzkum s cílem posoudit, zjistit, regulovat nebo upravit fyziologické předpoklady lidí, zvířat nebo rostlin																		
<input type="checkbox"/>	b3) translační nebo aplikovaný výzkum s cílem zlepšit životní podmínky a podmínky produkce zvířat chovaných k zemědělským účelům																		
<input type="checkbox"/>	c) jakýkoli z cílů uvedených v písmenu b) při vývoji, výrobě nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků																		
<input type="checkbox"/>	d) ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví nebo dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat																		
<input type="checkbox"/>	e) výzkum zaměřený na zachování druhů																		
<input type="checkbox"/>	f) vyšší vzdělávání nebo odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí																		
<input type="checkbox"/>	g) trestní řízení a jiné soudní řízení																		
5.	<p>Význam a zdůvodnění pokusů - podrobná charakteristika cílů studie s uvedením konkrétního očekávaného přínosu, včetně charakteristiky aplikovaných látek, nebo zařazení látek do indikačních skupin</p> <p>Cílem a významem pokusů je ověřit základní farmakokinetické a farmakodynamické vztahy choleretik a protizánětlivých hepatoprotektiv na bázi žlučových kyselin nebo ligandů FXR (farnesoid X receptor) a PXR (pregnane X receptor) nukleárních receptorů <i>in vivo</i>. Posuzována bude farmakokinetika (FK) / farmakodynamika (FD) a získaná farmakokinetická (plazmatické koncentrace) i farmakodynamická data (exprese transportérů) budou podkladem pro vytvoření matematického modelu. Na základě takto vytvořeného modelu bude predikován optimální dávkovací režim těchto látek u nemocných s cholestatickými nebo zánětlivými nemocemi jater.</p>																		
6.	<p>Zdůvodnění výběru a používání pokusných zvířat, včetně jejich odhadovaného počtu, druhů a stadií vývoje</p> <p>K experimentům bude využito samců potkana kmene Wistar. Potkan je vhodným a často užívaným modelem pro studium farmakokinetiky léčiv, jelikož je možno snadno kanylovat <i>arteria carotis</i> nebo žlučovod a tím snadno odebírat několik vzorků krve nebo žluči v rozmezí dostatečného časového úseku pro zhodnocení farmakokinetiky nebo efektu na sekreci žluče. Pro experimenty v navrhovaném období (2017-2019) bude použito maximálně 100 laboratorních potkanů o hmotnosti 250-400g.</p>																		
7.	<p>Prohlášení žadatele o průkazu nezbytnosti pokusů nebo uvedení právního předpisu, který provedení pokusů ukládá, včetně zdůvodnění, proč nelze pokus na pokusném zvířeti nahradit alternativními metodami</p> <p>Látky určené k experimentům na zvířatech již byly studovány <i>in vitro</i> (na buněčných liniích) a <i>in silico</i>. Komplexní PK/PD vztahy na této úrovni však nelze detailně studovat. Pro zdárné dokončení experimentů je u studovaných látek třeba znát farmakokinetické parametry a dynamiku účinků také <i>in vivo</i>. Toho nelze dosáhnout jinak, než podáním studované látky experimentálnímu zvířeti. V rámci těchto experimentů budou studovány známé ligandy PXR receptoru (rifampicin nebo rhodamin B a jejich nanočásticové formulace) a FXR receptoru (kys. obeticholová, kys. ursodeoxycholová, případně jejich deriváty).</p>																		
8.	<p>Zabránění případnému neodůvodněnému opakování pokusů - byl tento pokus na zvířatech již někdy v minulosti proveden? Pokud ano, odůvodněte, proč je nutné opakování; pokud ne, uveďte způsob, který jste použili pro ověření, že tento pokus nebyl dosud proveden</p> <p>Vztah PK/PD nebyl zevrubně studován pro tyto látky ani pro jiné ligandy FXR a PXR receptoru. O dynamice odpovědi po aktivaci těchto receptorů nejsou bibliografické údaje. V rámci přípravy projektu proběhl screening literatury a vědeckých databází (www.pubmed.com, Web of Science), aby se případnému opakování experimentu zabránilo.</p>																		
9.	<p>Činnost s pokusnými zvířaty</p> <p>Podrobný popis pokusů a činnosti s pokusnými zvířaty</p>																		

Předběžné farmakokinetické experimenty:

Pro předběžné farmakokinetické experimenty s PXR ligandy, jejich nanočásticovými formulacemi a FXR ligandy budou potkani uvedeni do celkové anestézie aplikací anestetika do ocasní vény (pentobarbital 45 mg/kg i.v. nebo Uretan 1200 mg/kg i.p.). Preferován bude pentobarbital. Po usnutí zvířete bude vypreparována *a. carotis*, do které bude zavedena heparinizovaná kanyla sloužící pro odběr krevních vzorků.

Aplikace studované látky bude provedena:

1. i.v. do *v. saphena* (v takovém případě bude krom *a. carotis* vypreparována i *v. saphena*)
2. p.o. žaludeční sondou do žaludku.

Studované dávky se budou pohybovat pro oba typy aplikace v obdobných rozmezích (tj. 5-50 mg/kg). Ve vhodné zvolených časových intervalech (předpokládáme 0, 5, 15, 30, 90, 120 a 240 min) bude odebráno 0,2 ml krve z *a. carotis*. Po každém odběru bude objem odebrané krve nahrazen stejným objemem fyziologického roztoku. Po uplynutí doby experimentu bude zvíře utráceno předávkováním anestetika (pentobarbital 100 mg/kg).

Detailní farmakokinetické experimenty:

Pro detailní farmakokinetické a farmakodynamické studie bude potkanům aplikována studovaná látka *p.o.* sondou (dle výsledků předběžných farmakokinetických experimentů buď jednorázově, nebo opakovaně). Aplikace bude probíhat v celkové anestezii navozené krátkodobě působícím inhalačním anestetikem (isofluran). Následně budou potkani umístěni zpět do chovných klecí a po uplynutí stanovené doby odbírání k další manipulaci.

Ve stanovených intervalech (např. 6, 12, 24, 48 h) budou 3-4 potkani uvedeni do celkové anestezie a následně jim bude odebrána krev. Po odběru krve budou potkani usmrceni předávkováním anestetikem a budou odebrány vzorky jater a střeva (do dusíku) pro analýzu exprese proteinů ovlivňujících sekreci žluče nebo zánětlivé procesy spojené s cholestázou. Současně bude odebrána žluč. Pro odběr vzorků bude využito výše zmíněné anestezie pentobarbitalem nebo uretanem)

Časový plán jednotlivých fází pokusů na pokusných zvířatech včetně předpokládaného data jeho ukončení

1. 1. 2017-31. 12. 2019 Časový úsek se překrývá a je určen pro řešení projektu GAČR č.17-068415 Prof. Pávka týkající se studia PK/PD aspektů nových ligandů PXR a FXR receptorů a jejich formulací.

2017 – započítí předběžných farmakokinetických experimentů a jejich vyhodnocení

2018 – detailní farmakokinetické experimenty a jejich vyhodnocení

2019 – případné zopakování detailních farmakokinetických experimentů

Experimenty budou pokračovat i po 7.11.2018, pokud bude pracovišti uděleno další oprávnění.

Pokusné nebo pozorovací strategie a statistický plán pro minimalizaci počtu pokusných zvířat, jejich bolesti, utrpení a strachu a případného dopadu na životní prostředí

Zvířata budou při všech bolestivých nebo nepříjemných úkonech v celkové anestézii, nebudou vystavena utrpení. Testované látky nebo formulace, které by mohly způsobit zvířeti toxické účinky, budou dopředu vyselektovány na toxické působení na buněčných modelech. Experimenty budou prováděny na 25 zvířatech pro každou látku tak, aby se daly výsledky statisticky vyhodnotit, nedošlo však k nadbytečnému užití experimentálních zvířat.

10. Navrhovaná klasifikace závažnosti pokusů - odpovídající zařazení zaškrtněte (x) do prázdného políčka; v pravé části návrh zdůvodněte

<input checked="" type="checkbox"/>	Zvíře nenabude vědomí	Předběžné farmakokinetické experimenty. Zvíře bude po celou dobu experimentu v celkové anestézii, ve které bude také utráceno.
<input checked="" type="checkbox"/>	Mírné	Detailní farmakokinetické experimenty. Zvíře bude v celkové anestézii při aplikaci látek a při odběru vzorků. V mezidobí bude při vědomí. U aplikovaných dávek a látek není předpokládán žádný závažný, nebo toxický účinek.
	Střední	
	Závažné	

11. Uplatnění metod v zájmu nahrazení a omezení používání pokusných zvířat a šetrného zacházení s nimi (3R)**Nahrazení zvířat (Replacement)**

Pro experimenty na zvířatech budou vybrány látky, které budou selektovány na základě aktivity k testovaným nukleárním receptorům jako modelové ligandy nebo léčiva a pomocí *in vitro* toxicitních testů na buňkách. Pro testování na zvířatech tedy budou použity jen ty látky, které neprokázaly toxicitu v *in vitro* a *in silico* experimentech, především známé ligandy PXR a FXR receptorů již zavedené do humánní terapie (rifampicin, UDCA, kys. obeticholová). Primární *in vivo* data budou získány aplikací látek *i.v.* a odbíráním vzorků krve z *a. carotis*, což značně redukuje množství použitých zvířat. V dalších experimentech bud použito maximálně 4 zvířat pro jeden časový bod po aplikaci látky jednou cestou podání.

Omezení počtu zvířat (Reduction)

Pro tento projekt bude využito minimální možné množství zvířat pro statistické zpracování výsledků. Každá látka nebo formulace bude testována na maximálně 4 zvířatech pro jednu cestu podání (*i.v.* nebo *p.o.*) a jeden časový interval po podání (předpokládají se 4 různé časové intervaly).

Šetrné zacházení se zvířaty (Refinement)

	Operační zákroky budou prováděny vždy v celkové anestezii (pentobarbital 45 mg/kg i.p. nebo urethan 1200 mg/kg i.p.). Aplikace léčiv p.o. bude probíhat v inhalační celkové anestezii (isofluran). U ustájených zvířat před experimentem a v průběhu experimentu bude sledován celkový tělesný stav, životní funkce, stav prostředí (podestýlka, stav klece) a chování. V případě jakéhokoliv zjištění nestandardního stavu jsou informováni vedoucí projektu pokusů a veterinární lékař, kteří rozhodnou o dalším postupu.	
12.	Plánované použití znečitlivění, prostředků snižujících bolest nebo jiných metod tlumících bolest; zdůvodnění jejich případného nepoužití Pro celkovou dlouhodobou anestézii (využita bude pro předběžný farmakokinetický experiment a odběry vzorů) bude použit pentobarbital 45 mg/kg i.v. nebo urethan 1200 mg/kg i.p. Pro euthanasii bude použit pentobarbital 100 mg/kg i.v. Pro p.o. aplikaci léčiv gastrickou sondou bude použito inhalační anestetikum isofluran.	
13.	Hlavní operační vybavení, operační postupy a způsoby pooperační péče minimalizující bolest a stres zvířete Pro preparaci <i>a. carotis</i> a žlučovéhoodu budou použity standardní operační lancety. Pracoviště je pro tento typ zákroků vybaveno. Experiment končí předávkováním anestetika zvířete v celkové anestezii (pentobarbital 100 mg/kg i.v.) a proto není pooperační péče relevantní.	
14.	Způsob naložení s pokusnými zvířaty po ukončení pokusu - usmrcení, převedení do chovu (jakého?), opětovné použití, při opětovném použití jeho kumulativní dopad na daná pokusná zvířata Zvířata budou usmrcena v průběhu anestézie předávkováním anestetika (pentobarbital 100 mg/kg i.v.). Následně budou uložena do mrazicích boxů a odvezena k asanaci (fa. Asanace s.r.o., Žichlínek).	
15.	Metody usmrcování pokusných zvířat - odpovídající metody zaškrtněte (x) do prázdného políčka	
	<input checked="" type="checkbox"/>	Předávkování anestetikem
	<input type="checkbox"/>	Upoutaný projektil
	<input type="checkbox"/>	Oxid uhličitý
	<input type="checkbox"/>	Zlomení vazy
	<input type="checkbox"/>	Tupý úder do hlavy
	<input type="checkbox"/>	Oddělení hlavy od trupu
	<input type="checkbox"/>	Omráčení elektrickým proudem
	<input type="checkbox"/>	Inertní plyny (Ar, N ₂)
	<input type="checkbox"/>	Zastřelení volným projektilem odpovídající střelnou zbraní a střelivem
	<input type="checkbox"/>	Jiná metoda - žádost o udělení výjimky - níže zdůvodněte
16.	Původ pokusných zvířat - uveďte všechny předpokládané zdroje; u pokusných zvířat z volné přírody udávejte co nejpřesněji lokalitu (lokality) jejich odchytu Velaz, s.r.o., se sídlem: Unětice č.p. 139, 252 62 Unětice. Firma má osvědčení chovného a dodavatelského zařízení č.j. 70029/2013-MZE-17214 ze dne 29. 10. 2013 na dobu 5 let.	
17.	Podmínky umístění a chovu pokusných zvířat a péče o ně včetně obohacení prostředí Zvířata budou chována za standardních podmínek ve viváriu Farmaceutické fakulty v Hradci Králové v souladu se zákonem ČNR č. 246/1992 Sb. ve znění pozdějších předpisů a vyhláškou ministerstva zemědělství č. 419/2012. Budou krmena <i>ad libitum</i> standardní peletovanou laboratorní dietou ST-1, k napájení bude použita pitná voda z veřejného zdroje	
18.	Způsob značení pokusných zvířat v pokusu Zvířata budou značena cedulkami na klecích.	
19.	Uvedení zdravotního rizika pro další pokusná zvířata a pro zaměstnance Rizika nejsou.	
20.	Pokus bude proveden za podmínek správné laboratorní praxe (je-li to požadováno jinými právními předpisy – např. zákon o léčivech, zákon o chemických látkách a chemických přípravcích) - správnou variantu zaškrtněte (x) do prázdného políčka	
	<input type="checkbox"/>	Ano
	<input checked="" type="checkbox"/>	Ne
21.	Datum	Razítko a podpis žadatele
	3.1.2017	
		Podpis vedoucího projektu pokusů

Poznámky:

- 1) § 2 písm. c) vyhlášky č. 136/2004 Sb., kterou se stanoví podrobnosti označování zvířat a jejich evidence a evidence hospodářství a osob stanovených plemenářským zákonem, ve znění pozdějších předpisů.
- 2) Vyplní se jen v případě, je-li odlišná od statutárního orgánu.

Tuto tabulku vyplňuje odborná komise pro zajišťování dobrých životních podmínek pokusných zvířat

STANOVISKO ODBORNÉ KOMISE PRO ZAJIŠŤOVÁNÍ DOBRÝCH ŽIVOTNÍCH PODMÍNEK POKUSNÝCH ZVÍŘAT K PŘEDLOŽENÉ ŽÁDOSTI

Vzhledem k faktu, že pan **PharmDr. Ivan Vokřál, Ph.D.** je zároveň člen odborné komise a také předkladatel tohoto projektu pokusů, nebude se hodnocení tohoto projektu účastnit. Komise bude hodnotit pouze ve tříčlenném složení. Odborná komise uživatelského zařízení se jednohlasně shodla, že předložený Projekt pokusu „**Farmakokinetická a farmakodynamická analýza vyvíjených léčiv ze skupiny choleretik a protizánětlivých hepatoprotektiv a jejich formulací**“ odpovídá požadavkům zákona na ochranu zvířat proti týrání (246/1992 Sb.) a vyhlášce o ochraně pokusných zvířat (419/2012 Sb.) v platných zněních. Cíle vymezené v projektu pokusů jsou nové a významné z hlediska studovaného tématu a proto tento projekt odborná komise

Schvaluje

a doporučuje jeho projednání rezortní komisí MŠMT.

Experimenty budou pokračovat i po 7.11.2018, pokud bude pracovišti uděleno další oprávnění.

Členové odborné komise		Datum
Jméno, popřípadě jména a příjmení	Podpis	
Doc. Ing. Barbora Szotáková, Ph.D.		
MVDr. Lubomír Ducháček, Ph.D.		
PharmDr. Eva Doleželová, Ph.D.		
PharmDr. Ivan Vokřál, Ph.D.		

Tuto tabulku vyplňuje státní orgán příslušný ke schvalování projektů pokusů

Státní orgán příslušný ke schvalování projektů pokusů potvrzuje, že tento projekt pokusů byl schválen rozhodnutím – číslo jednací, spisová značka, ze dne

Razítko a podpis státního orgánu příslušného ke schvalování projektů pokusů

Přílohy žádosti:

- netechnické shrnutí projektu pokusů,
- plná moc osoby zmocněné k zastupování ve správním řízení,
- doložení kvalifikace (kopie potřebných dokladů) všech osob uvedených v bodě 3,
- veterinární podmínky pro provádění pokusů na pokusných zvířatech stanovené příslušnou krajskou veterinární správou v případech uvedených v jiném právním předpise (zákon č. 166/1999 Sb., veterinární zákon).

Tuto tabulku vyplňuje odborná komise pro zajišťování dobrých životních podmínek pokusných zvířat až po schválení projektu pokusů státním orgánem příslušným ke schvalování projektů pokusů

SOUHLAS ODBORNÉ KOMISE PRO ZAJIŠŤOVÁNÍ DOBRÝCH ŽIVOTNÍCH PODMÍNEK POKUSNÝCH ZVÍŘAT K ZAHÁJENÍ PROJEKTU POKUSŮ

Členové odborné komise		Datum
Jméno, popřípadě jména a příjmení	Podpis	
Doc. Ing. Barbora Szotáková, Ph.D.		
MVDr. Lubomír Ducháček, Ph.D.		
PharmDr. Eva Doleželová, Ph.D.		
PharmDr. Ivan Vokřál, Ph.D.		

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Farmakokinetická a farmakodynamická analýza vyvíjených léčiv ze skupiny choleretik a protizánětlivých hepatoprotektiv a jejich formulací

Doba trvání projektu pokusů 1.1.2017-31.12.2019

Klíčová slova - *maximálně 5* choleretika, hepatoprotektiva, farmakokinetika, farmakodynamika

Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka

x	základní výzkum
	translační nebo aplikovaný výzkum
	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
	zachování druhů
	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
	trestní řízení a jiné soudní řízení

Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

Cílem pokusů je ověřit základní farmakokinetické a farmakodynamické vztahy choleretik a protizánětlivých hepatoprotektiv na bázi žlučových kyselin nebo ligandů FXR (farnesoid X receptor) a PXR (pregnane X receptor) nukleárních receptorů *in vivo*. Posuzována bude jak farmakokinetika (PK), tak farmakodynamika (PD). Získaná farmakokinetická (plazmatické koncentrace) i farmakodynamická data (exprese transportérů) budou využita k tvorbě matematických modelů.

Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)

Na základě dat z buněčných modelů a experimentálních zvířat bude vytvořen matematický PK/PD model pro studovanou látku, který umožní predikce optimálních dávkovacích režimů těchto látek u nemocných s cholestatickými nebo zánětlivými nemocemi jater.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Potkan kmene Wistar, samec. 25 zvířat na jednu látku. 100 potkanů v rámci celého projektu.

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Veškeré podávané látky byly již testovány na buněčných kulturách *in vitro* a také technikami *in silico* nebo jsou součástí humánní farmakoterapie. Pro omezení strádání zvířat v případě výskytu jakýchkoliv nežádoucích účinků budou zvířata po celou dobu experimentu v celkové anestezii. Na konci experimentu pak bude provedena eutanázie předávkováním celkového anestetika.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Pro experimenty na zvířatech budou vybrány látky, které budou selektovány na základě *in silico* a pomocí *in vitro* testů na buňkách, nebo jsou součástí standardní humánní farmakoterapie. Pro tyto látky nelze získat adekvátní PK/PD data alternativními modely.

Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

Předběžná farmakokinetická data budou získána po intravenózní a perorální aplikaci studovaných látek s následným odebráním vzorků krve z *arteria carotis* v různých časových intervalech. Díky tomu lze s využitím malého počtu zvířat studovat farmakokinetiku studovaných látek v plazmě. V dalších detailních experimentech, kde je již nutné odebrat také orgány pro následné histologické hodnocení, bude použito maximálně 4 zvířat pro jeden časový bod po aplikaci látky perorální cestou.

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat, a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.

Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.

K experimentům bude využito samců potkana kmene Wistar. Potkan je vhodným a často užívaným modelem pro studium farmakokinetiky léčiv, jelikož je možno snadno kanylovat *a. carotis* i žlučovod a tím snadno odebrat několik vzorků krve v rozmezí dostatečného časového úseku pro zhodnocení farmakokinetiky. Potkanům lze také snadno aplikovat testovanou látku intragastricky sondou. Operační zákroky, stejně tak, jako aplikace léčiv, budou prováděny vždy v celkové anestezii, aby se předešlo strádání zvířat v průběhu experimentu. U ustájených zvířat před experimentem i v průběhu experimentu bude sledován celkový tělesný stav, životní funkce, stav prostředí (podestýlka, stav klece) a chování. V případě jakéhokoliv zjištění nestandardního stavu jsou informováni vedoucí projektu pokusů a veterinární lékař, kteří rozhodnou o dalším postupu.