

## NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ

### Název projektu pokusů

**Studium účinků flavonoidů na kardiovaskulární systém potkana potkana *ex vivo* a *in vivo***

Doba trvání projektu pokusů do 12/2023

Klíčová slova - *maximálně 5* flavonoid, metabolit, fenolické kyseliny, céva, krevní tlak

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

<input checked="" type="checkbox"/>	základní výzkum
<input type="checkbox"/>	translační nebo aplikovaný výzkum
<input type="checkbox"/>	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
<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 nebo odborná příprava
<input type="checkbox"/>	trestní řízení a jiné soudní řízení

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

Flavonoidy (přijímané v potravě nebo ve formě potravních doplňků) mají podle řady epidemiologických studií antihypertenzní potenciál, jehož základem by mohlo být přímé vasodilatační působení. Na jejich účinku se mohou podílet jak mateřské látky, tak i jejich metabolity, které vznikají buď pomocí humánních enzymů, nebo mohou být produkovány mikrobiální flórou v trávicím traktu.

Cílem této studie je testovat a porovnat vasodilatační účinky vybraných flavonoidů a jejich metabolitů. V minulých letech jsme u některých metabolitů flavanolu a quercetinu objevili významný vasodilatační účinek a objasnili jeho základní mechanismy. V této práci chceme pokračovat testováním dalších flavonoidů a jejich metabolitů (např. komerčně nedostupné 4-methylcatecholsulfát nebo konjugáty isoflavonoidů). Nejprve proběhne studie *ex vivo* na hladkém cévním svalu (izolované kroužky cév – aorty a mezenterické cévy). Účinky nejučinnějších látek budou následně ověřeny *in vivo* u spontánně hypertenzních (kmen SHR) a normotenzních potkanů (kmen Wistar). Cílem našeho projektu je vyselektovat látky s významnou biologickou aktivitou, které by mohly přispívat k příznivým účinkům potravy bohaté na flavonoidy nebo být dokonce i perspektivní v prevenci nemocí kardiovaskulárního systému.

**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)**

Přírodní látky představují významný zdroj nových potenciálních léčiv. Studium flavonoidů a jejich metabolitů může přispět k nalezení významně účinných vasoaktivních látek i k vysvětlení jejich mechanismu účinku. Dále nové poznatky mohou napomoci potvrdit příznivé účinky flavonoidů na kardiovaskulární systém včetně odhalení možných příznivých interakcí stávajících léčiv ze všech farmakologických skupin s potravními doplňky s obsahem flavonoidů.

**Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá**

Pro řešení projektu budeme využívat spontánně hypertenzní potkany kmene SHR, samce a normotenzní potkany kmene Wistar, samce. Za celou dobu řešení projektu bude použito max. 200 ks potkana SHR na *in vivo* pokusy, max. 200 ks potkana Wistar na *in vivo* pokusy a max. 300 ks potkana Wistar na *ex vivo* pokusy.

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

Minimální, pokusy budou většinou probíhat v celkové anestezii. Neinvasivní měření tlaku krve je bezbolestné a bude probíhat bez anestezie. Princip měření je stejný jako u běžného měření tlaku krve u člověka pomocí nafukovací manžety na paži, u potkanů toto bude probíhat na ocase. V některých pokusech proběhne intravenózní aplikace. Tuto aplikaci standardně provádíme a její bolestivost a stresovost je podobná jako u i.v. aplikace u člověka. Navrhovaná klasifikace závažnosti pokusů je z tohoto důvodu mírná.

Na konci pokusu je zvíře usmrceno, pooperační péče není třeba.

**Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)**

**Nahrazení používání zvířat:** Uved'te, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Použití laboratorních zvířat je naprosto nezbytné, protože v současné době nelze jinými metodami spolehlivě ověřit účinek přímo na hladkém cévním svalu. Screeningová *ex vivo* metodika využívající izolované cévy ale výrazně sníží počet potřebných laboratorních zvířat.

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

Hodnocení vazodilatace probíhá na moderní aparatuře s citlivým počítačovým výstupem, což umožňuje měřit čtyři cévní segmenty z jednoho zvířete a tak snížit celkový počet zvířat ve studii. Z jednoho potkana budou získány i malé cévy (*a. mesenterica*) a odebrána krev na jiné užitečné experimentální účely (standardizace metodik k analýze hladin flavonoidů a jejich metabolitů). Pokusy *in vivo* neproběhnou u všech látek, ale jen u těch, kde na základě *ex vivo* výsledků budeme moci předpokládat účinek. V případě získání homogenních výsledků, bude použito jen 5 zvířat na skupinu.



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.

Pro oba typy experimentů *ex vivo* a *in vivo* jsme vybrali potkana, poněvadž budeme moci srovnávat výsledky na kardiovaskulární systém jak ze zdravého zvířete, tak ze zvířete s patologickým stavem (spontánně hypertenzní potkani). V zájmu experimentátorů je respektování etických principů při práci s laboratorními zvířaty, protože jakýkoliv stresový podnět vede ke zkreslení výsledků (odběr cévy bude prováděn v celkové anestézii a další manipulace s tkání probíhá již v *in vitro* podmínkách; v *in vivo* experimentech bude po celou dobu pokusu použita anestézie).