

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Testování vlivu nových agonistů FXR receptoru na homeostázu žlučových kyselin u myši

Doba trvání projektu pokusů do 12/2020

Klíčová slova - *maximálně 5* Agonisté FXR; žlučové kyseliny; myši

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)

Hlavním cílem projektu je proto zhodnotit *in vivo* účinky nových nadějných látek, které již prošly *in vitro* screeningem s velmi slibnými výsledky agonismu na FXR receptorech v porovnání s aktuálně dostupnými látkami. S ohledem na mechanismus účinku bude stanoven především vliv na homeostázu žlučových kyselin a potenciální pozitivní účinky během experimentální cholestázy.

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)

Očekávaným přínosem projektu by mělo být prokázání výraznějších pozitivních *in vivo* FXR účinků nových agonistů v nižších dávkách v porovnání s účinky obeticholové kyseliny (OCA), tj. FXR agonistou, který již prošel testováním a je zaváděn do klinické praxe. Tyto látky by pak v budoucnu mohly nahradit OCA v jejich indikacích s příznivějším poměrem žádoucích a nežádoucích účinků.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

K experimentům budou použiti dospělí (od 3 měsíce věku) myši samci kmene C57BL/6, u kterých je v literatuře dobře popsána reaktivita na FXR agonisty a také ethinylestradiolem indukovaný model cholestázy. Počet zvířat je maximálně 192 dospělých myši v 16 skupinách. Každá skupina vyžaduje použití dostatečného množství zvířat pro zajištění statistického hodnocení dat (nároky časopisů na statistické hodnocení nás vedou k plánování 12 jedinců na experimentální skupinu).

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

S ohledem na charakter účinku a výsledky dosavadních studií na stejném cholestatickém modelu a s použitím podobných látek lze předpokládat absenci objektivních nežádoucích účinků při takto krátké studii. Míra závažnosti je tedy nízká. Po ukončení pokusu budou ostatky zvířat náležitě skladovány v neprodyšných tmavých obalech v chladu (-20 °C) až do předepsané likvidace spalením.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Náhrada zvířat za alternativní *in vitro* model není možná, neboť sledujeme patofyziologickou odpověď celého orgánu a organismu. Regulace homeostázy žlučových kyselin navíc probíhá signalizací mezi játry a střevem za účasti několika buněčných typů. Odpovídající *in vitro* model není k dispozici. Nicméně pro experimenty bude použit jen nejnutnější počet zvířat - reduction. Refinement – experimenty bude provádět zkušený tým s vypracovanými postupy pro redukci utrpení zvířat. Všechny invazivní zákroky budou probíhat během celkové anestezie.

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

Struktura experimentů je navržena po důkladné teoretické přípravě v dané problematice a navazuje na dlouhodobé zkušenosti realizujícího týmu. Pro experimenty budou použity klinicky a preklinicky ověřené dávky v prověřených schématech. Všechny odebrané vzorky budou dlouhodobě skladovány v hlubokomrazicích boxech (-80 °C) pro možnost dodatečných analýz bez použití nových zvířat.

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.

Zvolený myši model intrahepatální cholestázy představuje „zlatý standard“ výzkumu v dané oblasti s minimalizací utrpení (pro jeho indukci není potřeba operační zákrok, je krátkodobý a cholestáza je mírnější), proto byl vybrán i pro naši studii. Tento přístup má proto největší pravděpodobnost uplatnění pro interpretaci takto získaných dat a jejich potenciální interpolaci do humánní medicíny. Snížení újmy zvířatům bude zabezpečeno vysokou kvalitou péče ve Viváriu postavené na zkušeném personálu, používáním anestetik při všech bolestivých procedurách a bezpečných látek v odpovídajících dávkových schématech.