

## NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

### Název projektu pokusů

Úloha pohlavních rozdílů v patofyziologie akutního selhání jater: translační studie s cílem definovat nové terapeutické možnosti

Doba trvání projektu pokusů v měsících

24

Klíčová slova

akutní jaterní selhání

thioacetamid (TAA)

hormonální substituce

pohlavní rozdíly

gonadektomie

### Účely projektu pokusů

Translační a aplikovaný výzkum: Gastrointestinální poruchy včetně jater u lidí [PT26]

0

0

0

### Cíle projektu pokusů

Bylo zjištěno, že samci ve srovnání se samicemi reagují na akutní selhání jater vyvolané pomocí thioacetamidu (TAA) zvýšenou mortalitou, a to především během prvních 72 hodin od začátku podávání TAA. Námi navržený projekt pokusu založený na hormonální substituci kastrovaných zvířat by měl přispět k objasnění role pohlavních rozdílů a jejich vlivu na průběh akutního jaterního selhání.

### Potenciální přínosy projektu pokusů

Získané poznatky by mohly najít uplatnění při vývoji nových selektivních léčebných terapií v rámci akutního jaterního selhání.

### Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Chirurgické zákroky se budou provádět vždy v celkové anestézii: kombinace calypsol (ketamin; 42 mg/kg) + midazolam (4,2 mg/kg), i.p. – gonadektomie (10-15 min).

Vlastní pokus bude trvat 3 týdny a 1 den u obou sérií. Série I: v den -15 bude zvířatům odebráno malé množství krve (cca 500 µl) z ocasní žíly pro stanovení hodnot plazmatických koncentrací estrogenu (E2) a testosteronu (T). V den -14 podstoupí 10ti týdenní zvířata kastraci nebo sham operaci. V den -2 bude opět zvířatům odebráno malé množství krve z ocasní žíly pro stanovení hodnot plazmatických koncentrací E2 a T. V den 0 bude zahájena hormonální substituce (podávání E2 nebo T) u vybraných skupin. V den +1, +2, +3 a +5 bude odebráno malé množství krve z ocasní žíly ke zjištění hladin plazmatických koncentrací E2 a T po podání hormonální substituce. V den +5 se u vybraných skupin zopakuje podání E2. Pokus bude ukončen v den +7 dekapitací. Série II: V den -15 bude zvířatům odebráno malé množství krve z ocasní žíly pro stanovení hodnot plazmatických koncentrací estrogenu (E2) a testosteronu (T). V den -14 podstoupí 10ti týdenní zvířata kastraci nebo sham operaci. Na základě výsledků z první série bude pár dní před začátkem podávání TAA zvířatům odebrána krev pro zjištění hodnot plazmatických koncentrací hormonů a současně

### Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata, a doba trvání těchto účinků

Gonadektomie představuje miniinvazivní výkon (10-15min. zákrok), s rychlým zotavením a téměř nulovou mortalitou. Případná mortalita může být způsobena náhlým krvácením při vlastní operaci. Po uspání se jako prevence dehydratace zvířatům podá temperovaný komplexní rehydratační roztok Duphalyte (bolus 5-10 ml/kg), s.c. Další tři dny po operaci bude Duphalyte podáván ředěný v pitné vodě pro lepší zvládnutí rekonvalescence. Pro zmírnění pooperačních bolestí bude prvních 24h aplikován Meloxicam, s.c. (1-2 mg/kg). V rámci série II (přeživací protokol) očekáváme zvýšenou úmrtnost u vybraných skupin v důsledku akutního selhání jater způsobeného podáváním toxického TAA, což je dáno charakterem pokusu.

### Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu

| Druh zvířat                                 | Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti |       |         |         |
|---------------------------------------------|------------------------------------------|-------|---------|---------|
|                                             | Nenabude vědomí                          | Mírná | Střední | Závažná |
| potkan laboratorní (Rattus norvegicus) [A2] | 0                                        | 0     | 61      | 175     |

| 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0                       | 0                                            | 0                  | 0 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------------------------------------|--------------------|---|
| 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0                       | 0                                            | 0                  | 0 |
| 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0                       | 0                                            | 0                  | 0 |
| <b>Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                         |                                              |                    |   |
| Druh zvířat                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Odhadovaný počet zvířat |                                              |                    |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Opětovné použití        | Navrácení do chovu, do přírodního stanoviště | Do zájmového chovu |   |
| 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0                       | 0                                            | 0                  |   |
| 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0                       | 0                                            | 0                  |   |
| 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0                       | 0                                            | 0                  |   |
| 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0                       | 0                                            | 0                  |   |
| <b>Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                         |                                              |                    |   |
| <p>Anestezie ovlivňuje hladiny měřených parametrů (hormony, bilirubin, ALT, AST, albumin a amoniak) v krvi, proto budou zvířata na konci pokusu usmrcena dekapitací, což je nejrychlejší, bezbolestný a nestresující způsob usmrcení. Po ukončení pokusu budou mrtvoly laboratorních potkanů umístěny do kafilérního chladicího boxu a odstraněny dle standardních a zákonem vymezených podmínek (viz. akreditace našeho pracoviště).</p> <p>Pokusná zvířata nebudou opětovně použita v jiném projektu pokusu.</p> |                         |                                              |                    |   |
| <b>Uplatňování 3R</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                         |                                              |                    |   |
| <b>Nahrazení používání zvířat</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                         |                                              |                    |   |
| <p>Plánované experimenty by měly přispět k objasnění role pohlavních rozdílů a jejich vlivu na průběh akutního selhání jater. Jedná se o komplexní záležitost, proto je možné provést pokusy pouze na experimentálních zvířecích modelech a v tomto rozsahu je nelze nahradit alternativním přístupem.</p>                                                                                                                                                                                                         |                         |                                              |                    |   |
| <b>Omezení používání zvířat</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                         |                                              |                    |   |
| <p>Díky přesně naplánovaným a dobře rozvrženým pokusům, odborné a precizní práci, správné a šetrné péči o zvířata bude jejich počet snížen na statisticky přijatelné minimum. Iniciální n zvířat jsou určena na základě statistických metod tak, aby byl minimalizován počet zvířat ve studii, ale zároveň abychom dokázali v průběhu a na konci experimentu získat dostatečné (ale ne zbytečně vysoké) n pro statistické zhodnocení výsledků této studie.</p>                                                     |                         |                                              |                    |   |
| <b>Šetrné zacházení se zvířaty</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                         |                                              |                    |   |
| <p>Budou použity ověřené a schválené operační postupy a vyšetření, se zvířaty bude po celou dobu nakládáno v souladu se zákonem, a to dle zákona České národní rady č. 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání v platném znění, osobami odborně způsobilými k těmto úkonům, a to tak, aby byla zajištěna maximální pohoda a dobrý zdravotní stav zvířat a minimalizovalo se utrpení a bolest zvířat.</p>                                                                                                       |                         |                                              |                    |   |
| <b>Použité druhy zvířat - vysvětlení</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                         |                                              |                    |   |

Projekt bude proveden na laboratorních potkanech (samice i samci; iniciační věk - 10 týdnů) kmene: HanSD (série I) a kmene Lewis (série II). Experimentální model akutního jaterního selhání bude navozen podáváním thioacetamidu (TAA). Takto vytvořený experimentální model je optimální pro studium akutního jaterního selhání. Gonadektomie a následné podávání hormonální substituce u vybraných skupin umožní sledování vlivu pohlavních rozdílů na průběh akutního jaterního selhání. Sham skupiny podstoupí stejnou operaci, ale bez výsledné kastrace.