

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Hodnocení metabolických a stresových hormonů v regulaci fyziologických a behaviorálních odpovědí.

Doba trvání projektu pokusů v měsících	35
Klíčová slova	metabolismus
hormony	příjem potravy
sytyost	0

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Endokrinní systém / metabolismus [PB10]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Cílem projektu je určit podíl hormonů regulujících hlad (ghrelin) a sytyost (leptin) a stresového kortikosteronu na určitém metabolickém fenotypu, který byl dříve zjištěn při nepřímé kalorimetrii geneticky modifikovaných kmenů myši.

Rutinně provádíme testy k vyhodnocení metabolického fenotypu na přístroji PhenoMaster (TSE). Jedná se o neinvazivní postup, kdy jsou myši umístěny do klece s přístupem k vodě a potravě, v této kleci analyzujeme plyny, spotřebu kyslíku a produkci CO₂. Při znalosti těchto hodnot můžeme vypočítat energetický výdej za určitou dobu, obvykle za 24 hodin. Sledujeme také množství zkonsumované potravy a nápojů a pohybovou aktivitu. Někdy pozorujeme výrazné rozdíly v příjmu potravy nebo celkovém energetickém výdeji a první otázka, kterou si položíme, je, zda genetická modifikace mění signalizaci hormonů regulujících chuť k jídlu. Proto by nám tato série experimentů pomohla prohloubit porozumění zjištěným skutečnostem.

Tato série navržených experimentů by nám měla pomoci odpovědět na otázku, zda metabolický fenotyp zjištěný u určitého geneticky modifikovaného kmene souvisí se změnou hormonální signalizace (leptin, ghrelin a kortikosteron).

Tato studie odpoví na otázku, zda existují rozdíly v koncentraci bazálních hladin těchto hormonů, nebo zda existuje změna v

Potenciální přínosy projektu pokusů

Tento projekt může přispět k identifikaci mechanismu metabolických poruch na úrovni hormonální regulace a může vést k vývoji nových studií, objevů nebo léků, které se budou používat při léčbě metabolických poruch, jako je obezita, metabolický syndrom a dokonce i diabetes.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Myši budou podrobeny sérii pokusů. S dobou zotavení mezi jednotlivými experimenty. Myši budou nejprve 10 hodin nalačno a poté jim bude podána intraperitoneální injekce leptinu nebo subkutánní injekce ghreluinu. Tento test tedy přidává do organismu exogenní hormon v dávce, která již byla publikována v literatuře. Těsně po injekci exogenního hormonu bude příjem potravy u zvířat kontrolován zcela neinvazivní metodou v rámci nepřímé kalorimetrie, kdy budou zvířata sledována individuálně po dobu kratší než 24 hodin. Při těchto pokusech se má testovat signalizace hormonálních receptorů s vědomím, že myši mají v těle určité množství hormonu a jak na něj fyziologicky reagují, v tomto případě sledováním hodnot příjmu potravy každou minutu. Budeme tak moci zjistit, kdy, kolik a jaké celkové množství potravy jsme přijali za dobu kratší než 24 hodin.

Následně plánujeme další experimenty, abychom vyhodnotili schopnost syntetizovat a vylučovat hormon do krevního oběhu. Myši se kvůli nim budou postit přibližně 16 hodin, a to po celou noc. Druhý den brzy ráno dostanou buď dávku jídla (kondenzované mléko), nebo nic, počkáme 1 hodinu a pak je uspíme inhalací Isofluranu 1-3 % ve vzduchu, abychom jim punkci v retroorbitální dutině odebrali 50 µl krve.

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

Krátkodobý stres a strach zvířete může být způsoben manipulací a také injekcí. Doba odnětí potravy je standardní, po níž následuje přístup k potravě ad libitum. Jedná se o standardní postup při některých metabolických studiích, jako je například intraperitoneální glukózový test. Kromě toho, abychom kompenzovali stres způsobený zvířatům v důsledku manipulace, injekcí nebo odebrání potravy, plánujeme pro myši mezi pokusy období zotavení, které se může pohybovat mezi 1 a 3 týdny.

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
myš laboratorní (Mus musculus) [A1]	0	288	0	0

0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi				
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	
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty				
Zvířata budou po ukončení pokusu utracena. Nelze je znovu uplatnit v dalším experimentu.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Fyziologické mechanismy a chování zvířat nelze adekvátně nahradit alternativní metodou.				
Omezení používání zvířat				
Počet zvířat použitých pro tento projekt je minimalizován na statisticky hodnotitelnou skupinu zvířat.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Myši budou pravidelně sledovány, budou zaznamenávány změny jejich chování, a pokud budou vykazovat známky výrazného stresu, budou utraceny. Kromě toho budou myši použity v řadě experimentů, aby se z nich získalo více parametrů a jejich smrt byla užitečnější.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Experiment bude proveden na dospělých myších kmene C57Bl/6N v kontrolních skupinách. Geneticky modifikované myši budou rovněž založeny na kmeni C57Bl/6N. Nepovažujeme za správné srovnávat odlišné kmeny myší, a proto neplánujeme srovnávat kontrolní myši C57Bl/6N s geneticky modifikovanými myši jiného kmene nebo živočišného druhu.