

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Role proteinu GDF11 (growth differentiation factor 11) při vzniku a rozvoji fibrózy jater u laboratorních myší a jeho vliv na metabolismus u obézních jedinců

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

od nabytí právní moci do 31.08.2025

Klíčová slova - maximálně pět¹⁾

Hepatocelulární karcinom, GDF11, NAFLD, obezita, fibróza

Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností

☒ základní výzkum

☐ translační a aplikovaný výzkum

☐ kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)

☐ legislativní účely jiné zkoušení účinnosti a tolerance

☐ a běžná výroba zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie

☐ běžná výroba

☐ ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat

☐ zachování druhů

☐ vyšší vzdělávání

☐ odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí

☐ trestní řízení a jiné soudní řízení

☐ udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech

Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb

Cílem předloženého projektu je zjistit vliv proteinu GDF11 na rozvoj fibrotické tkáně a progresi NASH. Jedním z vysoce rizikových faktorů pro vznik hepatocelulárního karcinomu (HCC), který je třetím nejzhoubnějším nádorovým onemocněním, je přítomnost fibrotické tkáně. Rozvoj fibrózy v játrech je přirozeným opravným mechanismem reagujícím na různé typy poškození, včetně lipotoxicity vyvolané nadměrným ukládáním tuku v játrech (NAFLD), které je velice časté ve vyspělých zemích (až 30% populace s NAFLD). GDF11 patří do rodiny proteinů TGF- β , které jsou významným činitelem při vzniku fibrózy, a je doposud označován jako „anti-aging“ faktor s komerčně terapeutickým využitím pro „omlazování“ lidského organismu.

Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)

Vzhledem k tomu, že doposud neexistuje žádná studie sledující vliv proteinu GDF11 na rozvoj fibrotické tkáně a progresi NAFLD/NASH u myšího modelu HFD +DEN/CCL4, je předpokládán přínosem studie zjištění potencionálních negativních účinků GDF11 na jaterní tkáň s ohledem ke komerčním snahám využití GDF11 jako terapeutického prostředku k „omlazování“ organismu u člověka.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání

Intraperitoneální aplikace DEN jednorázově ve věku 5-6 týdnů všem zvířatům. U 40 myší se bude podávat CCL4 po dobu 8-12 týdnů a to v celkovém počtu 24 injekcí v rozestupu minimálně 3-4 dnů. Intraperitoneální aplikace GDF11 denně po dobu 30 dnů u 40 myší. Intraperitoneální aplikace fyziologického roztoku denně po dobu 30 dnů u 40 myší. Odběr vzorku krve z ocasní žíly 3x v průběhu studie s odstupem minimálně 1 měsíce u všech myší. Intraperitoneální aplikace glukózy jednorázově u 40 myší. Intraperitoneální aplikace inzulinu jednorázově u 40 myší. Po ukončení experimentu budou zvířata utraceny předávkováním anestetikem a zlomením vazů. Jejich tkáň a orgány budou odebrány pro následovné analýzy.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků

U experimentální skupiny se předpokládá středně závažné zhoršení celkového zdravotního stavu, vzhledem k rozvoji obezity, NAFLD/NASH a opakovaného podávání CCL4 a GDF11/fyz.roztoku.

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

Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	80			80	

Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena

Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití

0

Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu

0

Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu

0

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte

N/A

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu

U tohoto typu experimentu není možná alternativa *in vitro* možná, jelikož se jedná o primární výzkum komplexní odpovědi a buněčných interakcí v kombinaci s podáváním rekombinantních proteinů.

Omezení používání zvířat - vysvětlete, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).

V případě použití nízkého počtu jedinců by při neúplné fenotypové penetranci mohlo dojít k nedostatečné síle výsledků a nutnosti opakování experimentu. Proto jsou počty zvířat ve skupinách optimalizovány s ohledem na proveditelnost studie i s ohledem na předchozí publikované výsledky.

Setrné zacházení se zvířaty - uveďte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu

Se zvířaty bude zacházeno s cílem minimalizovat negativní dopad a diskomfort. Manipulace bude prováděna v souladu se zákonem 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů a v souladu s vyhláškou č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat.

Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií

Myš představuje model, vhodný pro sledování rozvoje obezity, NAFLD, NASH a nádorů zažívacího traktu. Zároveň je patologie těchto onemocnění, rovněž jako spouštěcí mechanismy (až na malé výjimky) obdobná jako v lidské populaci. Myší experimentální model byl zvolen díky standardizování postupů se snížením vlivu vnějších proměnných.

Pro projekt byly vybrány myši kmene C57BL/6, které jsou modelovým kmenem pro studium onemocnění gastrointestinálního traktu a představují tzv. chemický/stravovací model NAFLD, NASH a HCC. Existuje pozitivní korelace mezi HCC a androgeny, proto byli pro studii vybráni samci.

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nespecifikovaného savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech