

NETECHNICKÉ SHRNTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569	
Název projektu pokusů	
Perorální aplikace oligomerů kyseliny mléčné jako zdroj laktátu	
Doba trvání projektu pokusů - v měsících	1. 12. 2020 – 30. 6. 2023
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾	Diabetes mellitus, obezita, oligomer laktátu, kyselina mléčná, střevní mikroflóra
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
☐	a běžná výroba
☐	jiné zkoušení účinnosti a tolerance
☐	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 tohoto projektu je analyzovat účinky oligomerů kyseliny mléčné, které jsou v trávicím traktu rozkládány zpět na monomerní kyselinu mléčnou vlivem trávicích enzymů. Ta je následně neutralizována trávicími šťávami za vzniku laktátu. Chtěli bychom zjistit, zda podávání oligomeru laktátu může vést k redukci hmotnosti a zlepšení parametrů spojených s obezitou a diabetes mellitus 2. typu, jako je snížení glykémie, koncentrace inzulinu a triacylglycerolů, zlepšení inzulinové senzitivity, dále potlačení produkce patofyziologických adipokinů nebo zánětlivých cytokinů. Současně nás bude zajímat vliv na trávicí trakt.	
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)	
Tento projekt přinese nové poznatky o úloze laktátu při obezitě a diabetes mellitus 2. typu. Laktát by mohl sloužit v prevenci a terapii civilizačních chorob, které v současné době v České republice i ve světě představují nejvýznamnější příčinu úmrtí a invalidit, a zdaleka nejvyšší ekonomickou a personální zátěž zdravotního a sociálního systému. Jedná se především o obezitu a s ní související metabolický syndrom, aterosklerózu, jejich následky a komplikace. Laktát působí jako metabolický substrát a signální molekula na střevní stěnu, střevní mikroflóru a po vstřebání též na celý organismus. Laktát se účastní inzulinové signalizace, v imunitních buňkách tlumí zánětlivou signalizaci a imunitní odpověď, rovněž tlumí produkci hormonu ghrelinu, jenž je zodpovědný za pocit hladu.	
Přímá konzumace kyseliny mléčné nebo laktátu je však spojena se silnými nežádoucími vedlejšími účinky, především pokud jsou podávány ve vyšším množství. Kyselina mléčná je silně kyselé a může poleptat trávicí trakt. Laktát sodný zase výrazně zvyšuje denní dávku sodíku. Koncentrované roztoky laktátu i kyseliny mléčné mohou poškodit trávicí trakt skrze neúměrný osmotický stres. Vhodným řešením je podávat kyselinu mléčnou/laktát ve formě oligomeru.	
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání	
Myši budou v průběhu 6 měsíčního období krmení vysokotukovou a standardní dietou váženy (1x měsíčně), v průběhu podávání oligomeru laktátu budou váženy (1x týdně) a před ukončením experimentu bude proveden orální glukózový toleranční test (podání glukózy žaludeční sondou v objemu 0,5 ml). V rámci jednoho experimentu bude myšim podáván oligomer laktátu per orálně (žaludeční sondou 2x týdně po dobu 6 týdnů v objemu 1 ml).	
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků	

Obezita a ztráta hmotnosti obézních myší na standardní hmotnost, možný negativní vliv na trávicí trakt.					
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu					
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhado- vaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	120		120		
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
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 - <i>uved'te</i>					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - <i>uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>					
Prohlašujeme, že pokus na zvířecích modelech nelze nahradit alternativními metodami. Zvířecí model jako jediný umožňuje testování, které dosud nelze jinými metodami nahradit, protože poruchy provázející diabetes mellitus 2. typu jsou komplexní a projevují se současně v řadě orgánů, farmakologickou léčbu je rovněž nezbytné sledovat na celém organismu.					
Omezení používání zvířat - <i>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).</i>					
Uvedený počet zvířat odpovídá takto prováděným metabolickým experimentům a jde o minimální možný počet zajišťující validní statistické posouzení.					
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uved'te 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</i>					
Jedná se o celosvětově nejpoužívanější zvířecí model obezity, inzulinové rezistence a diabetes mellitus 2. typu. Vlastní experiment nepředstavuje pro zvířata významnější zátěž. Se zvířaty bude nakládáno podle zásad bezbolestného zacházení se zvířaty. Oligomery laktátu budou podávány v dietě nebo perorálně, což je u myších modelů standardní způsob aplikace a nevede k žádnému utrpení zvířat. Pokusná zvířata nebudou opětovně používána. Stav zvířat bude pravidelně kontrolován vedoucím pokusů, nebo jím pověřenou kvalifikovanou osobou, experiment bude ukončen při zhoršení zdravotního stavu zvířete. Dodržování předpisů ochrany zvířat kontroluje pravidelně vedoucí pokusů, nebo jím pověřená kvalifikovaná osoba.					
Použití druhů zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
Pro experimenty budou využiti samci myšího kmene C57BL/6, který je celosvětově nejpoužívanějším experimentálním modelem obezity spojené s diabetes mellitus 2. typu. U zvířat krmených vysokotukovou dietou se po určité době vyvine obezita spojená s inzulinovou rezistencí a počátečním stádiem diabetes mellitus 2. typu, charakterizovaným zvýšenou glykemií na lačno.					
Zvířata budou dodána ve věku cca 5-7 týdnů. Následovat bude 6 měsíční podávání standardní a vysokotukové diety, což je v souladu s běžně používaným protokolem pro studie tohoto typu. Samotné pokusy s oligomerem laktátu budou trvat 3 a 6 týdnů. Plánujeme 3 experimenty, kdy v každém pokusu budou vytvořeny 4 skupiny, a každá skupina bude mít konečný počet zvířat 10. Uvedený počet zvířat na skupinu odpovídá takto prováděným metabolickým experimentům a jde o minimální možný počet zajišťující validní statistické posouzení. Předpokládáme využití celkem 120 zvířat.					

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