

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 80/2020

upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Souvislost obezity, diabetu a neurodegenerace: nový terapeutický potenciál analogů peptidu uvolňujícího prolaktin

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

48

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

Obezita, diabetes 2. typu, neurodegenerace, peptid uvolňující prolaktin, potkan

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

Cíle pokusu: sledování mechanismů účinku stabilních analogů peptidu uvolňujícího prolaktin (PrRP) na příjem potravy, metabolické parametry a neurodegenerativní změny u štíhlých a obézních potkanů, sledování vzájemných vztahů těchto analogů a dalších peptidů ovlivňujících příjem potravy. Odběr vzorků moče, krve a tkání pro hledání markerů obezity, diabetu 2. Typu a neurodegenerace pomocí metabolomických přístupů. Použitými látkami jsou lipidizované stabilní analogy PrRP, které jsou syntetizovány na UOCHB AV ČR.

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)

Dosažené výsledky experimentů by mohly být využity k pochopení mechanismu účinku PrRP, který je považován za potenciální léčivo obezity, diabetu 2. typu a neurodegenerace.

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

Zvířata budou krmena standardní dietou (Ssniff – Spezialdiäten GmbH, Soest, Germany) a dietou s vysokým obsahem tuku (D12492 – Research Diets Inc., USA) za volného přístupu k picí tekutině (voda). Budou jim s.c. a i.p. podávány analogy studovaných peptidů. Od potkanů bude neinvazivně odebírána moč v metabolických klecích (vždy přes noc).

Konec experimentu: Před usmrcením zvířat jim bude proveden odběr krve v izofuranové narkóze punkcí břišní aorty, zvířata budou následně usmrcena a budou odebrány vzorky tkání (např. srdce, ledviny, tuková tkáň apod.). Celkový čas potřebný k odběru krve a tím zabití zvířat nepřesahuje 3 min.

Měření krevního tlaku: V inhalační narkóze (inhalace 2,5 % isofluranu) za sterilních podmínek bude zavedena kanyla do arterie carotis pro přímé měření krevního tlaku, pro potřebu intravenózní aplikace látek bude rovněž zavedena kanyla do jugulární vény. Kanyly budou vyvedeny v intraskapulární oblasti a operační rána bude zašita a zacelena colodiem. Ke zmírnění pooperační bolesti budou podána analgetika (20 mg Panadolu pro děti na 100 ml vody do napáječky první dva dny po operaci, poté se dávka na cca 4-5 dnů sníží na polovinu). Arteriální kanyla je pro potřebu měření krevního tlaku kanyla připojena k tlakovému čidlu pomocí kanyly naplněné sterilním fyziologickým roztokem.

Aplikace látek: V průběhu studie budou používány lipidované analogy PrRP (připravované v UOCHB), které mají vliv na příjem potravy a tělesnou hmotnost. Jednotlivé látky budou aplikovány systémově, přičemž cesta podání bude závislá na příslušném experimentu (s.c.- 5 mg/kg, i.p.- 5 mg/kg, v objemu 0,1 ml/100

gr.). Při akutních exp. Jsou látky podávány 1-3 dny, v dlouhodobém experimentu jsou látky podávány 2 týdny až 2 měsíce podle cílů jednotlivých experimentů.

Odběr vzorků: Pro neinvazivní odběr moče budou použity metabolické klece. Po ukončení pokusu bude zvířatům v celkové isofluranové narkóze odebrána krev punkcí břišní aorty a následně budou zvířata usmrcena (předávkováním anestetikem) a budou jim odebrány tkáně pro další molekulární a biochemické měření. Vzorky tkání jsou podle potřeby zmrazovány v suchém ledu, tekutém dusíku, nebo fixovány ve 4% paraformaldehydu.

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

Pokud bude nutné (operace a. carotis, v. jugularis) a při odběrech krve těsně před usmrcením zvířat na konci experimentu, bude použita anestézie izofluranem (dávkování pomocí narkotizačního přístroje – obv. 2,5%), popřípadě pentobarbitalem (50 mg/kg). V pooperační péči bude k potlačení bolesti používán ibuprofen (20 mg Ibuprofenu – Ibalgin BABY SIRUP na 100 ml vody do napáječky první dva dny a pak se dávka snižuje na polovinu. Drobná operační rána je zašita chirurgickým hedvábím a překryta colodiem. Zvířata jsou neustále pod vizuální kontrolou odborného personálu.

Vzhledem k tomu, že jsou zvířatům podávány látky na bázi PrRP, které vedou ke snížení příjmu potravy, je očekáván pokles tělesné hmotnosti. Předběžné výsledky však naznačují, že nikdy nedochází ke snižování svalové hmoty, ale že pokles hmotnosti se týká snižování množství tukové tkáně. Podávání našich látek nevede ke snížení hybnosti ani jiným nepříznivým projevům chování.

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
Potkan laboratorní (Rattus norvegicus)	Max. 300			Max. 300	
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					

Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena

Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití	žádná
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu	žádná
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu	žádná
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte	

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

V případě experimentů monitorujících regulaci příjmu potravy, metabolický syndrom a neurodegeneraci nelze pokusná zvířata nahradit.

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).

Počty zvířat jsou vždy minimální dosahující takových počtů, aby byly dosaženy výsledky odpovídající statistickým metodám a nebylo nutné experimenty opakovat.

Šetrné 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 je zacházeno velmi šetrně a zcela v duchu zákona o ochraně zvířat proti týrání. Pooperační péče je prováděna tak, aby zvířata trpěla co nejméně (viz výše).

Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií

K experimentům jsou používáni potkani různých kmenů. Jedná se o zvířata, která se nejlépe hodí ke studiu cílů v rámci PP.

- 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