

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Farmakokinetika kyseliny hyaluronové v kombinaci s hydrolyzátem kolagenu

Doba trvání projektu pokusů v měsících

36

Klíčová slova

kyselina hyaluronová

hydrolyzát kolagenu

perorálně

mikrobiom

metabolismus

Účely projektu pokusů

Translační a aplikovaný výzkum: Poruchy svalové a kosterní soustavy u lidí [PT27]

Translační a aplikovaný výzkum: Poruchy imunity u lidí [PT28]

Translační a aplikovaný výzkum: Endokrinní/metabolické poruchy u lidí [PT31]

0

Cíle projektu pokusů

Cílem předkládaného projektu pokusů je popsat absorpci, tkáňovou distribuci, metabolismus i způsoby exkrece kyseliny hyaluronové o různé molekulové hmotnosti v kombinaci s hydrolyzátem kolagenu u mnohobuněčného organismu a jejich vliv na složení střevního mikrobiomu.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Kyselina hyaluronová, tělu vlastní biopolymer obsažený v extracelulární matrix, je často využívanou součástí řady léčiv a potravinových doplňků. Perorálním podáním nové unikátní kombinace kyseliny hyaluronové s hydrolyzátem kolagenu získáme nové specifické biologické vlastnosti perorálně podaného preparátu, které budou předmětem výzkumu. Mezi ně patří mimo jiné specifické vlastnosti spojené s metabolismem kyseliny hyaluronové a hydrolyzátem kolagenu v těle a vliv kombinace výše uvedených látek na složení a funkci střevního mikrobiomu. Očekávaným přínosem projektu bude pochopení mechanismů degradace kyseliny hyaluronové v kombinaci s hydrolyzátem kolagenu po perorálním podání a jejich vliv na střevní mikrobiom, což je základním předpokladem pro jejich následné využití na trhu potravinových doplňků.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

V průběhu trvání projektu pokusu bude myším C57Bl/6J perorálně podávána kyselina hyaluronová v kombinaci s hydrolyzátem kolagenu sondou do žaludku a to jednorázově nebo opakovaně v dávce 100 µl (50 mg kyseliny hyaluronové/kg; 50 mg hydrolyzátu kolagenu/kg). Pro stanovení metabolismu podávaných látek budou po omezenou dobu (po dobu maximálně 72 hodin) zvířata umístěna do metabolických klecí (po třech jedincích na klec) za účelem sběru moči a exkrementů obsahujících testované látky či jejich metabolity. Při ukončování experimentů bude navozena celková narkóza pomocí inhalační anestezie (Isoflurane, 2,5-5%) a bude odebrána krev kardiopunkcí, po které již pokusné zvíře nenabude vědomí. Následně bude proveden odběr vzorků tkání: mozek, játra, plíce, srdce, ledviny, štítná žláza, slezina, žlučník, žluč, žaludek, tlusté střevo, tenké střevo, viscerální tuk, krevní buňky, plazma, moč, kost kloubní, kůže, exkrementy a obsahy žaludku, tenkého střeva, céka a tlustého střeva.

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

Perorální podání sondou do žaludku může vyvolat mírný stres. Zvířata budou usmrcena expozicí inhalační anestezie (Isoflurane, 2,5-5%) a následným odběrem maximálního množství krve kardiopunkcí.

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	440	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				
Z důvodu odběru vnitřních orgánů budou zvířata usmrcena expozicí inhalační anestezie (Isoflurane, 2,5-5%) a následným odběrem maximálního množství krve kardiopunkcí.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Zmíněným experimentům předcházelo rozsáhlé testování na různých střevních in vitro modelech, nicméně plánované pokusy na zvířatech nelze nahradit alternativními metodami. Podmínky in vitro nedostatečně simulují působení testovaných látek na odpověď mnohobuněčného savčího organismu. Studium v podmínkách in vivo je tedy jedinou možností, jak sledovat farmakokinetiku nativní kyseliny hyaluronové o různé molekulové hmotnosti v kombinaci hydrolyzátem kolagenu, navíc v kontextu specifického mikroprostředí, přítomnosti střevního mikrobiomu a imunitního systému.				
Omezení používání zvířat				
Počet zvířat bude omezen na množství minimálně nutné pro statistické vyhodnocení dat získaných z pokusů, které budou průběžně vyhodnocovány. Všechny potřebné vzorky mohou být izolovány ze stejného pokusného zvířete, což výrazně omezí celkové množství zvířat použitých v experimentech.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Během všech experimentů bude se zvířaty zacházeno šetrným způsobem tak, aby jim nebyla působena nadměrná bolest, stres, strach a utrpení. Se zvířaty bude zacházeno klidně, vybraní jedinci budou umístěni v definovaných podmínkách metabolických klecí v místnosti k tomu určené. V případě, že některý pokusný zásah způsobí zvířeti obtíže, které významně změní kvalitu jeho života, bude takové zvíře neprodleně vyřazeno z pokusu a utraceno.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Studie bude provedena na dospělých samicích myšího kmene C57Bl/6J, k tomuto účelu vhodných a běžně používaných. Díky zásadnímu vlivu složení střevního mikrobiomu u experimentálních zvířat, bude nezbytné myši kmene C57Bl/6J za účelem tohoto konkrétního experimentu množit ve zvěřinci BFÚ. U komerčně získaných zvířat není možné dosáhnout dostatečného sjednocení mikrobiálního složení ani při delším společném ustájení v chovných nádobách. Z důvodů nutného statistického hodnocení je v průběhu řešení projektu plánováno použití celkem 10 zvířat v jedné experimentální skupině. Celkově se tedy jedná o 7 časových intervalů a 3 typy podání (1x jednorázové a 2x opakované). Hodnocení bude prováděno pro kontrolní skupinu a 3 různé kombinace kyseliny hyaluronové a hydrolyzátu kolagenu. Celkem se tedy jedná o 440 myší, a to včetně kontrolních jedinců. Na základě vyhodnocení průběžných výsledků experimentů z uvedených pokusů v počátečních fázích trvání projektu pokusů bude minimalizován počet experimentálních zvířat v navazujících fázích.