

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Sledování metabolických drah in vivo.

Doba trvání projektu pokusů v měsících	48	
Klíčová slova	myši	
metabolismus	diabetes	
tuková tkáň	játra	

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Endokrinní systém / metabolismus [PB10]

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

0

0

Cíle projektu pokusů

Hlavním cílem studie je prozkoumat interakce metabolických drah v bílé tukové tkáni a dalších tkáních během přechodu z hladu do postprandiálního stavu (zejména de novo lipogeneze a cyklování triacylglycerolů a mastných kyselin) a objasnit mechanismus řízení těchto procesů, včetně zapojení lipidové signalizace skrze větvené estery mastných kyselin (FAHFA). Navazujícím cílem je sledování meziorgánové komunikace na úrovni cyklujících systémových metabolitů i tkáňově-specifických metabolitů.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Výsledky předkládaných pokusů mají napomoci k identifikaci mechanismů řídících lipidový i sacharidový metabolismus mezi orgány a mohou mít potenciálně i terapeutické využití.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Při operačních výkonech bude otevřena břišní dutina (vkládání čipu) nebo nastřížena kůže na zádech (aplikace osmotické pumpy či rozpustné tablety). Rána bude poté zacelena chirurgickými svorkami nebo sešita ručně. Proběhne lokální ošetření antibiotikem (framycinem) a zvíře dostane jednorázově subkutánně dávku analgetika Rimadylu (5 mg carprofenu / kg BW). Zvířata budou monitorována do úplného probuzení. V pooperačním stadiu budou myši umístěny v chovných nádobách po jedné s volným přístupem k napájení a krmivu, které bude pro usnadnění přístupu umístěno přímo na dně chovné nádoby. Podobně bude usnadněn přístup zvířat k vodě, aby byla zajištěna dostatečná hydratace. Zvířata budou v pooperačním období 1-2 krát denně kontrolována. Během studia vlivu tělesného cvičení na metabolismus organismu budou myši vystaveny fyzické námaze buď v rámci jednorázového cvičení nebo dlouhodobého tréninku po dobu 6 týdnů (tj. chronické cvičení).

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

U zvířat nejsou očekávány významné nežádoucí účinky. Navrhovaná míra závažnosti pokusů je nejvýše střední. Po operačních zákrocích (implantace čipu před nepřímou kalorimetrií, osmotických pump) lze očekávat mírnou bolest, která bude zmírněna podáním analgetik injekcí Rimadylu (5 mg carprofenu / kg BW) jednorázově. U některých pokusů bude zvíře vystaveno chladu (6-10°C) (0-7 dnů). V některých studiích bude zvířatům podávána vysokotuková dieta a jsou očekávány výrazné přírůstky hmotnosti (8 týdnů). Při ukončení pokusů budou zvířata usmrcena cervikální dislokací v celkové anestézii isofluranem, pentobarbitalem, případně kombinací anestetik Ketamin/Xylazin a umístěny do sběrných nádob kafilerního boxu. Odvoz kadaverů zajišťuje asanační služba.

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	0	600	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 na konci pokusu usmrcena, aby jim mohla být odebrána krev a dále vybrané tkáně (např. tuk, játra, sval) na následnou analýzu.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat

Jedná se o studium komplexních mechanismů regulace metabolismu a energetické rovnováhy organismu, které nelze studovat např. s pomocí in vitro modelů.

Omezení používání zvířat

Počty zvířat v jednotlivých skupinách vycházejí z předchozích experimentů i ze studia odborné literatury (zdroj: databáze PubMed), které pro většinu měřených parametrů stanovily minimální velikost skupin 6-10 myší na skupinu tak, aby se dosáhlo statisticky významných rozdílů v daném pokuse, pokud jsou tyto přítomny.

Šetrné zacházení se zvířaty

V průběhu operačních zákroků (instalace čipů pro nepřímou kalorimetrii, osmotických pump) budou zvířata v celkové anestézii navozené inhalací isofluranu a analgézií navozené subkutánní injekcí Rimadylu. U zvířat pod anestézií bude dbáno na prevenci podchlazení použitím vyhřívacích podložek nebo zvýšené teploty vzduchu. V pooperačním stadiu budou myši umístěny v chovných nádobách po jedné s volným přístupem k vodě a krmivu, které bude pro usnadnění přístupu umístěno přímo na dně chovné nádoby. Před usmrcením na konci pokusů budou zvířata dle potřeb jednotlivých experimentů uspána isofluranem, pentobarbitalem, případně kombinací anestetik Ketamin/Xylazin.

Použité druhy zvířat - vysvětlení

Myš (*Mus musculus*) je ideálním modelem pro studium obezity stejně jako pro studium prevence a léčby metabolických onemocnění asociovaných s obezitou vlivem nutrice. Mezi hlavní výhody využití myší patří relativní nenáročnost jejich chovu a dostupnost inbredních a mutantních myších kmenů.