

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Perorální aplikace oligomerů kyseliny mléčné jako zdroj laktátu

Doba trvání projektu pokusů v měsících	29
Klíčová slova	Diabetes mellitus
obezita	oligomer laktátu
kyselina mléčná	střevní mikroflóra

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Endokrinní systém / metabolismus [PB10]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

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 redukcí hmotnosti a zlepšení parametrů spojených s obezitou a diabetes mellitus 2. typu, jako je snížení glykémie, koncentrace inzulínu a triacylglycerolů, zlepšení inzulínové senzitivity, dále potlačení produkce patofyziologických adipokinů nebo zánětlivých cytokinů. Současně nás bude zajímat vliv na trávicí trakt.

Potenciální přínosy projektu pokusů

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 inzulínové 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 kyselá 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

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 myším podáván oligomer laktátu per orálně (žaludeční sondou 2x týdně po dobu 6 týdnů v objemu 1 ml).

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata, 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	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
	Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
myš laboratorní (Mus musculus) [A1]	0	200	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				
Není počítáno s opětovným použitím pokusných zvířat. Pokusná zvířata budou po ukončení pokusu předávkována anestetikem, a následně dekapitována.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
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				
Uvedený počet zvířat odpovídá takto prováděným metabolickým experimentům a jde o minimální možný počet zajišťující validní statistické posouzení.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
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.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

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 inzulínovou 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 1 experiment s 8 skupinami pro zjištění optimální dávky oligomeru laktátu, určením vlivu nežádoucích účinků v případě delší expozici léčivu, každá skupina bude mít konečný počet zvířat 10. Následovat budou 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 200 zvířat.