

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 75/2020

upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Metabolická fenotypizace- měření teploty hnědé tukové tkáně

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

18

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

metabolická fenotypizace, hnědá tuková tkán, kalorimetric

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
☐	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 pokusů je měření teploty pomocí telemetrických sond a dokumentace aktivace hnědé tukové tkáně. Tedy synchronní měření teploty v intraperitoneálním prostředí a v hnědé tukové tkáni současně u jednoho zvířete, dokumentace aktivace vzniku tepla v hnědé tukové tkáni a korelace s měřením nepřímé kalorimetrie. Dalším cílem je využití charakterizace aktivace hnědé tukové tkáně pomocí indukce s vysokotučnou dietou za snížené teploty a injekce noradrenalinu. Tento model může být důležitý pro výzkum aktivace hnědé tukové tkáně u modelů kalorického přebytku.

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)

Aktivace a indukce hnědé tukové tkáně je dlouhodobý cíl pro léčbu metabolických poruch spojených s obezitou.

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

1x zavedení teplotní sondy – operace (cca 1 hodinu), odebrání svorek 3-5 den a následně rekonvalescence týden

U skupiny s noradrenalinem bude aplikován intraperitoneálně a jednorázově (1 minuta)

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

Zavedení teplotní sondy: předpokládáme velmi rychlé hojení a po cca 3-5 dnech budou vytaženy stehy/svorky. Myš bude umístěna do termoneutrálního prostředí o teplotě cca 30 °C po 2 dny s běžnou podestýlkou, krmením a vodou ad libitum a denně bude sledován zdravotní stav s písemným zápisem. Předpokládaná doba rekonvalescence bude jeden týden po operaci.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu

Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	56			x	
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>	
Alternativní metody nepostihují složitost zkoumané problematiky, a proto bohužel nemohou nahradit navrhované pokusy. Mechanismus a hlavně měření teploty hnědého tuku <i>in vivo</i> nebyl dosud popsán (použité databáze: PUBMED, ChemSpider, AltTox) a je nutné ho prozkoumat.	
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>	
V každé skupině bude testováno maximálně 8 myší a celkově máme 6 experimentálních skupin. Celkový minimální počet zvířat bude 48 myší. Je to nezbytný minimální počet pro zajištění statistické významnosti a interpretovatelnosti výsledků a pro stanovení aktivity / měření teploty hnědého tuku. Celkový maximální počet zvířat v případě, že bude nutné pokus ukončit a opakovat, bude za celou dobu projektu 66.	
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>	
Jako post operační analgezie je použit buprenorphine 0,05-2 mg/kg s.c., carprophen 5 mg/kg s.c.. Myš je do probuzení umístěna na vyhřevné podložce. Díky použití operačních technik, které omezují na minimum traumatizaci tkání, dochází k velmi rychlému hojení a po cca 3-5 dnech jsou vytaženy stehy/svorky. Myš je umístěna do termoneutrálního prostředí o teplotě cca 30 °C po 2 dny s běžnou podestýlkou, krmením a vodou ad libitum a denně je sledován zdravotní stav s písemným zápisem.	
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>	
Pro experiment byl vybrán kmen myší C57Bl6N. Tento kmen má řadu výhodných vlastností, jako je definované genetické pozadí, sofistikované nástroje pro analýzu. Pro využití těchto hlodavců jako modelu a jejich případných fyziologických a patologických vlastností funkcí je však nejdůležitější značná podobnost organismů, příbuznost genetické výbavy a metabolismu s člověkem.	

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