

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Vliv inhibitorů lipolýzy na změny metabolismu lipidů a sacharidů indukované intermitentní hypoxií u myší (AZV ČR - NU21-01-00259)

Doba trvání projektu pokusů v měsících	30
Klíčová slova	myš
hypoxie	steatohepatitida
0	0

Účely projektu pokusů

Translační a aplikovaný výzkum: Gastrointestinální poruchy včetně jater u lidí [PT26]

0
0
0

Cíle projektu pokusů

Syndrom obstrukční spánkové apnoe (OSA) je onemocněním charakterizované opakovanými kolapsy stěny horních cest dýchacích, které vedou k poklesu ventilace s následným poklesem parciální tlaku kyslíku v krvi. Tyto změny jsou doprovázeny vegetativními změnami. OSA je spojen se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních, nádorových a metabolických onemocnění a je provázen změnami v lipidového a sacharidového metabolismu.

Hlavním cílem projektu je zhodnotit vliv nově izolovaných antilipolytických působících látek na metabolismus lipidů a sacharidů indukovaný intermitentní hypoxií a porovnat jejich účinek s klinicky používaným inhibitorem hormon-senzitivní lipázy. Dvě antilipolytické působící látky budou vybrány po provedení experimentů in vitro. Z testovaných polárních a nepolárních extraktů rostlin (artemisiascoparia, ginseng panax quinquefolius, resp. panax ginseng a phellodendron sp. (p. amurense, p. chinense Schneid) budou zvoleny 2 látky s nejlepšími výsledky v pokusech in vitro.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Vzhledem k tomu, že OSA se častěji vyskytuje u obézních pacientů, kteří trpí často metabolickým syndromem či nealkoholovým tukovým onemocněním jater, je cílem projektu zhodnotit účinek těchto látek i u dietně indukované nealkoholové steatohepatitidy (NASH).

Zjištění účinku testovaných látek by mohlo přispět k prohloubení současného poznání patogeneze OSA a rovněž by mohlo pomoci naznačit cílení terapeutického úsilí při léčbě metabolických komplikací tohoto syndromu u lidí.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Plánováno je 160 dospělých samců myší. Myši budou rozděleny do 2 skupin, v první skupině budou živeny kontrolní dietou a pitnou vodou ad libitum. Druhá skupina bude krmena dietou k indukci NASH a pitnou vodou s fruktózo-glukózovým sirupem po dobu 30 týdnů ad libitum. Myši budou 2 týdny před ukončením vystaveny intermitentní hypoxii a budou podávány látky (perorálně nebo intraperitoneálně (10 – 30 ml/kg hmotnosti myši). Bude podán inhibitor hormon-senzitivní lipázy a 2 rostlinné extrakty látek, které mají antilipolytický účinek (zjištěno in vitro).

Před začátkem intermitentní hypoxie bude myším odebrán vzorek krve z ocasní žíly. Myši na konci pokusu budou usmrceny předávkováním inhalačním anestetikem a budou odebrány vzorky tkání.

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

U myší s dietou indukující NASH mohou být obezní. Bude prováděno opakované krátkodobé vystavení zvířat intermitentní hypoxii, podle prostudované literatury je hypoxie myši dobře snášena a nevede k jejich úmrtí (Weissenstein et al., 2016), odběr kapky krve z ocasu a konečné usmrcení bude provedeno v celkové anestézii izofluranem.

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	160	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				
Žádné myši nebudou ponechány na konci experimentu živé, pro další analýzy budou využity jejich vnitřní orgány.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Navrhované schéma pokusu nelze nahradit jiným modelem nebo in vitro experimentem, neboť sledujeme průběh rozvoje navozeného onemocnění. Se zvířaty bude nakládáno šetrně v souladu se všemi předepsanými pravidly a manipulovat s nimi bude pouze proškolený a vysoce zkušený personál				
Omezení používání zvířat				
Budou použity minimální nezbytné počty zvířat nutné ke správnému statistickému zhodnocení účinku. Plán pokusu reflektuje i interindividuální variabilitu zvířat při navození patologického stavu. Struktura experimentů je navržena po důkladné teoretické přípravě a navazuje na dlouhodobé zkušenosti realizujícího týmu. Všechny odebrané vzorky budou dlouhodobě skladovány v hlubokomrazících boxech (-80 °C) pro možnost dodatečných analýz bez nutnosti opakování experimentu.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Budou použita hlediska humánního zacházení se zvířaty: a) adaptace; b) klidné zacházení; c) tichý přístup; d) návyk na uchopení rukou. Charakter úkonů nepředpokládá nutnost tlumení bolesti po zákrocích. Průběžný zdravotní stav a komfort zvířat bude každodenně monitorován a udržován zaměstnanci Vivária. Diskomfort bude minimalizován opatrným přístupem vycházejícím z bohatých zkušeností zapojených pracovníků. Bolestivé procedury na konci léčeb budou realizovány v celkové anestezii indukované isofluranem aplikovaným inhalačně. Myším budou aplikována léčiva běžně dostupná pro použití u lidí v odpovídajících dávkách, nehrozí tedy riziko nežádoucího dopadu na zdraví lidí či na stav životního prostředí.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

U myši v odpovědi na intermitentní hypoxii dochází k podobným metabolickým efektům jako u člověka. Myš je z výše uvedených důvodů vybrána jako nejmenší savec, na které je možné takový experiment provést a následně výsledky přenášet do lidské medicíny.