

## NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ

<b>Název projektu pokusů</b>	
Studium vlivu potencionálně prospěšných látek na nealkoholovou steatohepatitidu u myši	
Doba trvání projektu pokusů	do prosince 2020
Klíčová slova - <i>maximálně 5</i>	Myši, nealkoholové ztukovatění jater, NASH
<b>Účel projektu pokusů</b> - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
<input checked="" type="checkbox"/>	základní výzkum
<input type="checkbox"/>	translační nebo aplikovaný výzkum
<input type="checkbox"/>	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
<input type="checkbox"/>	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
<input type="checkbox"/>	zachování druhů
<input type="checkbox"/>	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
<input type="checkbox"/>	trestní řízení a jiné soudní řízení
<b>Cíle projektu pokusů</b> (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
Hledání nových možností terapeutického ovlivnění nealkoholové steatohepatitidy.	
<b>Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů</b> (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)	
Dosažené výsledky mohou značně přispět k novým pohledům na prevenci a léčbu nealkoholové steatohepatitidy. Zjištění účinku testovaných látek by jednak mohlo přispět k prohloubení současného poznání patogeneze NASH, jednak by mohlo naznačit cílení terapeutického úsilí při léčbě tohoto onemocnění u lidí.	
<b>Druhy a přibližné počty zvířat</b> , jejichž použití se předpokládá	
Bude použit běžný kmen C57BL/6 laboratorních myši, maximálně 240 zvířat.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Myši budou rozděleny do 2 hlavních skupin a ustájeny v jedné kleci vždy po 5 kusech. Polovina zvířat bude krmena kontrolní dietou ( <i>standard chow</i> - SC) a pitnou vodou, druhá polovina pak dietou k indukci NASH (AIN-76A Western Diet) a fruktózo-glukózovým sirupem po dobu 20–28 týdnů. Kontrolní krevní odběr z retro-orbitálního plexu (0,1 ml) v celkové anestézii izofluranem bude proveden na začátku experimentu a po 20-28 týdnech podávání diety. Po této době jim budou v doporučených dávkách po dobu do 5 týdnů aplikovány testované látky v objemu 0,1 ml. Jedná se jednak o látky zasahující do purinergní signalizace, která hraje pravděpodobně významnou roli v rozvoji jaterních onemocnění směrem k zánětu a fibróze. Dále bychom rádi testovali další protizánětlivé a antifibrogenně působící látky a látky, které zasahují do metabolismu lipidů s důrazem na lipotoxické intermediáty. Tyto látky budou aplikovány 3x týdně zvířatům v lehké celkové anestézii intraperitoneálně nebo perorálně žaludeční sondou v dávkách běžně užívaných u myši. Po 5ti týdnech budou zvířata v celkové anestézii izofluranem utracena, bude odebrána krev (cca 0,5 ml) z dolní duté žíly, vzorky jater a dalších orgánů. Všechna pokusná zvířata budou mít po celou dobu pokusu přístup k potravě a pitné vodě, resp. ke fruktózo-glukózovému sirupu <i>ad libitum</i> .	
<b>Uplatňování 3R</b> (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Účinek látek ovlivňujících steatohepatitidu (steatóza, zánět, různý stupeň fibrózy) určených k léčbě živých organismů lze ověřit pouze na živém organismu. Navrhované schéma pokusu nelze nahradit jiným modelem, nelze provést na buněčném ani jiném modelu, neboť sledujeme patofyziologickou odpověď celého organismu. V databázi ECVAM není validovaná metoda, jež by mohla plánovaný pokus nahradit či redukovat.	
V každé pokusné skupině bude použit pouze nezbytný počet zvířat nutných ke správnému statistickému vyhodnocení.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
V daném pokusném schématu považujeme za nejvhodnější počet 10 zvířat ve skupině. Menší počty zvířat by nás vystavovaly riziku nemožnosti kvalitního statistického zhodnocení výsledků (nepublikovatelnosti) či nutnosti celý experiment opakovat.	
Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.	
Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.	
Budou použita hlediska humánního zacházení se zvířaty: a) adaptace; b) klidné zacházení; c) tichý přístup; d) návyk na uchopení rukou.	
Myši daného kmene byly zvoleny, protože je na tomto kmenu zaveden celosvětově uznávaný model nealkoholové steatohepatitidy. Pro daný typ experimentu neexistuje šetrnější způsob získání požadovaných výsledků.	