

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra etologie a zájmových chovů**



**Česká zemědělská  
univerzita v Praze**

**Přítomnost těkavých aldehydů v podestýlce laboratorních  
zvířat a jejich vliv na reprodukci a zdravotní stav  
laboratorních myší**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Šárka Karbanová**

**Obor studia: Zájmové chovy zvířat**

**Vedoucí práce: Ing. Michal Hradec, Ph.D.**

© 2021 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „Přítomnost těkavých aldehydů v podestýlce laboratorních zvířat a jejich vliv na reprodukci a zdravotní stav laboratorních myší“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 15.04.2021

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Michalovi Hradcovi, Ph.D., za vedení mé práce. Dále Mgr. Janu Procházkovi, Ph.D. za odborný dohled nad výzkumem a RNDr. Jiřímu Lindovskému, Ph.D. za konzultace. Velké poděkování také patří Kryštofovi Klímovi za pomoc při práci s hexanalem a RNDr. Petrovi Žáčkovi, Ph.D. za měření koncentrací ve dřevní štěpce. Samozřejmě nesmím opomenout poděkovat svým kolegům za bariérou, kteří mi byli velkou oporou při organizování práce a v neposlední řadě svým blízkým přátelům a rodině za pomoc s vyhledáváním literatury, za podporu a jejich trpělivost.

# **Přítomnost těkavých aldehydů v podestýlce laboratorních zvířat a jejich vliv na reprodukci a zdravotní stav laboratorních myší**

---

## **Souhrn**

V této diplomové práci byly shrnuty dostupné poznatky o historii chovu laboratorních zvířat, jejich biologii se zaměřením na mateřské chování a využití inbredních a outbredních kmenů pro vědecké účely. Dále byl popsán vznik a využití aldehydů, které mohou vznikat v dřevní štěpce využívané jako podestýlka pro laboratorní zvířata. Nejčastějším aldehydem přítomným ve dřevě je hexanal. Jeho výpary nejvíce ovlivňují emoční stav, chuťové a čichové vlastnosti. Tyto znaky úzce souvisejí s mateřským chováním. Pokud by byl hexanal přítomen ve vysokých koncentracích v dřevěné podestýlce laboratorních zvířat, mohlo by to znamenat velké komplikace nejen pro reprodukční chovy.

Cílem této práce bylo zjistit, jak vzniká hexanal ve dřevní štěpce, jak vysoké koncentrace se mohou objevovat ve sterilizované podestýlce v bariérovém chovu a zda by mohly mít přítomné koncentrace vliv na emoční stav, čichové vlastnosti a mateřské chování u laboratorních myší. Ke zjištění hodnot koncentrací byly odebírány vzorky z 5 dostupných šarží podestýlky a vyhodnoceny na hmotnostním spektrometru. Pro testování vlivu hexanalů bylo použito 8 březích samic inbredního kmene C57Bl/6. Čtyři březí samice byly vystaveny hexanalů o koncentraci 145  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dřevní štěpky 7 dní před porodem a čtyři samice posloužily jako kontrola. Všechny březí samice podstoupily před porodem 2 totožné testy na zjištění míry úzkosti (light-dark box test a openfield test). Po porodu bylo pozorováno mateřské chování samic na základě sledování stavby hnízda, počtu narozených mláďat a následné péče matky. Posledním použitým testem byl olfaktorický test, který se zabývá čichovými vlastnostmi. Tento test byl opět proveden u všech samic. Získaná data byla statisticky vyhodnocena dvouvýběrovým T-testem, dvoufaktorovou analýzou rozptylu (ANOVA) a obecným lineárním modelem.

Výsledky ukázaly, že koncentrace hexanalů byly po sterilizaci podestýlky na nízkých hodnotách ve všech dostupných šaržích. Tyto nízké hodnoty neměly vliv na mateřské chování, tudíž dřevěná podestýlka není hrozbou pro chov laboratorních myší, zejména pro reprodukční schopnosti. Nulová hypotéza "Zvýšená koncentrace těkavých aldehydů, zejména hexanalů, v dřevní štěpce pro chov laboratorních zvířat má negativní vliv na mateřské chování laboratorních myší." byla zamítnuta.

## **Klíčová slova**

Aldehydy, hexanal, koncentrace, laboratorní zvíře, myš, reprodukce, zdravotní stav.

# **Presence of volatile aldehydes in litter of laboratory animals and their effect on reproduction and health of laboratory mice**

---

## **Summary**

In this master thesis, we summarize the history of breeding of laboratory animals, their biology with respect to maternal behavior, and a use of inbred and outbred lines for scientific purposes. Further, we describe the formation and use of aldehydes that can spontaneously appear in wood shavings used as bedding for laboratory animals. The aldehyde which is the most commonly present in wood is hexanal. Its vapors affect mostly an emotional state, taste and the olfactory sense. These effects can closely relate to a maternal behavior. Presence of hexanal in high concentrations in the bedding of laboratory animals may be potentially very risky not only for reproduction breeding.

The aim of the thesis is to find out how hexanal forms in the wood shavings, what concentrations may appear in the sterilized bedding in a barrier breeding and whether these concentrations influence the emotional state, olfaction and maternal behavior in laboratory mice. Five different batches of bedding were sampled and measured by mass spectrometry in order to assess hexanal concentration. Tests of hexanal influence were performed in eight pregnant females of C57Bl/6 inbred mouse strain. Four females were exposed to hexanal in concentration of 145 µg per kg of bedding seven days before giving birth, four females served as controls. All pregnant females underwent testing of anxiety in the light-dark box test and the open field test. After the birth, maternal behavior was observed and assessed based on building of nests, number of pups and maternal care. Lastly, we used a test of olfactory sense in all females. The data was statistically analyzed by two-sample T-test, 2way-ANOVA and general linear model.

We found that hexanal concentration in the wood shavings after sterilization was low in all of the tested batches of bedding. These low values did not influence the maternal behavior and therefore wood bedding does not represent any health risk to the laboratory mouse breeding, namely not to the mouse reproduction abilities. The null hypothesis "The increased concentration of volatile aldehydes, especially hexanal, in wood chips for the breeding of laboratory animals has a negative effect on the maternal behavior of laboratory mice." was rejected.

## **Keywords**

Aldehydes, hexanal, concentration, laboratory animal, mouse, reproduction, health.

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Vědecké hypotézy a cíl práce</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1</b>	<b>Vědecká hypotéza</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2</b>	<b>Cíl práce</b> .....	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>Literární řešerše</b> .....	<b>5</b>
<b>3.1</b>	<b>Laboratorní zvíře</b> .....	<b>5</b>
3.1.1	Historie a význam chovu laboratorních zvířat .....	5
3.1.2	Myš laboratorní ( <i>Mus musculus</i> ).....	6
3.1.2.1	Popis .....	7
3.1.2.2	Olfaktologie .....	8
3.1.2.3	Porod a mateřské chování.....	9
3.1.2.4	Kmeny laboratorních myší .....	10
<b>3.2</b>	<b>Těkavé aldehydy</b> .....	<b>15</b>
3.2.1	Příprava aldehydů.....	15
3.2.1.1	Oxidace primárních alkoholů .....	15
3.2.2	Ozonolýza alkenů.....	16
3.2.2.1	Další metody přípravy aldehydů .....	16
3.2.3	Oxidace aldehydů.....	16
3.2.4	Názvosloví aldehydů .....	17
3.2.4.1	Příklady názvosloví.....	17
3.2.4.2	Příklady aldehydů .....	17
<b>4</b>	<b>Metodika</b> .....	<b>22</b>
<b>4.1</b>	<b>Endogenní hexanal</b> .....	<b>23</b>
<b>4.2</b>	<b>Exogenní hexanal</b> .....	<b>23</b>
<b>4.3</b>	<b>Vliv hexanalů na chování březích samic</b> .....	<b>24</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky</b> .....	<b>27</b>
<b>5.1</b>	<b>Endogenní hexanal</b> .....	<b>27</b>
<b>5.2</b>	<b>Exogenní hexanal</b> .....	<b>29</b>
<b>5.3</b>	<b>Vliv hexanalů na chování březích samic</b> .....	<b>31</b>

<b>6</b>	<b>Diskuze</b> .....	<b>37</b>
<b>7</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>39</b>
<b>8</b>	<b>Literatura</b> .....	<b>40</b>
<b>8.1</b>	<b>Knižní</b> .....	<b>40</b>
<b>8.2</b>	<b>Patentové dokumenty</b> .....	<b>41</b>
<b>8.3</b>	<b>Články v periodikách</b> .....	<b>42</b>
<b>8.4</b>	<b>Webové stránky</b> .....	<b>47</b>
<b>9</b>	<b>Přílohy</b> .....	<b>i</b>

# 1 Úvod

Pro laboratorní zvířata se jako podestýlka nejčastěji využívá dřevo. Koncentrace těkavých aldehydů jsou ovlivňovány druhem využívaných stromů, obdobím porážky stromu, způsobem zpracování, zda jde o letní nebo zimní dřevo či poměr kombinace obou a následnou manipulací. Při sterilizaci dřeva mohou oxidačními procesy vznikat těkavé aldehydy jako je hexanal (nenasycený aldehyd). Zvýšená koncentrace těkavých aldehydů v dřevní štěpce může významně negativně ovlivnit zdravotní stav laboratorních zvířat.

V předchozích letech docházelo v chovu laboratorních myší k častým úhynům mláďat, jelikož samice nejevily zájem o narozená mláďata. Při hledání důvodů těchto úhynů byl proveden i rozbor podestýlky, kdy byla zjištěna zvýšená koncentrace hexanalů ve dřevní štěpce. Protože hexanal, dle dostupné literatury, negativně ovlivňuje mj. výše zmíněné mateřské chování samic, pravděpodobná příčina úhynů byla právě jeho přítomnost. Na základě těchto poznatků jsme se rozhodli otestovat, jak dochází ke vzniku hexanalů ve dřevní štěpce a jeho následný vliv na chování samic laboratorních myší v bariérovém chovu Ústavu molekulární genetiky ve Vestci.



## **2 Vědecké hypotézy a cíl práce**

### **2.1 Vědecká hypotéza**

H<sub>0</sub>: Zvýšená koncentrace těkavých aldehydů, zejména hexanal, v dřevní štěpce pro chov laboratorních zvířat má negativní vliv na mateřské chování laboratorních myší.

### **2.2 Cíl práce**

Cílem této diplomové práce bylo zjistit, jak vzniká hexanal ve dřevní štěpce sloužící jako podestýlka laboratorních zvířat, jaké jsou hodnoty koncentrací vzniklého hexanal a zda má hexanal vliv na mateřské chování laboratorních myší.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Laboratorní zvíře

Laboratorním zvířetem se rozumí takové zvíře, které je speciálně chované pro experimentální účely (Česká národní rada 1992) a jsou přesně známé jeho genetické, fyziologické i jiné vlastnosti (Jebavý 2011).

Podle zákona na ochranu zvířat proti týrání (č. 246/1992 Sb.) patří mezi zvířata chovaná pro použití k pokusům:

- myš laboratorní (*Mus musculus* Linnaeus, 1758)
- potkan obecný [*Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769)]
- morče domácí [*Cavia porcellus* (Linnaeus, 1758)]
- křeček zlatý [*Mesocricetus auratus* (Waterhouse, 1839)]
- křeček čínský (*Cricetulus griseus* Milne-Edwards, 1867)
- pískomil mongolský [*Meriones unguiculatus* (Milne-Edwards, 1867)]
- králík domácí [*Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758)]
- pes domácí (*Canis familiaris* Linnaeus, 1758)
- kočka domácí (*Felis catus* Linnaeus, 1758)
- drápatka vodní [*Xenopus laevis* (Daudin, 1802)]
- drápatka tropická [*Xenopus tropicalis* (Gray, 1864)]
- skokan hnědý (*Rana temporaria* Linnaeus, 1758)
- skokan levhartí (*Rana pipiens* Schreber, 1782)
- danio pruhované [*Danio rerio* (Hamilton, 1822)] (Wilson & Reeder 2005)

Výše uvedená zvířata mohou být použita za účelem pokusu pouze v případě, že jsou pro tento účel chovaná (Česká národní rada 1992).

#### 3.1.1 Historie a význam chovu laboratorních zvířat

Zvířecí modely hrály v průběhu dějin ústřední roli jak v biomedicínském výzkumu, tak i ve srovnávací medicíně, která je založena na biologických, imunologických, onkologických, fyziologických, behaviorálních a dalších mezidruhových rozdílech (Franco 2013).

Zvířata se začala využívat pro studium lidské anatomie a fyziologie již před více než 2 400 lety ve starověkém Řecku (Ericsson et al. 2013). Pro studie anatomické stavby řečtí lékaři prováděli pitvy na zvířatech kvůli tehdejšímu tabu ohledně pitev lidí (Franco 2013). Tyto studie poukázaly na to, že zvířecí modely jsou důležité ve všech vědních oborech. První zaznamenané případy byly pro vědu velmi důležité a pomohly z velké části k porozumění lidské ontogeneze. V polovině 16. století byly objeveny krevní oběhy – malý plicní a velký tělní. Na přelomu 16. a 17. století William Harvey (1578 - 1657) vytrvale studoval srdce se zaměřením na anatomické a fyziologické vlastnosti u několika

druhů zvířat (úhoři, ryby, kuřata, holubi) a poukázal na podobnost oběhové soustavy s lidskou oběhovou soustavou (Ericsson et al. 2013).

Na počátku 20. století využívání outbredních<sup>1)</sup> zvířecích modelů (zejména hlodavců) drasticky vzrostlo. Vědci se u outbredních modelů zabývali především genetickou variabilitou. V roce 1909 proběhla u myší první příbuzenská plemenitba a cca o 20 let později v roce 1930 vznikly první inbrední<sup>2)</sup> kmeny myší. Díky vysoké rozmnožovací schopnosti jsou myši (a potkani) ideálním modelem ke genetickému šlechtění. Šlechtily se nové inbrední kmeny myší, kdy se v rámci kmenů vyskytovaly vrozené biologické rozdíly. Nejvýznamnějšími schopnostmi inbredních kmenů jsou různé náchylnosti k vyvolaným a spontánně se vyskytujícím nemocem. V 80. letech nastal zlom ve využívání zvířecích modelů. V roce 1976 byla vyvinuta první geneticky modifikovaná<sup>3)</sup> myš. V roce 1987 vědci vyvinuli první knockoutovou<sup>4)</sup> myš. V roce 2002 se podařilo určit pořadí nukleových bází<sup>5)</sup> v DNA myši (Ericsson et al. 2013).

Pro eliminaci nebo alespoň pro minimalizaci utrpení laboratorních zvířat v pokusech zavedli britští vědci William Russel a Rex Burch v roce 1959 zásadu 3R, znamenající replacement, kdy by měla být živá zvířata v experimentu nahrazena alternativními metodami (např.: organismy na nižšími stupni vývoje, tkáňové kultury); reduction, kdy by měl být do experimentu zahrnut co nejmenší počet zvířat; refinement, kdy by měl experiment probíhat tak, aby byly stresové faktory vyloučeny a zvířata zbytečně netrpěla (Davies et al. 2018).

V poslední době se schopnosti manipulovat s myším genomem neustále zdokonalují (Franco 2013). Důkazem je česká bioložka Helena Fulková, které se podařilo v roce 2014 naklonovat první myš, kterou pojmenovala Marilyn. Později naklonovala ještě další čtyři myši (Babůrková 2018).

### 3.1.2 Myš laboratorní (*Mus musculus*)

Evoluce rodu *Mus* (Linnaeus, 1758) lze rozdělit na pět částí. V první části, před více než 5 miliony lety, došlo k oddělení podrodu *Mus* od ostatních. Druhá část zahrnuje další separaci, a to prvních dvou poddruhů *Mus dunni* a *Mus boodugo* [(Gray, 1837)]. Třetí část zahrnovala oddělení asijských druhů myší *Mus cookii* (Ryley, 1914), *Mus cervicolor* (Hodgson, 1845) a *Mus caroli* (Bonhote, 1902) zhruba před 2 miliony let. Ve čtvrté části, asi před 1 milionem let, vznikly nové západopaleartické druhy *Mus spretus* (Lataste, 1883), *Mus spicilegus* (Petényi, 1882), *Mus macedonicus* (Petrov & Ruzic, 1983) a myš domácí *Mus musculus*.

---

1 outbrední = populace živočichů, která není geneticky definována a v níž každý jedinec je odlišný od ostatních

2 inbrední = populace živočichů vniklá příbuzenskou plemenitbou, v níž každý jedinec je genotypově stejný

3 geneticky modifikovaný organismus = GMO = organismus, jehož DNA (či RNA u virů) bylo záměrně změněno

4 knockout = z organismu jedince je odstraněna část genetického materiálu

5 nukleové báze DNA = adenin, cytosin, guanin, thymin

V poslední části evoluce, asi před půl milionem let, došlo na území dnešní Indie k rozdělení populací podrodu *Mus musculus* na několik poddruhů. Myš domácí je tedy nejmladší fylogenetická odnož rodu *Mus*, který nyní čítá 38 druhů (Boursot et al. 1993).

Myš domácí je drobný savec z řádu hlodavců. Pro myši je charakteristický špičatý čenich, malé oblé uši a šupinatý ocas obdobně dlouhý jako tělo. Nejznámějšími druhy jsou myš domácí a hraboš polní [*Microtus arvalis* (Pallas 1778)], který je chybně označován neexistujícím pojmenováním jako myš polní. Je velice dobře známo, že obývají lidská obydlí kvůli jídlu a úkrytu (Gregory et al. 2002). Domestikovaná forma myši domácí patří mezi oblíbené domácí mazlíčky, ale také slouží jako nejčastější savčí experimentální model v laboratorním výzkumu biologických, genetických i psychologických oborů především pro svou vysokou genetickou podobnost s lidmi. Pro tyto účely jsou myši speciálně šlechtěné, díky čemuž dostaly název myš laboratorní. Myš laboratorní má přibližně 2,7 miliardy párů bází a 20 párů chromozomů (člověk má 3,1 miliard bází a 23 párů chromozomů). Důvodů pokusů na myších je nespočet. Mimo těch etických, jako jsou zákaz testování na lidech, patří mezi hlavní důvody jejich malá velikost, jsou ekonomicky výhodné, nenáročné na chov a mají vysokou reprodukční schopnost. Mezi další výhodu patří vysoký generační interval, což znamená, že lze pozorovat několik generací zpětně v relativně krátké době (Hendrich 2004).

### 3.1.2.1 Popis

Myši jsou nejrozšířenějšími hlodavci na světě. Žijí všude tam, kde žijí lidé (Pokorný 2014). Dříve obývaly pouze stepi palearktických oblastí, avšak s člověkem pronikly i do míst s drsnějšími klimatickými podmínkami. Vyznačují se soumráchnou aktivitou; ve dne jsou málo aktivní (Bohuš a kol. 2009).

Délka těla se pohybuje mezi 7 - 10 cm. Ocas je o něco málo kratší než tělo. Průměrná hmotnost je 15 - 30 g (Pokorný 2014). Ve volné přírodě myši žijí a hnízdí v norách, kde si dělají zásoby potravy (Bohuš et al. 2009). Po 21 - 23 dnech březosti se rodí 1 - 15 mláďat. Myš je krátkověké zvíře, které se dožívá pouhých 1,5 - 3 let (Pokorný 2014). Zbarvení je velmi variabilní, od žlutohnědé až po šedočerné (Šoltésová 2007). Myši jsou všežravé se značným zastoupením rostlinné složky. Živí se různými semeny, obilím, ovocem a zeleninou, ale nepohrdne ani hmyzem. Myši pojídají vlastní měkký trus pro získání živin, které jsou produkovány bakteriemi v tenkém střevě (Pokorný 2014).

Nejlepším smyslem u myši je sluch, naopak nejhorším smyslem je zrak (Šoltésová 2007). Myši jsou schopné zaostřit předměty do vzdálenosti pouhých 5 cm a nevnímají červené spektrum. Tato schopnost se využívá při testování zraku, kdy myš červené světlo vnímá jako tmou a vědec při manipulaci s myší alespoň něco málo vidí. Myši slyší tóny o frekvenci až 100 kHz (člověk 20 Hz - 20 kHz). Na delší vzdálenosti se myši spoléhají hlavně na sluch, naopak na krátké vzdálenosti se spoléhají spíše

na čich (Langley 1983). Čich velmi úzce souvisí s chutí, nejen z důvodů vzájemné podobnosti receptorů těchto smyslů, ale i díky jejich reciproční závislosti. Vnímání vůní ovlivňuje i chování myši, např.: mateřské chování (Hewitt 2016).

V našich zemích byly myši donedávna považovány za nebezpečné škůdce a přenašeče nákaz (Šoltésová 2007). Nyní jsou celosvětově nejužívanějšími laboratorními zvířaty. Jejich využití se pohybuje kolem 100 miliónů kusů za rok, což činí 61 % ze všech laboratorních zvířat (EU commission 2007).

### 3.1.2.2 Olfaktologie

Chemické signály jsou prvotní podněty čichového ústrojí. Dělí se na přírodní feromony a chemické odoranty. Feromony jsou vytvářené organizmy; známe je jako látky produkované jedincem daného druhu, který svým působením vyvolá specifické a fyziologické odpovědi u jedince stejného druhu (Karlson & Luscher 1959). Mezi odoranty patří látky z okolního prostředí například jednoduché aminy, aromatické sloučeniny, terpeny, ale také netěkavé peptidy. Mají za úkol informovat jedince o blízkosti potravy či hrozícím nebezpečí (Brattoli et al. 2013). Receptory feromonů a odorantů se nacházejí v nosní dutině. Ty vedou informace k neuronům specifických částí mozku. Na vnímání chemických signálů se podílejí dva od sebe oddělené orgány; jedním z nich je hlavní čichový epitel (angl. major olfactory epithelium, dále jen MOE) a vomeronasální orgán (angl. vomeronasal organ, dále jen VNO). U hlodavců můžeme najít navíc seskupení chemosensorických neuronů zvaných jako Grünebergův ganglion a septální orgán Masera (Restrepo et al. 2004). Dříve existovala hypotéza, že odoranty mají receptory pouze v MOE a feromony ve VNO. Dnešní studie však odhalily, že v MOE mohou být receptory jak pro odoranty, tak i pro feromony, a totéž i u VNO. Působení MOE a VNO se překrývá (Xu et al. 2005).

MOE je lokalizován v zadní části nosní dutiny. Zde se setkávají odoranty (či feromony) s receptory na sensorických neuronech díky pasivně vdechovanému vzduchu. MOE je tvořen víceřadým cylindrickým epitelem, pod nímž je vrstva řídkého vaziva, ve kterém jsou uloženy Bowmanovy žlázy. Epitel je složen ze tří typů buněk. Prvním typem jsou buňky podpůrné. Nahrazují zde nervové buňky. Na jejich povrchu jsou mikrokilky. Plní funkci metabolické a fyziologické podpory čichového epitelu. Další jsou buňky bazální, které jsou schopny dělení a obnovy epitelu. Posledními buňkami jsou buňky čichové (Goss et al. 2016). U myši je popsáno 15 typů neuronů MOE. Na každý z nich se váže specifická skupina aminů, které jsou obsaženy kupříkladu v moči - isoamylamine, trimethylamine nebo  $\beta$  - phenylethylamine (Zucchi et al. 2006). Tyto molekuly mohou mít vliv na předčasné dospívání u samic, zejména na předčasný nástup puberty (Nishimura et al. 1989). Podle Karunadasa et al. (2006) se v MOE nachází jeden typ VNO receptorů. Tento receptor se nazývá V1R (angl. vomeronasal receptor type 1) a má využití především v detekci těkavých feromonů. Čichový epitel se může snadno unavit či může být poškozen inhalací toxických výparů (např.: hexanal), což může vést až k úplné ztrátě čichu.

Jacobsonův orgán neboli VNO, byl objeven u hadů Frederikem Ruyschem v roce 1732 a v roce 1813 dánským chirurgem Ludwigem Jacobsonem u savců (Jacobson 1813). VNO je sekreční orgán u většiny obratlovců; u některých je VNO zakrnělý (lidé, koně) a u některých se nevyskytuje vůbec (vodní savci). VNO je bilaterálně symetrický separovaný pomocný čichový orgán, který se nachází v měkkých tkáních nosní přepážky a částečně na tvrdém patře, kde vyúsťuje ve dva otvory. VNO přijímá chemické signály aktivně, což vyžaduje přímý kontakt s daným podnětem, například pomocí jazyka (Meredith & O'Connell 1979). VNO detekuje feromony pomocí dvou anatomicky rozdílných částí (apikální a bazální). Ty se liší citlivostí receptorů a seskupením G-proteinů na svých neuronech (Jia et al. 1997). Rozpoznávání konkrétních feromonů není univerzální z důvodu jejich velké senzitivity a selektivity. Každá látka aktivuje jiný sensorický neuron a vytváří tak univerzální reakci, která není závislá na koncentraci ligandu (Leinders-Zufall et al. 2000). Pomocí této chemické komunikace je řízena řada sociálních interakcí. Ovšem pro získání veškerých informací z okolí pomocí směsí pachů je nutná kooperace obou olfaktorických systémů (VNO i MOE; Levai et al. 2006). Pachy získané pomocí proudu vzduchu, které jsou vyhodnoceny v MOE jako zajímavé, podpoří aktivaci pátracího a sexuálního chování u myší a následné spuštění VNO (Keverne 2004).

Další část, která je zapojena do čichového systému, je čichová kůra (angl. primary olfactory cortex, POC). POC je součástí mozkové kůry. Strukturálně je odlišná od kortikální oblasti ventrálního povrchu předního mozku a složená z několika oblastí. Mezi nejvýznamnější části patří *hippocampus* (ukládá vzpomínky) a *hypothalamus* (reguluje emociální reakce). POC má těsné spojení se strukturami limbického systému, jako jsou například amygdala, které se podílejí na vytváření emocionálních reakcí, především strachu a mj. se podílejí na mateřském chování. POC je důležitá pro zpracování a vnímání pachů z okolí. Podílí se na zpracování emocí, pudu sebezáchovy, formování paměti a spojuje pachy se vzpomínkami (Kondoh et al. 2016).

### 3.1.2.3 Porod a mateřské chování

Samice si před porodem staví z dostupného materiálu hnízdo, proto by chovné páry měly mít dostatek materiálu, například buničiny. Porod probíhá nezávisle na denní době, avšak více v noci, nežli přes den. Doba porodu podléhá počtu mláďat ve vrhu, a to v rozmezí od 15 minut do 60 minut. Samice by na porod měla mít klid, pokud se samice cítí v nebezpečí, může dojít k požití mláďat či jejich udupání. Hmotnost novorozených mláďat bývá 1 - 2 g, rodí se zcela neosrstěná, téměř hluchá, slepá a s nevyvinutým termoregulačním systémem. První 4 dny života jsou nejnáročnější na mateřskou péči. Samice intenzivně mláďata po porodu olizuje, čímž podporuje střevní činnost. Zahřívá je v hnízdě, kojí je, přemisťuje je z místa na místo, avšak netráví veškerý čas v hnízdě. Samice může zabřeznout opět ihned po porodu. U samic se ve věku 28 - 46 dní otevírá pochva a může dojít k oplodnění

buď od sourozenců či od otce. Samci dospívají v průměru o 6 dní později nežli samice (Hamaguchi-Hamada et al. 2004). Vývoj mláďat je popsán v tabulce 1.

**Tabulka 1: Vývoj mláďat ve dnech**

Den 1.	mláďata jsou zbarvená růžově až červeně zavřené oči viditelné mléko v žaludku
Den 2.	méně červené zbarvení, více růžové vždy je viditelné mléko v žaludku
Den 3.	viditelná ouška objevuje se pigment
Den 4.	ouška vztyčená mléko již není viditelné
Den 5.	začíná růst srsti na zádech
Den 6.	na ramenou začíná houstnout srst zbarvení je již dobře viditelné
Den 7.	záda jsou celá osrstěná
Den 8.	začíná růst srsti na bříšku
Den 9.	srst je hustší u samic jsou viditelné bradavky
Den 10.	mláďata jsou již celá osrstěná
Den 11.	prořezávají se řezáky otevívají se oči
Den 12. – 14.	začínají přijímat pevnou stravu jsou velmi aktivní
Den 21.	odstav

#### 3.1.2.4 Kmeny laboratorních myší

Inbrední kmeny myši jsou ve vědě využívány více nežli kmeny outbrední, a to z důvodu vykazování menší variability znaků. Využívají se především v menších chovech, kde slouží pro imunologické studie (prevence autoimunitních odpovědí), populační genetické mapování a molekulárně genetické studie (Tuttle et al. 2018).

Outbrední kmeny myši nejsou náročné na podmínky chovu, a proto se používají hlavně ve velkých produkčních chovech. Ve vědě jsou díky své genetické variabilitě využívány pro identifikaci genů (Yalcin et al. 2010).

## **Inbrední kmeny laboratorních myší**

Inbrední kmeny laboratorních myší vznikají pomocí příbuzenské plemenitby (z anglického slova inbreeding), kdy se připouštějí jedinci příbuzenského vztahu. Inbreeding je vhodné používat v případě, že známe genetickou výbavu jedinců. Inbreeding se dělí na úzkou (matka x syn, otec x dcera, bratr x sestra), blízkou (teta x synovec, strýc x neteř, bratranec x sestřenice) a liniovou plemenitbu. Liniová plemenitba je nejvhodnější metodou pro šlechtění laboratorních zvířat, jelikož se připouští jedinci vzdáleně příbuzní, díky čemuž je nižší pravděpodobnost výskytu inbrední deprese. Inbrední deprese vede ke špatné plodnosti, vrhy jsou méně početné, jedinci jsou menšího vzrůstu a jsou náchylnější k nemocem. Cílem příbuzenské plemenitby je snížení genetické variability a maximalizaci homozygotnosti, což vede k žádané fenotypové stabilitě (Tuttle et al. 2018).

Pro zjištění intenzity příbuzenské plemenitby slouží koeficient inbreedingu, označovaný písmenem F, který ukazuje, s jakou pravděpodobností jedinec zdědil obě alely téhož genu od jednoho předka. Také vyjadřuje míru ztráty genetické variability a rozsah dědičných znaků, kdy stejná alela přešla na potomka od otce i matky (Chia et al. 2005).

### Příklady inbredních kmenů myší:

#### Kmen 129

Tento převážně hnědě zbarvený kmen se používá k produkci poddruhů knockoutových a jiných mutantních myší. Jeho význam má zastání hlavně v onkologii (Velaz 2013a; The Jackson Laboratory 2021a).

#### Kmen BALB/c

Tento albinotický kmen má využití především pro výzkum rakoviny a imunologie. Myši jsou vnímavé vůči chronické pneumonii; vhodné pro transplantaci nádorů. Se stoupajícím věkem se stávají více citlivé na vznik tumorů především plic a ledvin. Myši jsou více vnímavé vůči stresu. Jsou relativně odolné vůči arterioskleróze vyvolané speciální dietou, což z nich dělá užitečný model pro kardiovaskulární výzkum (Hilgers et al. 1985). Mutace BALB/cWt je neobvyklá tím, že 3 % potomků se rodí s hermafroditismem (Eicher et al. 1980).

#### Kmen C57Bl/6

Jedná se o nejpoužívanější geneticky modifikované černě zbarvené myši využívané jako model pro lidská onemocnění. Význam mají všestranný, především v imunologii a onkologii. Také se používají ve výzkumu obezity. Jejich chov je nenáročný, jelikož jsou díky své robustní tělesné stavbě velmi odolné. Jednoduše se u nich vytvoří závislost na morfinu. Na rozdíl od ostatních kmenů tyto myši pijí alkoholické nápoje dobrovolně. U myší tohoto kmene byl poprvé popsán celý genom (Song & Hwang 2017). Často se u těchto myší vyskytuje tzv. barbering - jedná se o stav, kdy dominantní jedinec okusuje srst submisivním jedincům v kleci (Garner et al. 2004). Myši mají na těle lokální



místa bez srsti, obvykle kolem hlavy, ramen a čenichu, kde jsou okusovány i vousky. Barbering je častěji pozorován u samic nežli u samců, u kterých dochází spíše k bojům o dominanci, které mohou vést až k zabití submisivního samce (Sarna et al. 2000).

Myši C57Bl/6J mutace jsou používány především pro studování sluchu. Jejich kosti mají relativně nízkou hustotu, s čímž souvisí ztráta sluchu. Jsou náchylné k obezitě, cukrovce typu II a arteroskleróze (Kang et al. 2019).

Myši C57Bl/6N mutace jsou používány pro studování zraku. Dochází u nich k degeneraci sítnice (Kang et al. 2019).

B6-Albino je spontánně se vyskytující albinotická mutace. Myši jsou využívány v embryologii. V rané fázi dospělosti vykazují degeneraci sítnice (Kang et al. 2019).

### Kmen C3H/N

Tyto hnědě zbarvené myši mají využití především v onkologii. Jsou náchylné na nádory mléčné žlázy a jater. Trpí na neurologické poruchy a dochází k degeneraci sítnice (Velaz 2013b).

### Kmen CBA/Ca

Tyto hnědě zbarvené myši jsou vyšlechtěny pro dlouhověkost a nízký výskyt spontánních nádorů mléčné žlázy. U samců se vyskytuje syndrom cukrovky, především hyperglykemie (zvýšená hladina cukru v krvi) a jsou více náchylní k obezitě oproti samicím (Velaz 2013c; The Jackson Laboratory 2021b).

### Kmen DBA/2NCrI

Nejstarší vyšlechtěný kmen. Myši jsou citlivé k nedostatku vitamínu K a k tvorbě nádorů mléčné žlázy. U samců se, častěji nežli u samic, vyvíjí hyperglykémie, hypoinzulinémie (nedostatek inzulínu) a polydipsie (zvýšený příjem tekutin) se kterou souvisí výskyt polyurie (nadměrné močení). Jedinci jsou vhodné pro studii diabetických onemocnění (Velaz 2013d; The Jackson Laboratory 2021c).

### Kmen FVB

U myší tohoto albinotického kmene je častý výskyt leukémie, díky čemuž se dožívají maximálně dvou let věku. Myši jsou citlivé na indukované kožní nádory. Samice mají velká vaječná jádra, díky čemuž jsou schopné vyprodukovat vysoké počty mládřat ve vrhu a jsou také vhodné pro embryotransfer. U mládřat se objevuje slepota; tyčinky degenerují do 9. týdne věku, čípky obvykle degenerují až kolem 18. týdne věku. Geneticky modifikované myši jsou náchylnější na astma nežli divoké myši. Mají vyšší tělesnou teplotu nežli myši ostatních kmenů (Pugh et al. 2004).

## **Outbrední kmeny myší**

Outbrední kmeny myší vznikají nepříbuzenskou plemenitbou, konkrétně plemenitbou náhodnou, kdy jsou jedinci do chovných párů vybíráni namátkově a nejsou příbuzní či jsou příbuzní vzdáleně, tj. nemají minimálně 8 generací společné předky. Nejlepší strategií je vybírat jedince z různých populací (Yalcin et al. 2010). Dalšími typy nepříbuzenské plemenitby jsou Metoda osvěžení krve a Metoda rotační. Při metodě osvěžení krve, neboli interbreedingu, se do plemenitby přiřadí nový jedinec stejného kmene. Metoda rotační, neboli randombreeding, funguje v uzavřené populaci, kde jsou jedinci různě prohazováni mezi nepříbuznými páry dané skupiny (Tuttle et al. 2018). Outbrední populace je složena z geneticky variabilních jedinců, kteří jsou chováni k zachování maximální heterozygotnosti. Cílem nepříbuzenské plemenitby je snaha udržet genetickou variabilitu (Chia et al. 2005).

### Kmen Black Swiss

Všestranné outbrední myši využívané ve všech oblastech biomedicínského výzkumu. Myši jsou vysoce vnímavé na experimentální zánět centrální nervové soustavy. Vykazují střední náchylnost k rozvoji arterosklerózy vyvolané speciální dietou. Vhodné pro tvorbu GMO, protože velmi dobře přijímají aplikované hormony. Díky odolnosti vůči vzniku lézí po mikroinjekci DNA do jádra oplodněného vajíčka jsou samice vhodné na embryotransfer. S přibývajícím věkem je větší pravděpodobnost tvorby nádorů plic a mléčných žláz. Také je u starších jedinců vyšší výskyt polydipsie a polyurie související s cukrovkou. Vhodné jako jedinci pro monitorování myších kolonií na přítomnost patogenů (sentinel). Existují i v albinotické formě (Clapcote et al. 2005).

### Kmen ICR (CD-1®)

Myši patří k nejoblíbenějším a nejčastěji používaným modelům z outbredních kmenů nejen díky své finanční dostupnosti, ale také pro jejich robustnost, rychlý růst a vynikající reprodukční schopnost. Jsou vhodné pro studie hematologie a klinické chemie. Jsou využívány jako víceúčelový model pro testování například farmakologie, bezpečnosti farmaceutických produktů, toxikologie, onkologie, chirurgie či pro embryotransfer. Mají také široké využití ve studiích buněčné biologie, biochemie a patologie. Tento kmen je vyšlechtěn z kmene Swiss. Vhodné jako sentinel (Kim et al. 2017).

### Kmen NMRI

Myši z tohoto kmene jsou nejvíce využívány v oboru toxikologie, teratologie (vrozené vady), farmakologie (hlavně v psychofarmakologii pro výzkum chování) a v neposlední řadě ve fyziologii. Nedožívají se vysokého věku. Ve věku 2 - 3 týdnů se rozvíjí atrofie a paralýza. Homozygotní jedinci umírají na selhání plic v 6 - 7 týdnu. Degenerace nervové soustavy začíná u motorických koncových nervů, pokračuje ztrátou axonů a vede až k buněčné smrti neuronů. Tento outbrední kmen je tedy vhodný ke studiu spinální svalové atrofie, motorických neuronů a jejich degeneraci (Lamberty & Gower 1992).

### Kmen NU/NU

Myši tohoto kmene jsou bezsrsté. Dlouhá léta se řadily mezi inbrední jedince, ovšem později bylo zjištěno, že patří mezi myši outbrední. Myším chybí brzlík a nejsou schopné vytvářet T-buňky, tudíž nemají plně vyvinutou imunitu. Jsou vhodné pro výzkum biologie nádorů (Velaz 2013e; Charles River 2021a).

### Kmen OF1

Albinotické myši tohoto kmene jsou velmi plodné, rychle rostou. Samci jsou od věku 6 týdnů značně agresivní vůči ostatním samcům a s postupem času se agresivita prohlubuje. Agresivnímu chování lze předcházet omezením počtu jedinců v kleci. Myši se využívají hlavně pro výzkum toxikologie, studium vrozeného chování a pro farmakologii. Patří mezi jedince se sníženou imunitou (Velaz 2013f; Charles River 2021b).

### Kmen SKH1 Hairless

Myši tohoto kmene jsou bezsrsté. Vynikají vysokou plodností, dobrou životaschopností a dobrým tělesným růstem. Vyskytuje se u nich nízká přítomnost spontánních novotvarů díky výborné imunitě bez nedostatků. Používají se jako model pro hojení ran a pro dermatologické výzkumy. Dále mají využití pro výzkum melanogeneze způsobené ultrafialovým zářením (Velaz 2013g; Charles River 2021c).

### Kmen NSG

NSG myším chybí zralé T-buňky, B-buňky a NK buňky, díky tomu jsou extrémně imunodeficientní<sup>6)</sup>. Umožňují štěpení široké škály primárních lidských buněk a umožňují sofistikované modelování mnoha oblastí imunitních funkcí, infekčních onemocnění, cukrovky, onkologie a biologie kmenových buněk (Shultz et al. 2005).

---

<sup>6</sup> imunodeficientní = není vyvinut imunitní systém, nebo jen velmi slabě

## 3.2 Těkavé aldehydy

Pro laboratorní zvířata se jako podestýlka nejčastěji využívá dřevo. Při jeho sterilizaci mohou oxidačními procesy vznikat těkavé aldehydy jako je hexanal (patří k nenasyceným aldehydům). Koncentrace těkavých aldehydů jsou ovlivňovány kvalitou vstupní suroviny, jejím zpracováním a následnou manipulací (Davey et al. 2003). Podle Hamaguchi-Hamady et al. (2004) je nebezpečná zvýšená koncentrace zejména u hexanal, jelikož hexanal ovlivňuje především čichovou část mozku, která má úzkou souvislost s mateřským chováním březích samic. Samice pod vlivem hexanal nejeví zájem o mláďata, což vede k jejich pozdějším úhynům.

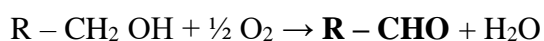
Aldehydy, spolu s ketony, jsou jedny z nejdůležitějších organických sloučenin patřící k derivátům uhlovodíků. Deriváty uhlovodíků jsou charakterizovány výměnou vodíku či více atomů vodíku specifickou funkční skupinou (Panico et al. 2000). Pro aldehydy je specifická skupina „-CHO“, kdy jsou dva vodíky nahrazeny jedním kyslíkem vázaným dvojnou vazbou na uhlovodíkový řetězec vždy na jeho konci. Jedná se o nasycené mastné aldehydy (Moss et al. 1995). Aldehydy mají zastoupení jak v přírodě, tak i v chemickém průmyslu, kde jsou vyráběny hlavně jako rozpouštědla a jsou často výchozími látkami pro mnoho výrobků (Murray 2004).

### 3.2.1 Příprava aldehydů

#### 3.2.1.1 Oxidace primárních alkoholů

Primární alkoholy se vyznačují hydroxylovou skupinou vázanou na uhlík (C – OH), na kterém jsou dále připojeny dva atomy vodíku. Obecný vzorec je R – CH<sub>2</sub> OH (Besson & Gallezot 2000). Primární, i sekundární alkoholy, snadno podléhají oxidaci na karbonylové sloučeniny. Primární alkoholy se oxidují na aldehydy, sekundární alkoholy na ketony. Oxidace primárních alkoholů se provádí buď reakcí s kyslíkem (a), nebo dehydrogenací (b; Červinka et al. 1980). Aby k oxidaci došlo, je nutné používat katalyzátory. Ve většině případů se využívá jemně rozptýlené stříbro nebo měď. Takto se vyrábí například formaldehyd (methanal) nebo acetaldehyd (ethanal). Oxidace může probíhat při jakékoliv teplotě, většinou se však reakční teplota pohybuje mezi 15 °C až 50 °C. Doba samotného procesu je závislá především na kontaktu mezi kapalnou reakční směsí a plynem obsahující kyslík. Tato doba se pohybuje od několika minut až po několik hodin (Backman 1958).

a) oxidace na aldehyd



b) dehydrogenace



### 3.2.2 Ozonolýza alkenů

Pro vznik aldehydů a ketonů jsou alkeny<sup>7)</sup> důležitým prekurzorem<sup>8)</sup>. Oxidační štěpení alkenů probíhá pomocí ozonolýzy. Ozón se nechává probublávat roztokem alkenů v rozpouštědle (methanol či dichlormethan) při nízkých teplotách okolo - 70 °C, a tím vzniká ozonid, který má charakteristicky modré zbarvení. Tento surový produkt bývá velmi nestálý, a proto je nutné jeho další zpracování v závislosti na výsledném produktu. Například pro tvorbu karbonylových sloučenin musí ozonid projít redukčním procesem za použití zinkového prachu či trifenylofosfinu (Wang & Jiang 2010).

#### 3.2.2.1 Další metody přípravy aldehydů

Některé významnější aldehydy lze připravit pomocí hydroformylace, kdy u alkenů dochází k zániku dvojné vazby (adice) za přítomnosti vodíku a oxidu uhelnatého. Dále se pro přípravu aldehydů využívá hydrolyza monotopických dihalogenderivátů (oba atomy jakéhokoliv halogenu jsou vázány na stejném atomu uhlíku; Backman 1958).

### 3.2.3 Oxidace aldehydů

Díky přítomnosti atomu vodíku ve funkční skupině aldehydů je proces oxidace velmi jednoduchý a rychlý. Při oxidaci se používá mnoho různých činidel, například kyselina dusičná (HNO<sub>3</sub>) za tepla nebo manganistan draselný (KMnO<sub>4</sub>). Nejčastěji se však používá oxid chromový (CrO<sub>3</sub>), který je přítomen v koncentrované kyselině sírové (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Velkou nevýhodou oxidace pomocí oxidu chromového je vznik silně kyselého prostředí, ve kterém mohou molekuly podléhat vedlejším reakcím. Pro zvýšení pH se používá Tollensovo činidlo, což je směs oxidu stříbrného (Ag<sub>2</sub>O) a vodného roztoku amoniaku (NH<sub>4</sub>OH; Murray 2004). Pro oxidaci aldehydů se dále může využívat vzduch proudící ve vodném prostředí za přítomnosti katalyzátorů palladia a platiny. Tyto katalytické reakce postupují za mírných podmínek a jsou využívány pro přípravu jednoduchých chemikálií (Besson & Gallezot 2000). K oxidaci aldehydů však mohou postačit pouze hydráty, neboli 1,1-dioxy (Murray 2004), což jsou jakékoliv sloučeniny obsahující molekulu vody (H<sub>2</sub>O). Jedná se především o soli, ve kterých je voda zabudovaná do krystalů (Kauffman 2016). Výsledkem oxidace aldehydů je příslušná karboxylová kyselina (Murray 2004).

---

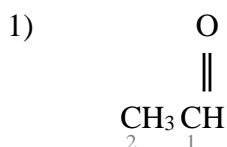
7 Alkeny = nenasyčené uhlovodíky mající mezi atomy uhlíku v otevřeném řetězci jednu dvojnou vazbu (C = C)

8 Prekurzor = výchozí látka (částice) z níž vzniká chemickou přeměnou výsledný produkt

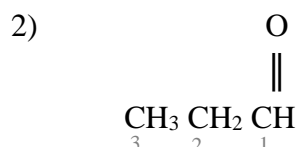
### 3.2.4 Názvosloví aldehydů

Názvosloví aldehydů se odvozuje od názvu nejdelšího uhlíkového řetězce s funkční skupinou a přidáním koncovky „- al“. Pojmenování řetězce závisí na počtu atomů uhlíku, kdy se atomy počítají vždy od funkční skupiny. Jednoduché známější aldehydy mají triviální názvy uznané IUCAP (International Union of Pure and Applied Chemistry = Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii). U aldehydů, kde je funkční skupina vázaná na uhlíky tvořící cyklus, se názvosloví tvoří pomocí koncovky „- karbaldehyd“ (Murray 2004).

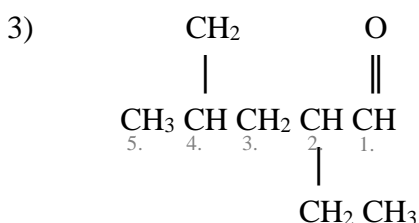
#### 3.2.4.1 Příklady názvosloví



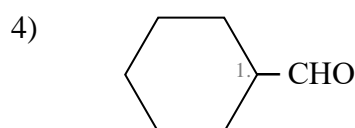
2 uhlíky → ethan + al = ethanal



3 uhlíky → propan + al = propanal



hlavní řetězec je pentan  
= 2-ethyl-4-methylpentanal



6 uhlíků v cyklu →  
cyklohexankarbaldehyd

U třetího příkladu je řetězec se šesti uhlíky sice nejdelší, ale neobsahuje aldehydickou funkční skupinu, tudíž nemůže být hlavním řetězcem aldehydu (Murray 2004).

#### 3.2.4.2 Příklady aldehydů

##### Metanal

Metanal (CH<sub>2</sub>O), také nazýván formaldehyd, je bezbarvý dráždivý hořlavý plyn se silným štiplavým zápachem o molární hmotnosti 30,03 g/mol. Metanal je snadno rozpustný ve vodě. Vzniká hlavně oxidací metanolu v plynné fázi. Metanal je nejjednodušší přirozeně se vyskytující aldehyd, který je zdraví škodlivý. Najdeme ho například v kouři z ohně či cigaret. Metanal má široké využití v chemickém průmyslu. Největší užití má při tvorbě plastů, močovino-formaldehydových pryskyřic a fenolformaldehydu. Používá se také pro výrobu barviv, laků, lepidel, mořidel, pesticidů aj. Metanal reagující spolu s proteiny dává vznik desinfekčním prostředkům. Je spojován s některými typy rakovin u lidí i zvířat, a proto se řadí mezi karcinogeny (Augustyn et al. 1998).

Formalín, 37% vodný roztok formaldehydu, slouží k fixaci biologického materiálu i balzamování lidských ostatků. Formalín může být dehydratován na paraformaldehyd, který je vhodným zdrojem plynného formaldehydu (Petrлік & Válek 2014).

## Etanal

Etanal ( $\text{CH}_3\text{CHO}$ ), také nazýván acetaldehyd, je bezbarvá hořlavá kapalina se štiplavým ovocným zápachem o molární hmotnosti 44,05 g/mol. Je snadno rozpustný ve vodě. Etanal se vyrábí hydratací acetyleny a oxidací etanolu. V dnešní době je dominantním způsobem výroby Wackerův proces, který katalyzuje oxidaci etylenu na acetaldehyd. Přírodně se vyskytuje ve zralém ovoci a kávě. Je produkován rostlinami jako součást jejich metabolismu. Etanal se nejčastěji používá jako výchozí látka pro výrobu 1-butanolu, ethyl-acetátu, parfémů, aromat, fenylaminu, plastů, syntetických gum a dalších chemických sloučenin. Etanal má narkotické účinky a je spojován s negativními klinickými účinky alkoholu. Při nižších dávkách dochází k podráždění sliznic, větší množství může vést až ke smrti. V lidském organismu vzniká při odbourávání etanolu, tzv. „kocovina“ (Brown 1998).

## Propanal

Propanal ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHO}$ ), také nazýván propionaldehyd, je bezbarvá hořlavá kapalina s dusivým ovocným zápachem o molární hmotnosti 58,08 g/mol. Je snadno rozpustný ve vodě. Propanal se primárně připravuje pomocí Fischerovo-Tropschovy syntézy, kdy je pod velkým tlakem za působení vysokých teplot (200 - 350 °C) přeměňován z vodíku a oxidu uhelnatého. Druhotným způsobem přípravy propanalu je oxidace propa-1-olu. Přírodně se vyskytuje v tabákovém kouři, kávě a pitné vodě. Propanal se používá jako desinfekce či jako konzervační prostředky. V chemickém průmyslu má propanal významnou roli, jelikož je důležitou složkou nejen při výrobě plastů a gumárenských chemikálií, ale je také obsažen ve zplodinách škodlivých pro zdraví. Jejich vdechnutí může způsobit selhávání jater. Při požití propanalu dochází ke zvýšení krevního tlaku. Karcinogenita u propanalu není prokázána (PubChem 2004a).

## Butanal

Butanal ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$ ), také nazýván butyraldehyd, je bezbarvá kapalina s nepříjemným zápachem o molární hmotnosti 72,11 g/mol. Je nerozpustný ve vodě. Butanal se připravuje zejména hydroformylací propylenového katalyzátoru. Dalšími používanými katalyzátory jsou katalyzátory kobaltové, karbonylové nebo vodné rhodiové komplexy, které konvertují propylen na butyraldehyd. Butanal se rovněž vyrábí katalytickou dehydrogenací z n-butanolu. V přírodě má butanal roli biomarkeru a je metabolitem bakterie *Escherichia coli*. V chemickém průmyslu se využívá hlavně pro výrobu změkčovadel. Při dlouhodobém kontaktu vzdušného kyslíku s butanalem dochází k jeho oxidaci a vzniká kyselina máselná. Výroba butanolu se pohybuje okolo 6 miliard kilogramů ročně (Cornils et al. 2002).

## Pentanal

Pentanal ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$ ), také nazýván pentanaldehyd či valeraldehyd, je bezbarvá kapalina se silným štiplavým charakteristickým zápachem (po ovoci či ořechách) o molární hmotnosti 86,13 g/mol. Pentanal je mírně rozpustný ve vodě. Vyrábí se katalytickou dehydrogenací n-pentanolu za přítomnosti aniontu mědi nebo měďnochromových katalyzátorů za působení vysokých teplot. Dalšími způsoby výroby jsou destilace valerátu vápenatého, redukce kyseliny n-valerové, oxidace amylalkoholu či hydroformylace butenu. V přírodě má roli rostlinného metabolitu. Najdeme ho v listech koriandru, zrnech rýže, vanilce, šalvěji, jablkách, banánech a jiném ovoci. Dále se vyskytuje v alkoholických nápojích (některá piva, slivovice), olivovém oleji i éterických olejích, vařených krevetkách a mušlích. Používá se k výrobě ochucovadel a pryže. Výpary pentanalu způsobují podráždění pokožky a očí. Při jejich vdechnutí dochází k podráždění sliznice nosu a hrdla (PubChem 2005a).

## Hexanal

Hexanal ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$ ), také nazýván hexanaldehyd nebo kaprindehyd, je velmi těkavá bezbarvá kapalina s pronikavým charakteristickým zápachem (čerstvě posekaná tráva) o molární hmotnosti 100,16 g/mol. Hexanal je nerozpustný ve vodě (Shahidi & Pegg 1994). Hexanal vzniká pomocí autooxidace<sup>9)</sup> lipidů obsažených ve dřevě nebo oxidací kyseliny linolové. Hexanal je rychle odbouráván metabolismem na příslušnou kyselinu kapronovou (Svedberg et al. 2004). Přirozeně se hexanal mj. vyskytuje v ovoci, moči savců nebo v lidském mateřském mléku (Hamaguchi-Hamada et al. 2003).

Hexanal může ovlivnit chuť, obzvláště pak vnímání hořkosti. Průmyslově se využívá jako ochucovadlo, například do sójové omáčky (Yamaguchi et al. 2010). Antimikrobiální aktivita hexanalu vede k jeho využití jako konzervantu, který prodlužuje trvanlivost ovoce a udržuje jeho původní barvu (Khan & Ali 2018). Hexanal se také využívá pro monitorování kvality různých zemědělských produktů (Chen et al. 2019). Může posloužit jako jeden z potenciálních ukazatelů kvality mléka nebo kvality masa při skladování (Shahidi & Pegg 1994). Koncentrace hexanalu se spolu se stoupající okolní teplotou zvyšuje. Obecně lze říci, že koncentrace hexanalu roste rychleji nežli u ostatních aldehydů (Svedberg et al. 2004). Například při teplotě 4 °C se koncentrace znatelně zvýšila během pouhých 5 dní (Shahidi & Pegg 1994). U hexanalu, který prošel procesem oxidace, je koncentrace až 10x vyšší nežli nezoxidovaného (Hamaguchi-Hamada et al. 2004). Jeho výpary se vypouští do prostředí, kde mohou přetrvávat až několik měsíců (Svedberg et al. 2004).

---

<sup>9</sup> Autooxidace je reakce, kdy vstupní látka je v přímém kontaktu se vzdušným kyslíkem při běžné teplotě



Hexanal může být přijímán do těla inhalací, absorpcí do kůže či pozřením. Při vyšších koncentracích dráždí především sliznice. Hexanal v relativně vysokých dávkách měl ve většině testovaných buněk cytotoxický potenciál. Některé studie naznačují, že spermatidy a pankreatické buňky produkující inzulin mohou být citlivější na vliv hexanalu oproti ostatním buňkám v těle. Vyšší riziko pro zdraví představuje hexanal v případě smísením se s oxidem uhelnatým (Svedberg et al. 2004). Hexanal patří mezi biomarkery pro diagnostiku rakoviny plic (Chen et al. 2019).

Hexanal ovlivňuje také čich, zejména kůru čichového mozku (POC) a centrum střední spánkové části mozku s modulátory jménem amygdaly. Amygdaly jsou zapojeny do řízení emočního a mateřského chování, kdy se pod působením hexanalu snižuje regulace těchto mozkových částí. Nejvíce hexanal ovlivňuje mateřské chování u jedinců s prokázaným nedostatkem fyn kinázy<sup>10)</sup> (dále jen fyn -/-; Hamaguchi-Hamada et al. 2003). Obecně lze říci, že zkracuje dobu, kdy matka projevuje péči o mláďata. U fyn -/- samic se projevila absence zájmu o stavbu hnízda, vyhledávání a následnou péči o novorozeňata (Hamaguchi-Hamada et al. 2004). Fyn -/- mláďata, narozená fyn -/- matkám, hynou krátce po porodu. Tomuto jevu se říká fenotyp novorozenecké smrti. Ten způsobuje u mláďat neschopnost nalézt laktující bradavku, což vede k nenakojení mláďat a úhynu do 1. - 2. dne života (Hamaguchi-Hamada et al. 2003). V důsledku fenotypu novorozenecké smrti může dojít i k úhynům matek. Některé studie dokazují, že fyn -/- matky neumírají, což vede k závěrům, že na fenotypu novorozenecké smrti se podílí kromě genetického pozadí a environmentálního zápachu hexanalu i jiné, doposud nezjištěné, faktory. Ovšem hexanal ovlivňuje mateřské chování nejen u výše zmíněných samic s nedostatkem fyn -/- (Hamaguchi-Hamada et al. 2004).

## Heptanal

Heptanal ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$ ), nazýván také heptanaldehyd, je bezbarvá olejovitá kapalina se silně pronikavým ovocným zápachem o molekulární hmotnosti 114,19 g/mol. Ve vodě je nerozpustný. Heptanal se získává mnoha způsoby, například pomocí oxidace hydroxylové skupiny heptan-1-olu, destilací ricinového oleje při nízkém tlaku, katalytickou dehydratací methylesteru kyseliny ricinoleové, kdy je heptanal výchozím produktem štěpení a také hydroformylací 1-hexenu za přítomnosti modifikovaných rhodiových katalyzátorů. Heptanal se nachází v koření, v éterických olejích, šalvěji, pomerančích aj. Průmyslově se využívá jako složka v kosmetice, především pak v parfémeh. Najdeme ho jako přísadu v léčivech, nebo jako potravinové ochucovadlo. Heptanal se považuje za potencionální karcinogen, jelikož se objevuje u pacientů s rakovinou plic, kde vzniká oxidací lipidů (PubChem 2005b).

---

10 Protoonkogen tyrozin-proteinkináza Fyn – enzym kódovaný FYN genem; podporuje neuronální signalizaci ve vývoji a růstu buněk; poruchy signálních drah mají často dopad na vznik různých typů rakoviny (Hamaguchi-Hamada et al. 2003)

## Oktanal

Oktanal ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$ ), také nazýván kaprylaldehyd, je bezbarvá až světle žlutá kapalina se silným ovocným zápachem o molekulární hmotnosti 128,21 g/mol. Ve vodě je nerozpustný. Vzniká redukcí karboxylové skupiny kyseliny oktanové (kaprylové). V přírodě má roli rostlinného metabolitu. Používá se při výrobě parfémů a látek určených k aromatizaci. Při přímém kontaktu s kůží může vyvolat lehké podráždění, avšak jiné negativní účinky na zdraví nebyly prokázány (PubChem 2004b).

## Nonanal

Nonanal ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$ ), také nazýván nonanaldehyd, je čirá hnědá kapalina se silně štiplavým ovocným zápachem (po pomerančích) o molekulární hmotnosti 142,24 g/mol. Vzniká redukcí karboxylové skupiny kyseliny nonanové. Má roli rostlinného, ale i lidského metabolitu. Přirozeně se nonanal vyskytuje v ovoci, zejména v citrusech. Najdeme ho také jako součást aromatizovaných éterických olejů. V průmyslu se používá pro výrobu parfémů, přidává se do cigaret (detekován v cigaretovém kouři) a je využíván jako potravinové ochucovadlo. Při dlouhodobém kontaktu s kůží dochází k otokům a popáleninám. Může způsobit vypadávání vlasů či srsti. Nonanal je označován jako potencionální karcinogen (PubChem 2005c).

## Dekanal

Dekanal ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$ ), také nazýván kaproaldehyd, je bezbarvá až nažloutlá kapalina s příjemným květinovým zápachem o molekulární hmotnosti 156,26 g/mol. Vzniká redukcí karboxylové skupiny kyseliny kaprinové. Dekanal patří mezi antimykotika a rostlinné metabolity. Přirozeně se vyskytuje hlavně v miříkovitých rostlinách (petržel, mrkev, kmín, kopr, fenykl, ...), citrusových plodech či jehličnatých stromech. Přítomný je i v tabákovém kouři. V průmyslu je využíván jako ochucovadlo potravin a pro výrobu syntetických citrusových olejů. Vliv dekanalu na zdraví není znám (PubChem 2004c).

## 4 Metodika

Výzkum se zabýval měřením koncentrací hexanalů v jednotlivých šaržích podestýlky používané v chovu laboratorních myší za definovaných podmínek. Průzkum probíhal na podestýlce, která byla směsí letního a zimního dřeva Topolu osika *Populus tremula* (Linnaeus, 1753). Pokus se uskutečnil v experimentálním bariérovém chovu Českého Centra pro Fenogenomiku (Biocev) Ústavu molekulární genetiky v Praze.

Výzkum se v první řadě zabýval hodnocením koncentrací endogenního (přirozeně se vyskytujícího) hexanalů ve dvou měřeních ve sterilních neodvětrávaných chovných boxech pro zjištění obnovy jeho hodnot. První odběr vzorků pro změření koncentrace se uskutečnil před sterilizací podestýlky v chovných boxech. Druhý odběr ihned po sterilizaci podestýlky a následující odběry byly prováděny v určitých časových odstupech.

V druhé části výzkumu byly zjišťovány hodnoty exogenního hexanalů, taktéž ve dvou měřeních, ve sterilních odvětrávaných chovných boxech, kdy se aplikovaly přesně známé koncentrace hexanalů. Hexanal byl aplikován na podestýlku pomocí nebulizéru. Ihned po aplikaci byly odebrány první vzorky, u kterých byla zjištěna homogenita aplikace. Druhý odběr se uskutečnil po 24 hodinách v odvětrávaných boxech a následující odběry byly prováděny v určitých časových odstupech. Měření hexanalů bylo provedeno na hmotnostním spektrometru.

Po získání hodnot koncentrací hexanalů proběhl experiment na laboratorních myších. Vzhledem k aktuální situaci kolem pandemie Covid-19 bylo pro experiment založeno pouze osm chovných párů, kdy se hlídala březost samic. Hexanal by mohl mít vliv i na emocionální stav březích samic, což prokázaly testy zvané light-dark box a openfield, které byly provedeny před plánovaným porodem. Po porodu byly samice otestovány na změnu vnímání vůní pomocí olfaktorického testu. Zároveň bylo provedeno behaviorální pozorování březích samic před porodem i po porodu, především stavba hnízda a následná péče o narozená mláďata. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí dvouvýběrového T-testu, dvoufaktorové ANOVY a obecnému lineárnímu modelu v programu Statistica 12 a graficky znázorněny v programu Microsoft Excel a Statistica 12.

## 4.1 Endogenní hexanal

Pokud na dřevo působí vysoká teplota, jako například při sterilizaci v autoklávu, hodnoty hexanalů se sníží. Hexanal se časem začne pomalu vytvářet znovu díky oxidačním procesům při chladnutí dřevní štěpky (Davey et al. 2003). Měřením bylo ověřeno, zda a za jakou dobu se přirozený hexanal vrátil k výchozím hodnotám.

Zjišťování hodnot koncentrací endogenního hexanalů se konalo ve dvou na sobě nezávislých měření. První měření proběhlo v Březnu roku 2020, a to na třech šaržích podestýlky: š. 190802 09/2019 (A), š. 191127 12/2019 (B), š. 200227 03/2020 (C) v šesti měsíčních intervalech od Března do Srpná. Z každé šarže bylo odsypáno 500 g dřevní štěpky do chovného boxu. V první řadě byla změřena koncentrace ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) endogenního hexanalů před sterilizací a ihned po sterilizaci. Další měření proběhlo jednou měsíčně z odebraných vzorků v uzavřených chovných boxech postavených mimo stojan napojený na individuálně větratelnou jednotku (dále IVC).

Druhé měření proběhlo v Březnu roku 2021 na 4 šaržích podestýlky: š. 190802 09/2019 (A), š. 200227 03/2020 (C), š. 200818 09/2020 (D), š. 201111 12/2020 (E) v týdenních intervalech po dobu šesti týdnů. Šarže B 191127 12/2019 již nebyla k dispozici. Z každé šarže bylo odsypáno 500 g dřevní štěpky do chovného boxu. V první řadě byla změřena koncentrace ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) endogenního hexanalů před sterilizací a ihned po sterilizaci. Další měření probíhalo jednou týdně z odebraných vzorků v uzavřených chovných boxech postavených mimo stojan napojený na IVC jednotku.

## 4.2 Exogenní hexanal

Kapalný hexanal byl aplikován na podestýlku pomocí nebulizéru, a to ve dvou na sobě nezávislých aplikacích. První nanesení hexanalů na podestýlku proběhlo v Březnu roku 2020, kdy bylo na 500 g dřevní štěpky šarže 200227 03/2020 aplikováno 145  $\mu\text{g}$  hexanalů. Tato koncentrace byla zjištěna v době, kdy v chovech docházelo k úhynům mláďat. Aplikace byla provedena během jedné minuty; po každých třiceti vteřinách došlo k manuálnímu promíchání štěpky. Dále byla štěpka rozdělena do tří chovných boxů a spolu s jedním kontrolním boxem bez aplikovaného hexanalů vloženy do IVC stojanu pro zjištění odvětrávání naaplikovaného hexanalů.

Měření koncentrací hexanalů se uskutečnilo během 14 dnů, které odpovídají běžnému přestýlacímu cyklu. První vzorek k měření koncentrace exogenního hexanalů byl odebrán ihned po jeho aplikaci. Druhý vzorek jsme odebrali po 24 hodinách od aplikace a další vzorky byly odebírány každý druhý den.

Vzhledem k nízké koncentraci aplikovaného hexanalů z předchozího roku bylo měření zopakováno v Březnu 2021, a to ve třech různých koncentracích. K dispozici byla šarže 201111 12/2020. První koncentrace byla použita z loňského roku, a to 145  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dřevní štěpky ( $T_{145}$ ), druhá koncentrace byla dvojnásobek původní hodnoty, tudíž 290  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dřevní

štěpky ( $T_{290}$ ) a třetí koncentrace byla desetinásobek té původní, a to  $1450 \mu\text{g/kg}$  dřevní štěpky ( $T_{1450}$ ). Jednotlivé koncentrace byly aplikovány na 1 kilogram dřevní štěpky pomocí nebulizéru během 2 minut. Pro zajištění homogenity aplikace byla dřevní štěpka po 1 minutě manuálně promíchána. Jednotlivé koncentrace byly rozděleny do 3 chovných boxů a spolu s jedním kontrolním boxem vložen do IVC stojanu pro zjištění odvětrávání naaplikovaného hexanalů.

Měření koncentrací hexanalů se uskutečnilo, obdobně jako v roce 2020, během 14 dnů, které odpovídají běžnému přestýlacímu cyklu. První vzorek k měření koncentrace exogenního hexanalů byl odebrán ihned po jeho aplikaci. Druhý vzorek byl odebrán po 24 hodinách od aplikace a další vzorky každý druhý den.

### 4.3 Vliv hexanalů na chování březích samic

Pro experiment bylo vytvořeno osm chovných párů. Páry byly vytvořeny z inbredního kmene C57Bl/6Ncr1 na dobu 14 dnů, poté byly samičky odděleny od samců. Sedm dní po oddělení samic od samců byly samice zkontrolovány ultrazvukovým zobrazovacím přístrojem pro preklinické aplikace, konkrétně VEVO 3100, pro zjištění stádia březosti a zjištění termínu porodu. Březí samice byly vystaveny vlivu hexanalů po dobu 21 dní - 7 dní před porodem a 14 dní po porodu. Na dřevěnou podestýlku byl aplikován hexanal o koncentraci  $145 \mu\text{m/kg}$  dřevní štěpky. Hexanal působil cca hodinu na podestýlku v uzavřeném neodvětrávaném boxu, aby se koncentrace ustálila a až poté byly samice vloženy po jedné do chovného boxu a v chovném boxu vloženy do IVC stojanu. Následně byl odebrán vzorek podestýlky, aby byla známá výsledná hodnota koncentrace hexanalů. Hexanal by mohl mj. ovlivnit i emocionální stav samic při stavbě hnízda, a proto byly samice otestovány na úroveň úzkosti pomocí testu light-dark box a openfield, které byly provedeny 2 - 3 dny před plánovaným porodem, tzn. těsně před stavbou hnízda, u všech březích samic v experimentu. Krátce před porodem byla pozorována stavba hnízda. Posledním testem v experimentu byl olfaktorický test, který byl proveden 5 dní po porodu, abychom samici nestresovali a netestovali v nejnáročnějším poporodním období. V neposlední řadě byla pozorována péče o novorozená mláďata. Březí samice byly rozděleny na dvě skupiny. Jedna skupina čtyř samic byla určena na testování vlivu hexanalů (H) a druhá skupina čtyř samic byla označena jako kontrolní (K), bez působení hexanalů.

Provedené testy byly statisticky vyhodnoceny v programu Statistica 12 pomocí dvouvýběrového T-testu, dvoufaktorové ANOVY a obecného lineárního modelu. Pro jednotlivé testy bylo potřeba stanovit hypotézy, které byly založeny na shodnosti mezi pozorovanými proměnnými. Vyhodnocení záviselo na rozdílech mezi výslednou hodnotou  $p$  a hladině významnosti  $\alpha$  ( $0,05$  - tabulková hodnota). Pokud byla hodnota  $p$  větší než hladina významnosti  $\alpha$ , tak hypotézu nelze zamítnout. Naopak pokud byla hodnota  $p$  menší než hladina významnosti  $\alpha$ , hypotéza byla zamítnuta a následuje podrobnější testování; v případě dvouvýběrového T-testu lze použít třeba Welchův test a v případě ANOVY se jedná

například o Schéffeho test. Tučně znázorněná čísla ve výstupech z programu značila statisticky významné rozdíly mezi testovanými parametry.

### **Light-dark box test (LDB)**

LDB test je nejčastěji používán ve farmakologii k testování bezpodmínečných úzkostných odpovědí u hlodavců (Ennaceur 2014). Využívá přírodních stresorů jako je světlo (Bourin & Hascoët 2003). LDB přístroj má čtvercový tvar, který se skládá ze dvou komor. Větší komora zaujímá 2/3 přístroje, je jasně osvětlená a shora otevřená. Menší komora je tmavá a zakrytá. V přepážce mezi komorami je průchod (Bourin & Hascoët 2003). Hlodavci preferují tmavší místa před světlými, avšak pokud je hlodavec v novém prostředí a netrpí úzkostí, má tendenci zkoumat okolí. Pokud na myš působí stav úzkosti, setrvává pouze v tmavé komoře. LDB test zkoumá, zda myš přemůže zvědavost nad pocitem bezpečí. Tyto dvě konfliktní emoce vedou k pozorování příznaků úzkosti (Ennaceur 2014). Myš byla umístěna do tmavé části boxu a bylo pozorováno po dobu 5 minut, kolik vteřin se myš pohybovala ve světlé a tmavé části. LDB test byl vyhodnocen pomocí dvouvýběrového T-testu.

### **Openfield test (OF)**

Používá se k testování pohybové aktivity, úzkosti a ochoty zkoumat především u hlodavců (Stanford 2007). Všichni hlodavci dávají přednost tmavším místům, nežli osvětleným plochám. Jelikož jsou to zvědavá zvířata, mají tendence prozkoumat i nebezpečně vypadající podněty. Nízká úroveň úzkosti vede ke zvýšenému průzkumnému chování, naopak zvýšená úroveň úzkosti bude mít za následek menší pohyb a zůstávání na jednom místě (Ennaceur 2014). Přístroj pro OF test je čtvercového tvaru rozdělen na 4 pole. Pole je rozděleno na pomyslnou periferní část označenou modrými čtverečky a centrální část s červeným kruhem uprostřed (Samson et al. 2015). U myši bylo sledováno po dobu 10 minut, kolik vteřin se myš v jednotlivých částech pohybuje. Myš na nízké úrovni úzkosti se drží hlavně v periferní části a občas se vydá i do centrální části. OF test byl vyhodnocen pomocí dvouvýběrového T-testu.

### **Olfaktorický test (OT)**

OT je smyslový test používaný k měření čichových schopností, míry zájmu a vnímání nových podnětů u hlodavčích modelů při poruše CNS. Sociální olfaktorický test zahrnuje použití vody a moči od jiných zvířat, naopak nesociální test využívá krom vody syntetické odoranty (Stanford Medicine 2021). Testují se vůně, kdy se začíná od nejméně výrazných po ty výraznější. Myš je vystavena třem různým vůním a sleduje se zájem o nové předměty, který postupně klesá. První je destilovaná voda, druhá je limonene R<sup>+</sup> (vůně citrusů) a třetí limonene S<sup>-</sup> (vůně pryskyřice). Nejdříve se namočí vatová tyčinka do destilované vody, která se zavěsí testované myši do boxu a pak se po dobu jedné minuty sleduje a zaznamenává pomocí stopky, kolik vteřin má myš zájem o tyčinku. Po jedné minutě se tyčinka odstraní

a nechá se 2 minuty pauza. Stejná vatová tyčinka se opět namočí do destilované vody a znovu se sleduje zájem myši. Celkem se reakce na destilovanou vodu sleduje 4 minuty. Další vatová tyčinka se namočí do limonene R<sup>+</sup> a opět se zavěsí po dobu jedné minuty do boxu a zaznamenává se čas zájmu, taktéž po dobu 4 minut s dvouminutovými pauzami. Poslední vatová tyčinka se namočí do limonene S<sup>-</sup> a zavěsí se na pouhou jednu minutu do boxu. Tento test je využíván především pro fenotypizaci transgenních kmenů myši a pro vyhodnocování účinků nových základních objektů zkoumání na čichové vjemy (Stanford Medicine 2021). OT byl vyhodnocen pomocí ANOVY.

## 5 Výsledky

### 5.1 Endogenní hexanal

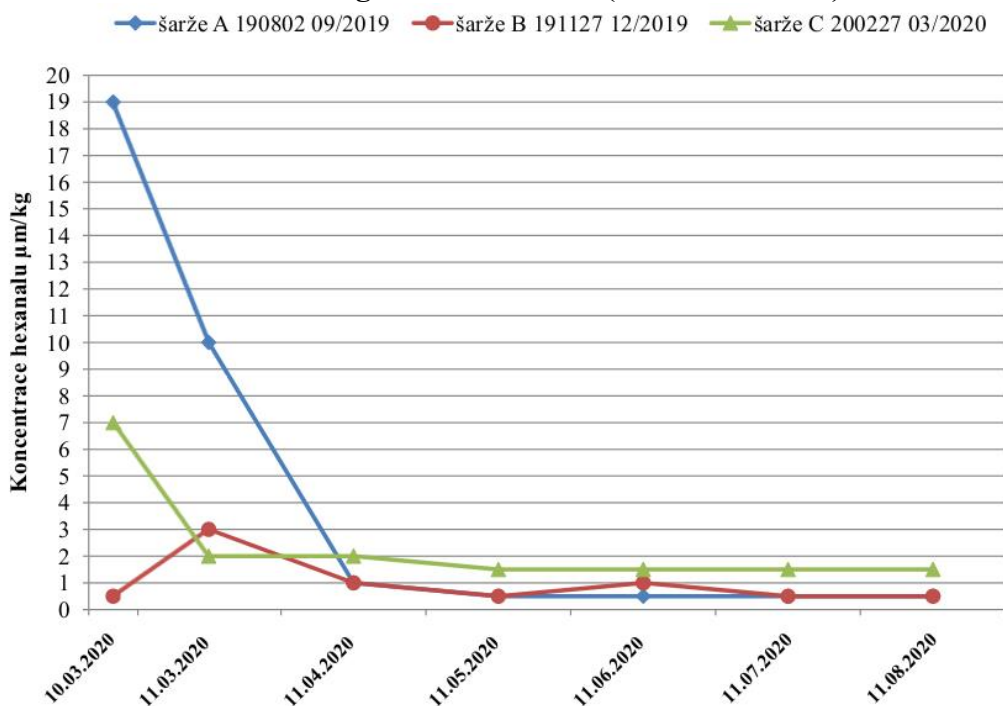
Nejvyšší vstupní koncentrace byla naměřena v šarži A, naopak nejnižší koncentrace byla v šarži B. Podle naměřených hodnot se koncentrace endogenního hexanalů v šarži B mírně zvýšila, avšak ve zbylých šaržích A a C se naopak výrazně snížila (graf 1). V dalších měsíčních měřeních byl zjištěn konstantní pokles koncentrace, kromě 4. měření v šarži B, kdy došlo k jednorázovému zvýšení koncentrace. Výsledkem je trvalé snížení koncentrace endogenního hexanalů v dřevní štěpce. Jeho koncentrace se k původní hodnotě nevrátila.

**Tabulka 2: Hodnoty koncentrací ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) endogenního hexanalů v jednotlivých šaržích podestýlky (měsíční interval) r. 2020**

	A	B	C
0	19	< 1	7
1	10	3	2
2	1	1	2
3	0,5	0,5	1,5
4	0,5	1	1,5
5	0,5	0,5	1,5
6	0,5	0,5	1,5

**Legenda:** šarže 190802 09/2019 (A), šarže 191127 12/2019 (B), šarže 200227 03/2020 (C). Odběr před sterilizací dne 10.03.2020 (0), odběr po sterilizaci dne 11.03.2020 (1), odběr 11.04.2020 (2), odběr 11.05.2020 (3), odběr 11.06.2020 (4), odběr 11.07.2020 (5), odběr 11.08.2020 (6).

**Graf 1: Koncentrace endogenního hexanalů (měsíční interval) r. 2020**





Při druhém měření byly v šarži A vstupní hodnoty nejvyšší, naopak nejnižší byly v šarži C. V 1. týdnu po sterilizaci došlo v šaržích A a D k mírnému zvýšení koncentrace hexanal, v šarži C a E koncentrace klesla. I druhé měření endogenního hexanal potvrdilo klesající trend tohoto aldehydu (graf 2).

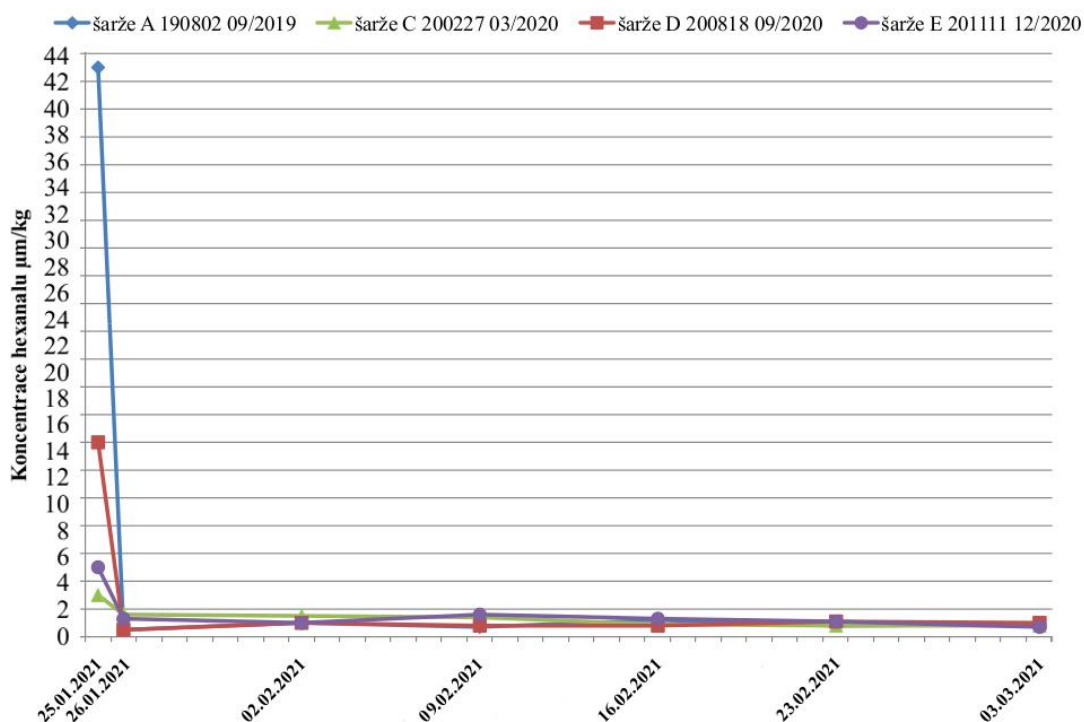
Pokud porovnáme měření endogenního hexanal v měsíčním a týdenním intervalu, tak hexanal za stejně uplynulou dobu klesl na stejnou hodnotu v obou, na sobě nezávislých, měření. Mimo bariéru došlo v šarži A ke zvýšení koncentrace během roku, ovšem v šarži C hexanal klesl.

**Tabulka 3: Hodnoty koncentrací ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) endogenního hexanal v jednotlivých šaržích podestýlky (týdenní interval) r. 2021**

	A	C	D	E
<b>0</b>	41	3	14	5
<b>1</b>	< 0,5	1,6	< 0,5	1,3
<b>2</b>	1	1,5	1	1
<b>3</b>	0,7	1,4	0,8	1,6
<b>4</b>	1,2	0,9	0,8	1,3
<b>5</b>	0,8	0,8	1,1	1,1
<b>6</b>	0,9	0,8	1	0,7

**Legenda:** šarže 190802 09/2019 (A), šarže 200227 03/2020 (C), šarže 200818 09/2020 (D), šarže 201111 12/2020 (E). Odběr před sterilizací dne 25.01.2021 (0), odběr po sterilizaci 26.01.2021 (1), odběr 02.02.2021 (2), odběr 09.02.2021 (3), odběr 16.02.2021 (4), odběr 23.02.2021 (5), odběr 03.03.2021 (6).

**Graf 2: Koncentrace endogenního hexanal (týdenní interval) r. 2021**



## 5.2 Exogenní hexanal

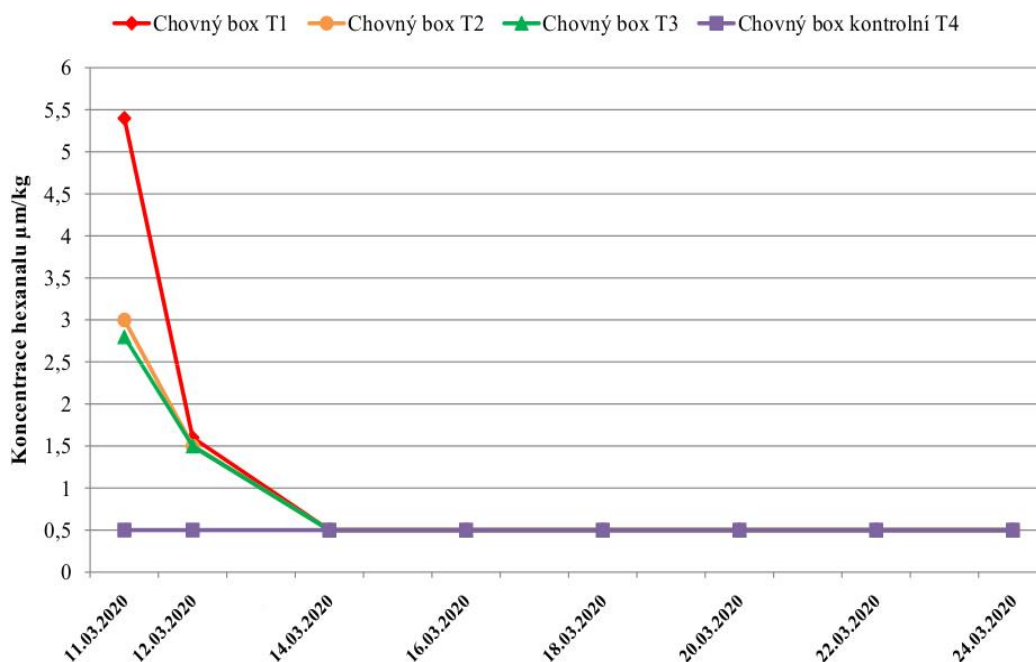
Vstupní koncentrace hexanalů byla 145 µg/kg dřevní štěpky, avšak cílová byla jen 5 µg/kg dřevní štěpky. Při aplikaci došlo k 90% ztrátám hexanalů do ovzduší, díky čemuž byla koncentrace mezi boxy různá, avšak rozdíly byly nepatrné. Nejvyšší hodnoty hexanalů byly naměřeny v boxu T1 a nejnižší v boxu T3. Naaplikovaný hexanal byl z chovných boxů odvětrán za relativně krátkou dobu, čímž byl opět potvrzen klesající trend (graf 3).

**Tabulka 4: Hodnoty koncentrací (µg/kg) exogenního hexanalů r. 2020**

	T1	T2	T3	T4
1	5,4	3	2,8	< 0,5
2	1,6	1,5	1,5	< 0,5
3	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
4	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
6	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
7	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
8	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5

**Legenda:** Chovný box s exogenním hexanalem (T1 - T3) o koncentraci 145 µg/kg, kontrolní chovný box bez exogenního hexanalů (T4). Odběr po aplikaci hexanalů dne 11.03.2020 (1), odběr 12.03.2020 (2), odběr 14.03.2020 (3), odběr 16.03.2020 (4), odběr 18.03.2020 (5), odběr 20.03.2020 (6), odběr 22.03.2020 (7), odběr 24.03.2020 (8).

**Graf 3: Koncentrace exogenního hexanalů r. 2020**



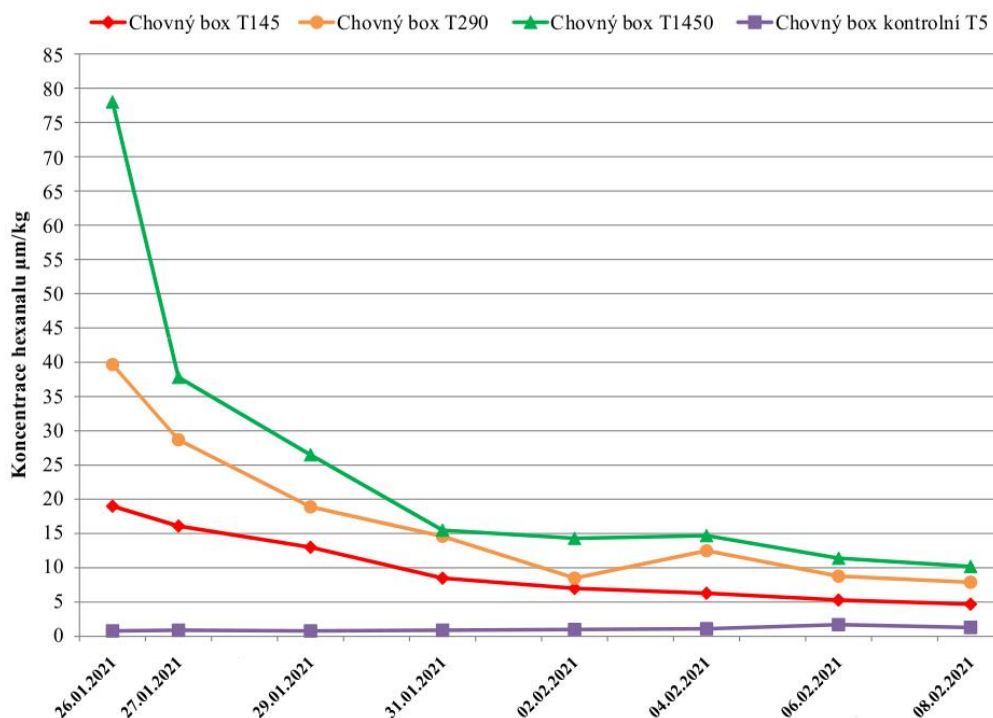
Vstupní i cílové hodnoty koncentrací hexanalů se navzájem lišily. Čím byla vyšší koncentrace aplikovaného hexanalů, tím byly větší ztráty do ovzduší. Při koncentraci 145  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dřevní štěpky došlo k 85% ztrátám, při koncentraci 290  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dřevní štěpky k 90% ztrátám a při koncentraci 1 450  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dřevní štěpky dokonce k 95% ztrátám. Všechny tři koncentrace byly odvětrány pomocí IVC stojanu za poměrně krátkou dobu na podobné hodnoty. Po zjištění homogenity aplikace byla podestýlka z finančních důvodů sesypána z chovných boxů v rámci dané koncentrace pouze do jednoho boxu (graf 4).

**Tabulka 5: Hodnoty tří koncentrací ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) exogenního hexanalů r. 2021**

	T <sub>145</sub>			T <sub>290</sub>			T <sub>1450</sub>			T5
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	
1	16	21	20	32	39	48	86	87	61	0,8
2*		16,1			28,7			37,8		0,9
3		13			18,9			26,5		0,8
4		8,5			14,6			15,5		0,9
5		7			8,5			14,3		1
6		6,3			12,5			14,7		1,1
7		5,3			8,8			11,4		1,7
8		4,7			7,9			10,2		1,3

**Legenda:** Chovný box (a - c) se 145  $\mu\text{g}/\text{kg}$  hexanalů (T<sub>145</sub>), chovný box (a - c) s 290  $\mu\text{g}/\text{kg}$  hexanalů (T<sub>290</sub>), chovný box (a - c) se 1 450  $\mu\text{g}/\text{kg}$  hexanalů (T<sub>1450</sub>), kontrolní chovný box bez exogenního hexanalů (T5). Odběr po aplikaci hexanalů 26.01.2021 (1), odběr 27.01.2021 (2), odběr 29.01.2021 (3), odběr 31.01.2021 (4), odběr 02.02.2021 (5), odběr 04.02.2021 (6), odběr 06.02.2021 (7), odběr 08.02.2021 (8). \* = spojení vzorků.

**Graf 4: Koncentrace exogenního hexanalů r. 2021**



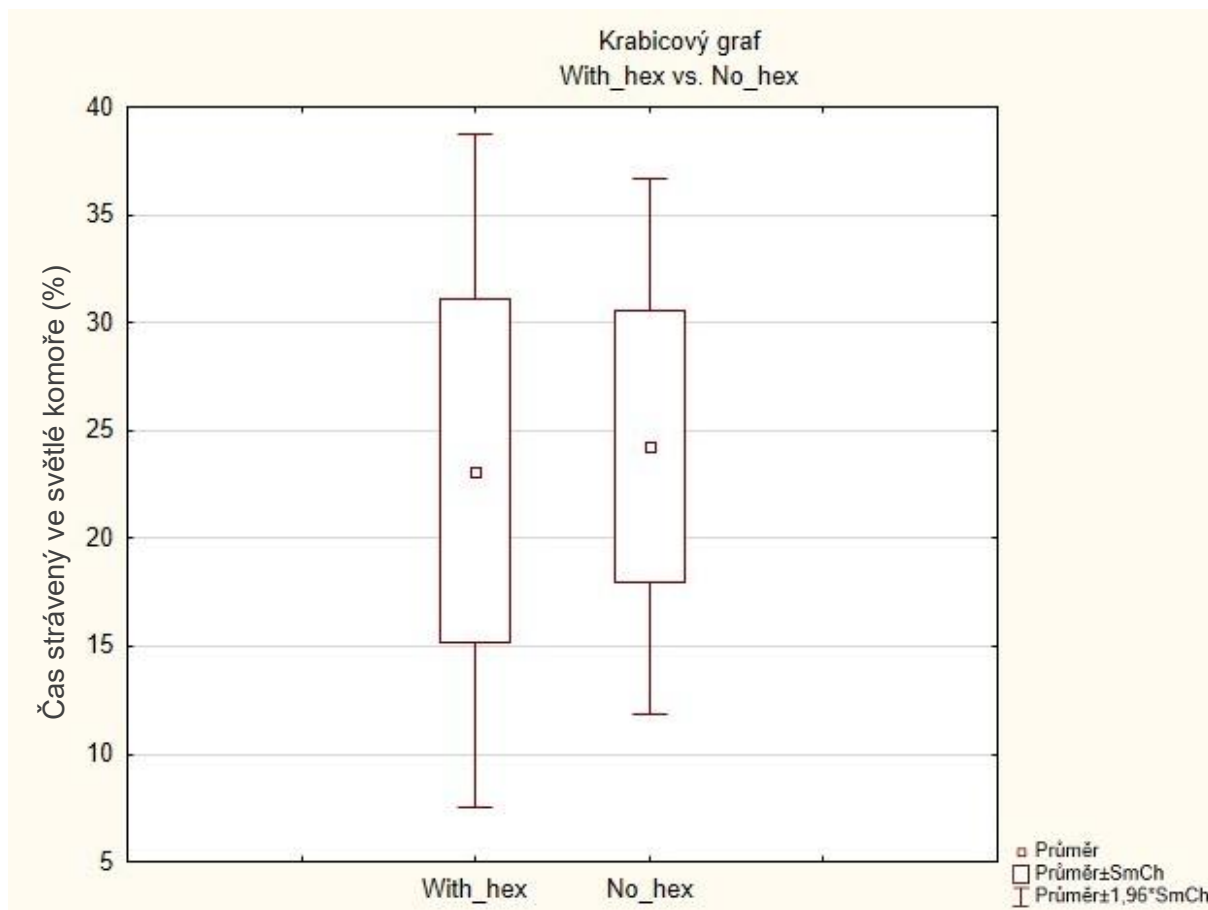
### 5.3 Vliv hexanalů na chování březích samic

#### Light-dark box test

Tabulka 6: LDB

ID samice	Čas strávený ve světlé komoře (%)	Čas strávený v tmavé komoře (%)
82Z-04716 <sup>H</sup>	25,03	74,96
82Z-04717 <sup>H</sup>	0,96	99,03
82Z-04719 <sup>H</sup>	27,63	72,36
82Z-04720 <sup>H</sup>	38,86	61,13
82Z-04718 <sup>K</sup>	31	68,96
82Z-CE358 <sup>K</sup>	34,93	65,06
82Z-CE359 <sup>K</sup>	24,73	75,26
82Z-CE360 <sup>K</sup>	6,4	93,6

Graf 5: Zobrazení dvouvýběrového T-testu z programu Statistika 12 - LDB



**Tabulka 7: Výstup z programu Statistica 12 - LDB**

Skup. 1 vs. skup. 2	"T-test pro nezávislé vzorky (Testování_data_Ttest) Pozn.: Proměnné byly brány jako nezávislé vzorky"						
	Průměr skup. 1	Průměr skup. 2	Hodnota t	sv	p	Poč.plat. skup. 1	Poč.plat. skup. 2
With_hex vs. No_hex	23,12	24,26	-0,11	6	0,91	4	4

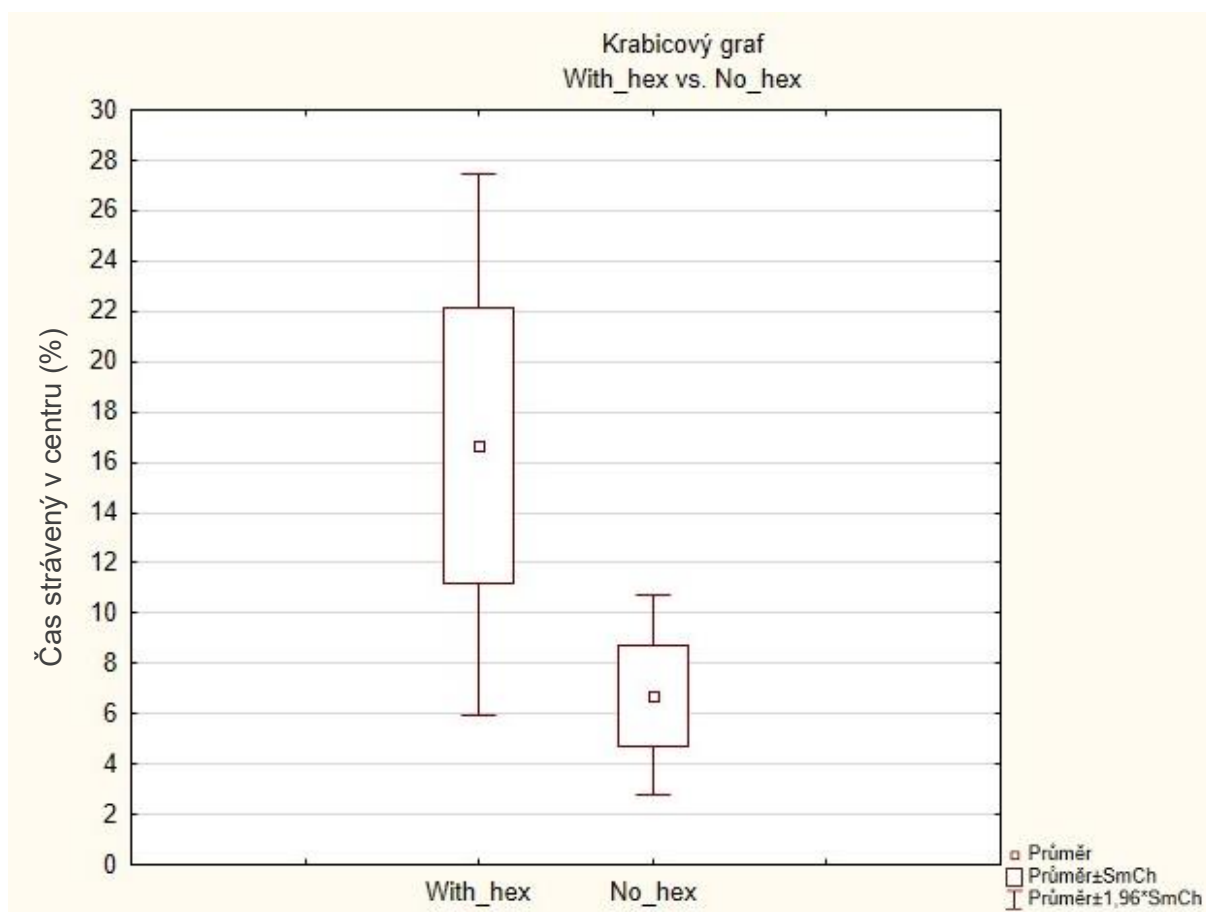
Skup. 1 vs. skup. 2	"T-test pro nezávislé vzorky (Testování_data_Ttest) Pozn.: Proměnné byly brány jako nezávislé vzorky"			
	Sm. odch. skup. 1	Sm. odch. skup. 2	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
With_hex vs. No_hex	15,95	12,63	1,59	0,71

Hodnota p (0,91) byla větší než hladina významnosti  $\alpha$  (0,05). Hypotézu pro LDB test nelze zamítnout, statisticky bylo prokázáno, že neexistoval významný rozdíl v úrovni úzkosti mezi samicemi ovlivněných hexanalem a samicemi bez vlivu hexanalů. Všechny samice byly na nízké úrovni úzkosti.

**Openfield test (OF)****Tabulka 8: OF**

ID samice	Čas strávený v centru (%)	Čas strávený na periferii (%)
82Z-04716 <sup>H</sup>	31,0	69,0
82Z-04717 <sup>H</sup>	5,3	94,7
82Z-04719 <sup>H</sup>	18,6	81,4
82Z-04720 <sup>H</sup>	11,8	88,2
82Z-04718 <sup>K</sup>	7,8	92,2
82Z-CE358 <sup>K</sup>	10,9	89,1
82Z-CE359 <sup>K</sup>	7,0	93,0
82Z-CE360 <sup>K</sup>	1,2	98,8

**Graf 6: Zobrazení dvouvýběrového T-testu z programu Statistika 12 - OF**



**Tabulka 9: Výstup z programu Statistica 12 - OF**

Skup. 1 vs. skup. 2	"T-test pro nezávislé vzorky (Testování_data_Ttest) Pozn.: Proměnné byly brány jako nezávislé vzorky"						
	Průměr skup. 1	Průměr skup. 2	Hodnota t	sv	p	Poč.plat. skup. 1	Poč.plat. skup. 2
With_hex vs. No_hex	16,68	6,73	1,70	6	0,14	4	4

Skup. 1 vs. skup. 2	"T-test pro nezávislé vzorky (Testování_data_Ttest) Pozn.: Proměnné byly brány jako nezávislé vzorky"			
	Sm. odch. skup. 1	Sm. odch. skup. 2	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
With_hex vs. No_hex	10,99	4,05	7,36	0,14

Hodnota p (0,14) byla větší než hladina významnosti  $\alpha$  (0,05). Hypotézu pro OF test nelze zamítnout, statisticky bylo prokázáno, že neexistoval významný rozdíl v úrovni úzkosti mezi samicemi ovlivněných hexanalem a samicemi bez vlivu hexanalu. Všechny samice byly na nízké úrovni úzkosti.

## Péče o mlád'ata

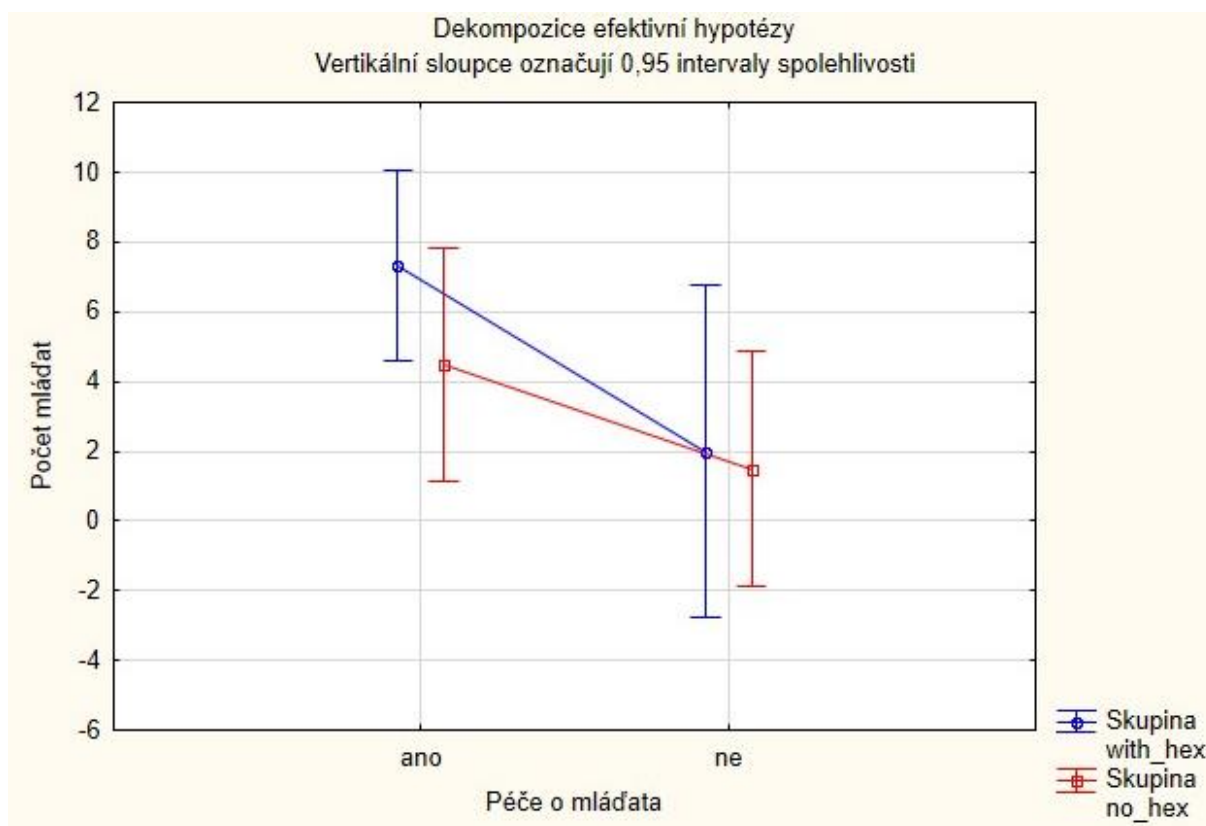
Tabulka 10: Mateřské chování březích samic inbredního kmene C57Bl/6NCrl

ID samice	Březí	c hexanalů ( $\mu\text{m}/\text{kg}$ )	Stavba hnízda	Péče o mlád'ata	Počet mlád'at
82Z-04716 <sup>H</sup>	+	42	+	+	6
82Z-04717 <sup>H</sup>	+	38	+	+	6
82Z-04719 <sup>H</sup>	+	49	+	-	2
82Z-04720 <sup>H</sup>	+	42	+	+	10
82Z-04718 <sup>K</sup>	+	---	+	-	2
82Z-CE358 <sup>K</sup>	+	---	+	-	1
82Z-CE359 <sup>K</sup>	+	---	+	+	4
82Z-CE360 <sup>K</sup>	+	---	+	+	5

Legenda: Samice na hexanalů (H), samice bez hexanalů (K), ano (+), ne (-), bez koncentrace hexanalů (---).

Samice 82Z-04718 porodila 2 mrtvá mlád'ata, samice 82Z-CE358 porodila jedno, které bylo krátce po porodu zabito a u samice 82Z-04719 byla nalezena 2 mrtvá mlád'ata. Zbylé samice se o mlád'ata staraly až do odstavu. Dle výsledků zde existuje souvislost mezi počtem mlád'at a jejich úmrtím (přirozeným či usmrcením matkou).

Graf 7: Zobrazení z programu Statistika 12 - péče o mlád'ata



**Tabulka 11: Výstup z programu Statistica 12 - péče o mlád'ata**

	"Jednorozměrné testy významnosti, velik. efektů a síly pro Péče o mlád'ata Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy"				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	0,03	1,00	0,03	0,22	0,66
Počet mlád'at	<b>1,17</b>	<b>1,00</b>	<b>1,17</b>	<b>10,00</b>	<b>0,03</b>
Skupina	0,09	1,00	0,09	0,75	0,43
Chyba	0,58	5,00	0,12		

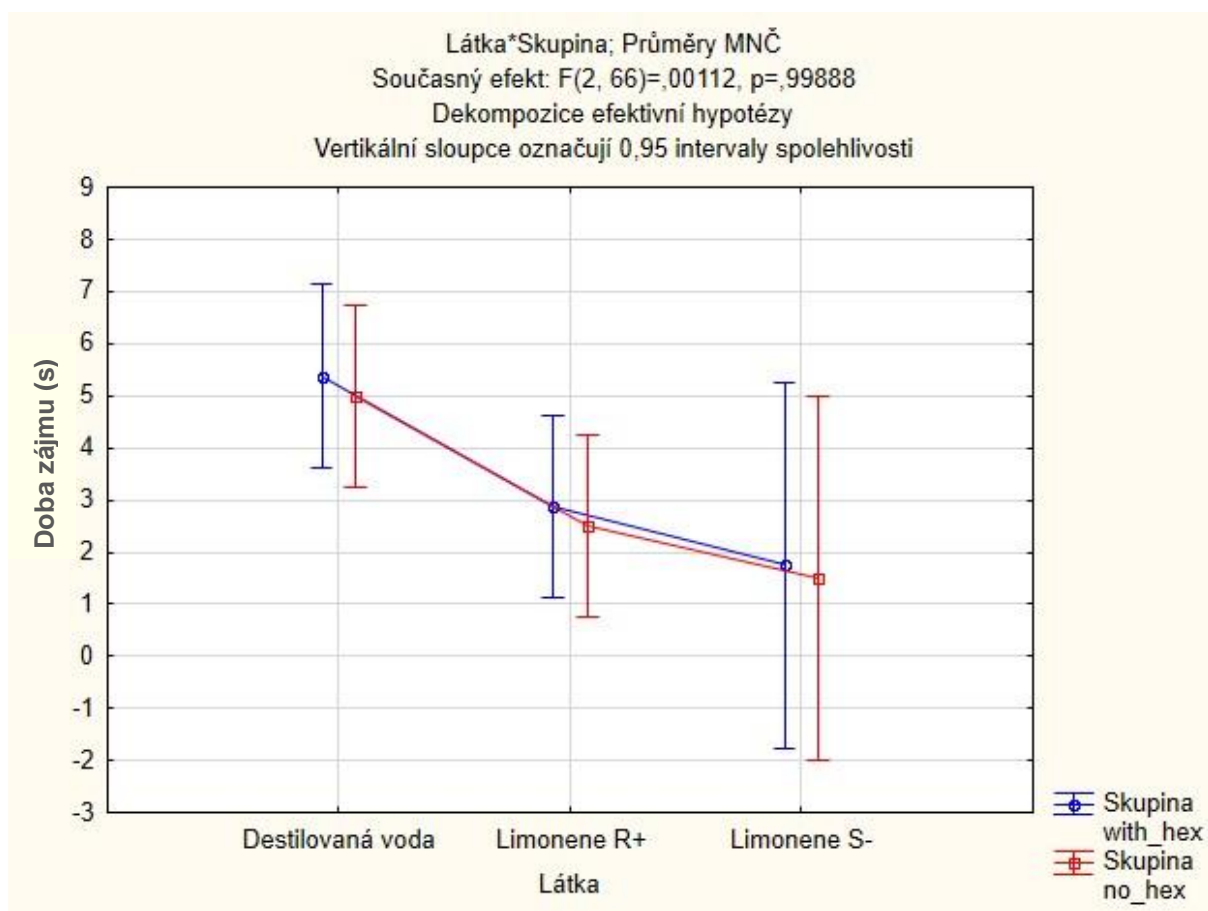
Hodnota  $p$  (0,43) byla větší než hladina významnosti  $\alpha$  (0,05). Statisticky bylo prokázáno, že neexistoval významný rozdíl v mateřské péči mezi samicemi ovlivněných hexanalem a samicemi bez vlivu hexanalu. Proto byla stanovená nulová hypotéza pro tento projekt zamítnuta.

**Olfaktorický test (OT)****Tabulka 12: OT**

ID myši	Doba zájmu (s)									
	Minuta	Destilovaná voda				Limonene R <sup>+</sup>				Limonene S <sup>-</sup>
		1.	2.	3.	4.	1.	2.	3.	4.	1.
82Z-04716 <sup>H</sup>	4	4	2	4	4	4	1	3	3	
82Z-04717 <sup>H</sup>	15	3	2	3	6	0	0	0	3	
82Z-04719 <sup>H</sup>	7	4	1	3	2	1	2	3	0	
82Z-04720 <sup>H</sup>	19	6	4	5	7	7	4	2	1	
82Z-04718 <sup>K</sup>	6	3	10	5	1	2	2	1	2	
82Z-CE358 <sup>K</sup>	2	2	5	8	3	2	3	0	0	
82Z-CE359 <sup>K</sup>	1	2	0	1	0	2	1	2	1	
82Z-CE360 <sup>K</sup>	7	5	16	7	11	7	3	0	3	



**Graf 8: Zobrazení dvoufaktorové ANOVY z programu Statistika 12 - OT**



**Tabulka 13: Výstup z programu Statistika 12 - OT**

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Doba zájmu (Olfactory_stat) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	481,3333	1	481,3333	38,96719	0,000000
Látka	<b>138,0278</b>	<b>2</b>	<b>69,0139</b>	<b>5,58714</b>	<b>0,005733</b>
Skupina	1,3333	1	1,3333	0,10794	0,743539
Látka*Skupina	0,0278	2	0,0139	0,00112	0,998876
Chyba	815,2500	66	12,3523		

Hodnota  $p$  (0,10) pro Látka\*Skupina byla větší než hladina významnosti  $\alpha$  (0,05), proto nulovou hypotézu pro OT nelze zamítnout. Statisticky bylo prokázáno, že neexistoval významný rozdíl v čichových vlastnostech mezi samicemi ovlivněných hexanalem a samicemi bez vlivu hexanalu.

## 6 Diskuze

Toxicita hexanalů nebyla doposud dostatečně prozkoumána (Svedberg et al. 2004). Hamaguci-hamada et al. (2003) přišli na to, že hexanal ovlivňuje především mateřské chování u laboratorních myší. Absence mateřského chování způsobovala zejména fenotyp novorozenecké smrti, který se objevoval nejčastěji u samic s nedostatkem Fyn kinázy. Mateřské chování bylo zkoumáno na autoklávované štěpce ze dřeva stromu Douglaska, kde byl fenotyp novorozenecké smrti prokázán v následku toho, že mláďata uhynula do 3. dne života. Náš projekt se zabýval pokusem na podestýlce z topolového dřeva, genetická výbava samic nebyla předmětem našeho pokusu. K žádným úhynům mláďat v důsledku působení hexanalů nedocházelo, tudíž fenotyp novorozenecké smrti nebyl prokázán. Naše výsledky se s Hamaguci-hamada et al. (2003) rozcházejí, a proto nesouhlasíme s tvrzením, že hexanal ovlivňuje mateřské chování. Hamaguci-hamada et al. (2004) poukazují na to, že působení hexanalů je ovlivněno nejen genetickou výbavou jedince, ale i použitým druhem dřeva, protože dřevo má různé vstřebávací vlastnosti, které se liší i mezi letním a zimním typem dřeva. S touto myšlenkou se ztotožňujeme, protože se výsledky lišily v mnoha faktorech. Doporučili bychom pro další výzkum prozkoumat udržitelnost hexanalů na jednotlivých druhích dřeva, což může být důležitým faktorem při výběru podestýlky pro chov laboratorních zvířat.

Hamaguci-hamada et al. (2003) použili koncentraci hexanalů 4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a 8  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dřevní štěpky. U štěpky z Douglasky tato koncentrace byla dostačující k ovlivnění mateřského chování, u našeho topolového dřeva nebyla dostačující k ovlivnění mateřského chování ani koncentrace 1 450  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dřevní štěpky. Davey et al. (2003) tvrdí, že koncentrace přirozeně se vyskytujícího hexanalů neustále stoupá, a to v závislosti na okolní teplotě - čím vyšší okolní teplota je, tím rychleji koncentrace hexanalů stoupá. Při sterilizaci dřeva za působení vysokých teplot se koncentrace hexanalů sice snížila, ale s postupem času hodnoty hexanalů začaly opět vzrůstat. V našem pokusu byla dřevní štěpka vysterilizována pomocí autoklávu. Z původní změřené koncentrace došlo ke snížení hodnot ve všech šaržích. Pouze v šarži 191127 12/2019 (B) byla původní koncentrace nižší, nežli po autoklávování. Nízká koncentrace mohla být ovlivněna jiným způsobem uskladnění, jelikož této šarže bylo malé množství a byla uschována v chovném boxu, přitom ostatní šarže byly uskladněné v polypropylenových pytlích. Způsob uskladnění mohl být důvodem pro různé hodnoty hexanalů v podestýlce před sterilizací. Vzhledem ke zvýšení koncentrace v šarži B v následujícím měření, mohla být chybovost i na straně spektrometru a výsledek z měření mohl být špatně detekován. Proto byla provedena kalibrace přístroje mezi 1. a 2. měřením, kdy byla chyba na straně přístroje vyloučena. Koncentrace hexanalů s postupem času klesaly či se ustálily. Nastaly i výjimky, kde došlo k mírnému zvýšení koncentrace hexanalů, jednalo se ovšem pouze o jednorázový nárůst. Mezi jednotlivými nárůsty koncentrací nebyly žádné spojitosti, jako např.: odběr ve stejný čas, zvýšená okolní teplota nebo stejná šarže. Z důvodu rozdílných výsledků koncentrací hexanalů a jeho předpokládanému zvyšování,

ke kterému v podmínkách našeho pokusu nedošlo, nesouhlasíme ani s tvrzením Davey et al. (2003).

Kvůli výsledným nízkým koncentracím přirozeně se vyskytujícího hexanalů ve sterilní podestýlce byl hexanal aplikován po sterilizaci přímo v bariérovém chovu pro zajištění jeho vyšších hodnot. Použitá koncentrace k nebulizaci hexanalů na podestýlku byla 145  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dřevní štěpky, ale cílová koncentrace byla pouze 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dřevní štěpky. Tudíž při aplikaci došlo k 90% ztrátám do ovzduší. Desetinásobné zvýšení koncentrace potvrdilo ztráty nebulizovaného hexanalů do ovzduší. Řešením by mohlo být použití jiného hnacího plynu, běžně se k nebulizaci používají inertní plyny, jako např.: helium nebo dusík, nicméně v bariérovém chovu nebyla jiná možnost, nežli použít stlačený vzduch z centrálního rozvodu. Cílové koncentrace exogenního hexanalů byly o něco vyšší, než u endogenního hexanalů. Navrhujeme pro další zkoumání vlivu hexanalů na mateřské chování zajistit konstantní aplikování hexanalů do chovného boxu (či IVC stojanu), aby byla zjištěna míra vlivu hexanalů na reprodukci a zdraví laboratorních zvířat.

Pro otestování vlivu hexanalů na mateřské chování laboratorních myší byl k dispozici malý testovaný vzorek, především kvůli pandemii spojené s onemocněním Covid-19 a opatřeními provedených v bariérovém chovu. Pokud myš při light-dark box testu stráví ve světlé komoře například 25 % času, znamená to, že v tmavé komoře stráví zbylých 75 %. Proto byl statisticky vyhodnocen pouze stresový faktor - pohyb na světle. V případě vyhodnocení openfield testu byl postup obdobný, myš se buď pohybuje na periferii či v centru, byl posouzen procentuálně pohyb v centrální části přístroje. U žádné samice nebyla prokázána úzkost v důsledku působení hexanalů. Všechny samice si postavily hnízdo. I ty, u kterých došlo k úhynům mláďat, proto lze předpokládat, že pokud by mláďata přežila, samice by jim poskytly potřebnou mateřskou péči. Na tento předpoklad poukazuje i fakt, že žádná ze samic neměla ovlivněný ani čich. Výstup ze statistického programu u olfaktorického testu poukázal na statisticky významné rozdíly mezi použitými vůněmi. V takovém případě by mělo následovat další statistické šetření. Vzhledem k tomu, že se u OT jednalo o různé vůně, které jsou principem testování (tudíž jsou rozdíly patrné), nebyly další statistické výpočty provedeny. Výstupy ze statistického programu u všech testů poukázaly na neexistující statisticky významné rozdíly mezi březími samicemi.

Bylo by lepší použít větší vzorek k testování, z časových důvodů to ovšem nebylo možné. Ale i tento malý vzorek posloužil k prokázání, že hexanal v topolovém dřevu ve sterilním chovu, kde dochází ke sterilizaci podestýlky pomocí působení vysokých teplot, není nebezpečím pro reprodukční chovy laboratorních myší, a proto byla nulová hypotéza "Zvýšená koncentrace těkavých aldehydů, zejména hexanalů, v dřevní štěpce pro chov laboratorních zvířat má negativní vliv na mateřské chování laboratorních myší." zamítnuta.

## 7 Závěr

Na základě výsledků z naměřených koncentrací endogenního hexanalů můžeme potvrdit, že po sterilizaci dřevní štěpky se koncentrace hexanalů snížila. Jeho následné zvyšování k původním hodnotám se nám nepotvrdilo ani v jednom ze dvou, na sobě nezávislých, měření v různých šaržích podestýlky z topolového dřeva. Koncentrace hexanalů se během našeho výzkumu v neodvětrávaných chovných boxech stále snižovala.

V případě vyšších hodnot hexanalů, kterých jsme v našem výzkumu dosáhli pomocí aplikace exogenního hexanalů, je nebezpečí taktéž nízké, jelikož v individuálně odvětrávaných boxech se hexanal odvětrá za poměrně krátkou dobu a v chovných boxech se neudrží. V chovech, kde dochází ke sterilizaci podestýlky pomocí vysokých teplot, nemá hexanal na laboratorní myši významný vliv, jelikož při sterilizaci dochází k jeho útlumu a nadále se hodnoty hexanalů nezvyšují, naopak klesají. Tudíž dřevěná podestýlka není hrozbou pro chov laboratorních zvířat.

Hexanal, který byl aplikován na podestýlku pro vybrané březí samice se v IVC stojanech vyvětral za poměrně krátkou dobu. Za tuto dobu koncentrace hexanalů neovlivnila chování březích myši. U testovaných laboratorních myši nebyl pozorován významný rozdíl mezi chováním samic z podestýlky s hexanalem a bez hexanalů, tudíž mnou stanovenou hypotézu "Zvýšená koncentrace těkavých aldehydů, zejména hexanalů, v dřevní štěpce pro chov laboratorních zvířat má negativní vliv na mateřské chování laboratorních myši." zamítáme.

Pro stálé i nové chovy laboratorních zvířat bych navrhovala vždy dřevěnou podestýlku sterilizovat pomocí vysokých teplot. Pro další vyloučení rizika vlivu hexanalů doporučuji nepoužívat chovné boxy minimálně 5 dní od sterilizace.

## 8 Literatura

### 8.1 Knižní

Bohuš M, Brtek Ľ, Čejka T, Gulička J, Hensel K, Keifer M, Kminiak M, Korbel L, Košel V, Krumpál M, Krumpálová Z, Matis D, Novacký M, Rosický B, Tirjaková E, Vilček F. 2009. Velká kniha živočichů: hmyz, ryby, obojživelníci, plazi, ptáci, savci: 1582 barevných ilustrací. Příroda v Bratislavě. 4. upravené vydání. 344 stran. ISBN: 978-80-07-01333-9.

Červinka O, Dědek V, Ferles M. 1980. Organická chemie. 2. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury. 1980. 791 s. ISBN: 04-608-82.

Hedrich H. 2004. The laboratory mouse. Elsevier Academic Press London. First edition. ISBN: 0-12-336425-6.

Jebavý L. 2011. Chov laboratorních zvířat. Česká zemědělská univerzita v Praze. 1. vydání. 212 stran. ISBN 978 80-213-2176-2.

McMurry J. 2004. Organic chemistry. 6th edition. Brooks/Cole a Thomson Learning Company. 1 176 stran (682 - 725). ISBN: 0534389996.

Panico R, Powell WH, Richer JC. 2000. Průvodce názvoslovím organických sloučenin podle IUPAC. Academia Praha. 1. vydání. 220 stran. ISBN 80-200-0724-5.

Wilson ED, Reeder DM. 2005. Mammal species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. vol. 2. p. 2142. ISBN: 978-0801882210.

## **8.2 Patentové dokumenty**

Brackman W. 1959. Process for the preparation of aldehydes and ketones. The United States Patent No. 2,883,426. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

### 8.3 Články v periodikách

- Besson M, Gallezot P. 2000. Selective oxidation of alcohols and aldehydes on metal catalysts. *Catalysis Today* **57(1-2)**: 127-141.
- Bourin M, Hascoët M. 2003. The mouse light/dark box test. *European journal of pharmacology* **463(1-3)**: 55-65.
- Boursot P, Auffray JC, Britton-Davidian J, Bonhomme F. 1993. The evolution of house mice. *Annual review of ecology and systematics* **24(1)**: 119-152.
- Brattoli M, Cisternino E, Dambruoso PR, de Gennaro G, Giungato P, Mazzone A, Palmisani J, Tutino M. 2013. Gas chromatography analysis with olfactometric detection (GC O) as a useful methodology for chemical characterization of odorous. *Sensors* **13(12)**: 16759-16800.
- Clapcote SJ, Lazar NL, Bechard AR, Wood GA, Roder JC. 2005. NIH Swiss and Black Swiss mice have retinal degeneration and performance deficits in cognitive tests. *Comparative medicine* **55(4)**: 310-316.
- Cornils B, Fischer RW, Kohlpaintner CH. 2002. Butanals. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Weinheim **4**.
- Česká národní rada. 1992. Zákon na ochranu zvířat proti týrání. Sbírka zákonů č. 409 v Praze. 6611 - 6645.
- Davey AK, Fawcett JP, Lee SE, Chan KK, Schofield JC. 2003. Decrease in hepatic drug-metabolizing enzyme activities after removal of rats from pine bedding. *Comparative medicine* **53**: 299-302.
- Davies G, Greenhough B, Hobson-West P, Kirk RG. 2018. Science, culture, and care in laboratory animal research: Interdisciplinary perspectives on the history and future of the 3Rs. *Science, Technology & Human Values* **20(10)**: 1-19.
- Eicher EM, Beamer WG, Washburn LL, Whitten WK. 1980. A cytogenetic investigation of inherited true hermaphroditism in BALB/cWt mice. *Cytogenetic and Genome Research* **28(1-2)**: 104-115.
- Ennaceur A. 2014. Tests of unconditioned anxiety-pitfalls and disappointments. *Physiology & behavior* **135**: 55-71.
- Ericsson AC, Crim MJ, Franklin CL. 2013. A brief history of animal modeling. *Missouri medicine* **110(3)**: 201 - 205.
- EU Commission. 2007. Report from the Commission to the Council and the European Parliament. Pursuant to Article **16**.
- Franco NH. 2013. Animal experiments in biomedical research: a historical perspective. *Animals* **3(1)**: 238-273.

- Garner JP, Weisker SM, Dufour B, Mench JA. 2004. Barbering (fur and whisker trimming) by laboratory mice as a model of human trichotillomania and obsessive-compulsive spectrum disorders. *Comparative medicine* **54(2)**: 216-224.
- Goss GM, Chaudhari N, Hare JM, Nwojo R, Seidler B, Saur D, Goldstein BJ. 2016. Differentiation potential of individual olfactory c-Kit<sup>+</sup> progenitors determined via multicolor lineage tracing. *Developmental Neurobiology* **76 (3)**: 241–251.
- Gregory SG, Sekhon M, Schein J, Zhao S, Osoegawa K, Scott CE, Evans SR, Burridge PW, Cox TV, Fox ChA, Hutton RD, Mullenger IR, Phillips KJ, Smith J, Stalker J, Threadgold GJ, Birney E, Wylie K, Chinwalla A, Wallis J, Hillier la D, Carter J, Gaige T, Jaeger S, Kremitzki C, Layman D, Maas J, McGrane R, Mead M, Walker R, Jones S, Smith M, Asano J, Bosdet I, Chan S, Chittaranjan S, Chiu R, Fjell Ch, Fuhrmann D, Girn N, Gray K, Guin R, Hsiao L, Krzywinski M, Kutsche R, Lee SS, Mathewson C, McLeavy C, Messervier S, Ness S, Pandoh P, Prabhu AL, Saeedi P, Smailus D, Spence L, Stott J, Taylor S, Terpstra W, Tsai M, Vardy J, Wye N, Yang G, Shatsman S, Ayodeji B, Geer K, Tsegaye G, Shvartsbeyn A, Gebregeorgis E, Krol M, Russell D, Overton L, Malek JA, Holmes M, Heaney M, Shetty J, Feldblyum T, Nierman WC, Catanese JJ, Hubbard T, Waterston RH, Rogers J, Jong de PJ, Fraser CM, Marra M, McPherson, Bentley DR. 2002. A physical map of the mouse genome. *Nature* **418(6899)**: 743-750.
- Hamaguchi-Hamada K, Hamada S, Yagi T. 2003. Exposure to hexanal odor induces extraordinary Fos expression in the medial preoptic area and amygdala of Fyn tyrosine kinase-deficient mice. *Molecular brain research* **130(1-2)**: 187-190.
- Hamaguchi-Hamada K, Sanbo C, Hamada S, Yagi T. 2004. Exposure to hexanal odor influences maternal behavior and induces neonatal death in Fyn tyrosine kinase deficient mice. *Neuroscience research* **48**: 259-267.
- Hilgers J, van Nie R, Ivanyi D, Hilkens J, Michalides R, de Moes J, Poort-Keesom R, Kroezen V, von Deimling O, Kominami R, Holmes R. 1985. Genetic differences in BALB/c sublines. *Curr. Top. Microbiol. Immunol* **122**: 19-30.
- Chen W, Wang Z, Gu S, Wang J. 2019. Detection of hexanal in humid circumstances using hydrophobic molecularly imprinted polymers composite. *Sensors and Actuators B: Chemical* **291**: 141-147.
- Chia R, Achilli F, Festing MF, Fisher EM. 2005. The origins and uses of mouse outbred stocks. *Nature genetics* **37(11)**: 1181-1186.
- Jacobson L. 1813. Anatomisk beskrivelse over et nyt organ i huusdyrenes naese. *Veter Salesk Skrift* **2**: 209-246.
- Jia C, Goldman G, Halpern M. 1997. Development of vomeronasal receptor neuron subclasses and establishment of topographic projections to the accessory olfactory bulb. *Developmental brain research* **102(2)**: 209-216.



- Kang SK, Hawkins NA, Kearney JA. 2019. C57BL/6J and C57BL/6N substrains differentially influence phenotype severity in the Scn1a<sup>+/-</sup> mouse model of Dravet syndrome. *Epilepsia Open* **4(1)**: 164-169.
- Karlson P, Lüscher M. 1959. 'Pheromones': a new term for a class of biologically active substances. *Nature* **183(4653)**: 55-56.
- Karunadasa DK, Chapman C, Bicknell RJ. 2006. Expression of pheromone receptor gene families during olfactory development in the mouse: expression of a V1 receptor in the main olfactory epithelium. *European Journal of Neuroscience* **23(10)**: 2563-2572.
- Keverne EB. 2004. Importance of olfactory and vomeronasal systems for male sexual function. *Physiology & behavior* **83(2)**: 177-187.
- Khan AS, Ali S. 2018. Preharvest sprays affecting shelf life and storage potential of fruits. In Preharvest modulation of postharvest fruit and vegetable quality. Academic Press **13**: 209 - 255.
- Kim JE, Nam JH, Cho JY, Kim KS, Hwang DY. 2017. Annual tendency of research papers used ICR mice as experimental animals in biomedical research fields. *Laboratory animal research* **33(2)**: 171-174.
- Kondoh K, Lu Z, Ye X, Olson DP, Lowell BB, Buck LB. 2016. A specific area of olfactory cortex involved in stress hormone responses to predator odours. *Nature* **532(7597)**: 103-106.
- Kopkan L. 2019. (pers. comm.)
- Lamberty Y, Gower AJ. 1992. Age-related changes in spontaneous behavior and learning in NMRI mice from middle to old age. *Physiology & behavior* **51(1)**: 81-88.
- Langley WM. 1983. Relative importance of the distance senses in grasshopper mouse predatory behaviour. *Animal Behaviour* **31(1)**: 199-205.
- Leinders-Zufall T, Brennan P, Widmayer P, Maul-Pavicic A, Jäger M, Li XH, Breer H, Zufall F, Boehm T. 2004. MHC class I peptides as chemosensory signals in the vomeronasal organ. *Science* **306(5698)**: 1033-1037.
- Lévai O, Feistel T, Breer H, Strotmann J. 2006. Cells in the vomeronasal organ express odorant receptors but project to the accessory olfactory bulb. *Journal of Comparative Neurology* **498(4)**: 476-490.
- Meredith M, O'connell RJ. 1979. Efferent control of stimulus access to the hamster vomeronasal organ. *The Journal of physiology* **286**: 301.
- Moss GP, Smith PAS, Tavernier D. 1995. Glossary of class names of organic compounds and reactivity intermediates based on structure (IUPAC Recommendations 1995). *Pure and applied chemistry* **67(8-9)**: 1307-1375.

- Nishimura K, Utsumi K, Yuhara M, Fujitani Y, Iritani A. 1989. Identification of puberty-accelerating pheromones in male mouse urine. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* **251(3)**: 300-305.
- Pugh PL, Ahmed SF, Smith MI, Upton N, Hunter AJ. 2004. A behavioural characterisation of the FVB/N mouse strain. *Behavioural brain research* **155(2)**: 283-289.
- Restrepo D, Arellano J, Oliva AM, Schaefer ML, Lin W. 2004. Emerging views on the distinct but related roles of the main and accessory olfactory systems in responsiveness to chemosensory signals in mice. *Hormones and behavior* **46(3)**, 247-256.
- Salem H, Cullumbine H. 1960. Inhalation toxicities of some aldehydes. *Toxicology and applied pharmacology* **2**: 183-187.
- Samson AL, Ju L, Kim HA, Zhang SR, Lee JAA, Sturgeon SA, Sobey ChG, Jackson SP, Schoenwaelder SM. 2015. MouseMove: an open source program for semi-automated analysis of movement and cognitive testing in rodents. *Scientific reports* **5(1)**: 1-11.
- Sarna JR, Dyck RH, Whishaw IQ. 2000. The Dalila effect: C57BL6 mice barber whiskers by plucking. *Behavioural brain research* **108(1)**: 39-45.
- Shahidi F, Pegg RB. 1994. Hexanal as an indicator of meat flavor deterioration. *Journal of Food Lipids* **1(3)**: 177-186.
- Shultz LD, Lyons BL, Burzenski LM, Gott B, Chen X, Chaleff S, Kotb M, Gillies SD, King M, Mangada J, Greiner DL, Handgretinger, R. 2005. Human lymphoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid IL2R $\gamma$ null mice engrafted with mobilized human hemopoietic stem cells. *The Journal of Immunology* **174(10)**: 6477-6489.
- Song HK, Hwang DY. 2017. Use of C57BL/6N mice on the variety of immunological researches. *Laboratory animal research* **33(2)**: 119-123.
- Stanford SC. 2007. The open field test: reinventing the wheel. *Journal of psychopharmacology* **21(2)**: 134-136.
- Svedberg UR, Hogberg HE, Hogberg J, Galle B. 2004. Corrigendum: Emission of Hexanal and Carbon Monoxide from Storage of Wood Pellets, a Potential Occupational and Domestic Health Hazard. *Annals of Occupational Hygiene* **48(4)**: 381-381.
- Tuttle AH, Philip VM, Chesler EJ, Mogil JS. 2018. Comparing phenotypic variation between inbred and outbred mice. *Nature methods* **15(12)**: 994-996.
- Wang A, Jiang H. 2010. Palladium-catalyzed direct oxidation of alkenes with molecular oxygen: general and practical methods for the preparation of 1, 2-diols, aldehydes, and ketones. *The Journal of organic chemistry* **75(7)**: 2321-2326.

- Xu F, Schaefer M, Kida I, Schafer J, Liu N, Rothman DL, Shepherd GM. 2005. Simultaneous activation of mouse main and accessory olfactory bulbs by odors or pheromones. *Journal of Comparative Neurology* **489(4)**: 491-500.
- Yalcin B, Nicod J, Bhomra A, Davidson S, Cleak J, Farinelli L, Østerås M, Whitley A, Yuan W, Gan X, Goodson M, Klenerman P, Satpathy A, Mathis D, Benoist Ch, Adams DJ, Mott R, Flint J. 2010. Commercially available outbred mice for genome-wide association studies. *PLoS Genet* **6(9)**: 1-15.
- Yamaguchi S, Fujiwara H, Tashima I, Iwanaga D, Ushio H. 2010. Effect of oxidized arachidonic acid and hexanal on the mouse taste perception of bitterness and umami. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*.
- Zucchi R, Chiellini G, Scanlan TS, Grandy DK. 2006. Trace amine-associated receptors and their ligands. *British journal of pharmacology* **149(8)**: 967-978.

## 8.4 Webové stránky

- Augustyn A, Bauer P, Duignan B, Eldridge A, Gregersen E, McKenna A, Petruzzello M, Rafferty PJ, Ray M, Rogers K, Tikkanen A, Wallenfeldt J, Zeidan A, Zelazko A. 1998. Formaldehyde. Encyclopaedia Britannica. United States. Available from <https://www.britannica.com/science/formaldehyde> (accessed July 1998).
- Babůrková E. 2018. Česká bioložka naklonovala myš a vytvořila geneticky modifikovaného křečka. Ústav molekulární genetiky akademie věd. Praha. Available from <https://www.img.cas.cz/2018/07/32915-ceska-biolozka-naklonovala-mys-a-vytvorila-geneticky-modifikovaneho-krecka/> (accessed July 2018).
- Brown WH. 1998. Acetaldehyde. Encyclopaedia Britannica. United States. Available from <https://www.britannica.com/science/acetaldehyde> (accessed July 1998).
- Charles River. 2021a. NU/NU Nude Mouse. Charles River Laboratories. Germany. Available from <https://www.criver.com/products-services/find-model/nunu-nude-mouse?region=23> (accessed 2021).
- Charles River. 2021b. OF1 Mouse. Charles River Laboratories. Germany. Available from <https://www.criver.com/products-services/find-model/of1-mouse?region=23> (accessed 2021).
- Charles River. 2021c. SKH1 Hairless Mouse. Charles River Laboratories. Germany. Available from <https://www.criver.com/products-services/find-model/skh1-hairless-mouse?region=3616> (accessed 2021).
- Hewitt J. 2016. New evidence for the vibration theory of smell. Available from <https://phys.org/news/2016-02-evidence-vibration-theory.html> (accessed February 2016).
- Kauffman GB. 1998. Hydrate. Encyclopaedia Britannica. United States. Available from <https://www.britannica.com/science/hydrate> (accessed July 1998).
- Petrlík J, Válek P. 2014. Formaldehyd. Arnika. Praha. Available from <https://arnika.org/formaldehyd> (accessed 2014).
- Pokorný Z. 2014. Myš domácí *Mus musculus*. Chov zvířat. Praha. Available from <http://www.chovzvirat.cz/zvire/2870-mys-domaci/> (accessed January 2014).
- PupChem. 2004a. Propionaldehyde. National Center for Biotechnology Information. USA. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Propionaldehyde> (accessed September 2004).
- PupChem. 2004b. Octanal. National Center for Biotechnology Information. USA. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Octanal> (accessed September 2004).
- PupChem. 2004c. Decanal. National Center for Biotechnology Information. USA. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Decanal> (accessed September 2004).

- PupChem. 2005a. Pentanal. National Center for Biotechnology Information. USA. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/pentanal> (accessed March 2005).
- PupChem. 2005b. Heptanal. National Center for Biotechnology Information. USA. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Heptanal> (accessed March 2005).
- PupChem. 2005c. Nonanal. National Center for Biotechnology Information. USA. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nonanal> (accessed March 2005).
- Stanford Medicine. 2021. Behavioral and Functional Neuroscience Laboratory. Olfactory Test. Stanford Medicine. Stanford. Available from <https://med.stanford.edu/sbfnl/services/bm/sm/olfactory.html> (accessed 2021).
- Šoltésová J. 2007. Myš domácí (*Mus musculus*). příroda.cz. Vrchlabí. Available from <https://www.priroda.cz/lexikon.php?detail=831> (accessed February 2007).
- The Jackson Laboratory. 2021a. B6;129-Xpctm1Ecf/J. The Jackson Laboratory. The United States of America. Available from <https://www.jax.org/strain/010563> (accessed March 2021).
- The Jackson Laboratory. 2021b. CBA/CaJ. The Jackson Laboratory. The United States of America. Available from <https://www.jax.org/strain/000654> (accessed March 2021).
- The Jackson Laboratory. 2021c. DBA/2J. The Jackson Laboratory. The United States of America. Available from <https://www.jax.org/strain/000671> (accessed March 2021).
- Velaz. 2013a. 129-E Myš. Velaz. Praha. Available from <http://www.velaz.cz/product/129-e-mouse/> (accessed 2013).
- Velaz. 2013b. C3H/N. Velaz. Praha. Available from <http://www.velaz.cz/product/c3hn/> (accessed 2013).
- Velaz. 2013c. CBA/Ca. Velaz. Praha. Available from <http://www.velaz.cz/product/cbaca/> (accessed 2013).
- Velaz. 2013d. DBA/2NCrl. Velaz. Praha. Available from <http://www.velaz.cz/product/dba2ncrl/> (accessed 2013).
- Velaz. 2013e. NU/NU Mouse. Velaz. Praha. Available from <http://www.velaz.cz/product/nunu-mouse/> (accessed 2013).
- Velaz. 2013f. OF1. Velaz. Praha. Available from <http://www.velaz.cz/product/of1/> (accessed 2013).
- Velaz. 2013g. SKH1 Hairless. Velaz. Praha. Available from <http://www.velaz.cz/product/skh1/> (accessed 2013).

## 9 Přílohy

**Příloha 1: Data z light-dark box testu**

ID	Side changes	Light side time spent	Time active light side	Dark side time spent	Time active dark side	Latency to first transition	% time spent in light	% time spent in dark	Side changes
82Z-04716	3	75,1	45,66	224,9	135,61	96,9	25,03	74,96	3
82Z-04717	2	2,9	0,13	297,1	51,39	56	0,96	99,03	2
82Z-04718	12	93	43,8	206,9	81,31	31	31	68,96	12
82Z-04719	14	82,9	36,55	217,1	108,11	17	27,63	72,36	14
82Z-04720	13	116,6	45,47	183,4	71,52	23,3	38,86	61,13	13
82Z-CE358	13	104,8	53,4	195,2	85,69	30,7	34,93	65,06	13
82Z-CE359	10	74,2	34,28	225,8	89,64	5,8	24,73	75,26	10
82Z-CE360	2	19,2	2,61	280,8	33,41	75,4	6,4	93,6	2

**Příloha 2: Data z openfield testu**

ID	Whole arena resting time (s)	Whole arena permanence (s)	Whole arena average speed (cm/s)	Periphery distance travelled (cm)	Periphery presence time (s)	Center distance travelled (cm)	Center presence time (s)	Latency to center entry (s)	Number of center entries
82Z-04716	247,8	600	12,9	4307,9	413,9	3416,8	186	1	173
82Z-04717	1332,4	600	2,2	1146,6	568	185,7	32	8,9	23
82Z-04718	500,4	600	2,9	1415	553	343,8	47	0,5	36
82Z-04719	442,2	600	5,1	2255,4	488,2	809,6	111,8	1,6	55
82Z-04720	512,4	600	2,8	1148,9	529	519,8	71	4,8	39
82Z-CE358	472,8	600	4	1903,3	534,6	513,1	65,4	14,3	37
82Z-CE359	502,8	600	3	1303,7	557,9	470,2	42	23,8	28
82Z-CE360	509,5	600	0,85	492,4	592,7	17,2	7,3	43,5	4

### Příloha 3: Obrázky



Kmen 129

Zdroj: <https://animalab.cz/129-mice-129s2-svpassrl>



Kmen Balb/c

Zdroj: <https://animalab.cz/balb-c-mouse>



Kmen C57Bl /6

Zdroj: <https://www.criver.com/products-services/find-model/c57bl6-germ-free-mouse?region=3616>



Kmen C57Bl /6 Albino

Zdroj: <https://www.taconic.com/taconic-insights/colony-management-solutions/why-would-you-want-a-black-6-mouse-that-isnt-black.html>



Kmen C3H/N

Zdroj: <http://www.velaz.cz/product/c3hn/>



Kmen CBA/Ca

Zdroj: <https://www.jax.org/strain/000656>



**Kmen DBA/2NCr1**

Zdroj: <http://www.velaz.cz/product/dba2ncr1/>



**Kmen FVB**

Zdroj: <https://www.taconic.com/mouse-model/fvb>



**Kmen Black Swiss**

Zdroj: <https://www.criver.com/products-services/find-model/black-swiss-mouse?region=23>



**Kmen ICR (CD-1®)**

Zdroj: <http://www.velaz.cz/product/cd-1-igs/>



**Kmen NMRI**

Zdroj: <https://www.envigo.com/model/hsdwin-nmri>



**Kmen NU/NU**

Zdroj: <https://www.jax.org/strain/002019>





**Kmen OF1**

Zdroj: <https://animalab.eu/of1-mouse-cr1-of1>



**Kmen SKH1 Hairless**

Zdroj: <https://www.criver.com/products-services/find-model/skh1-hairless-mouse?region=23>



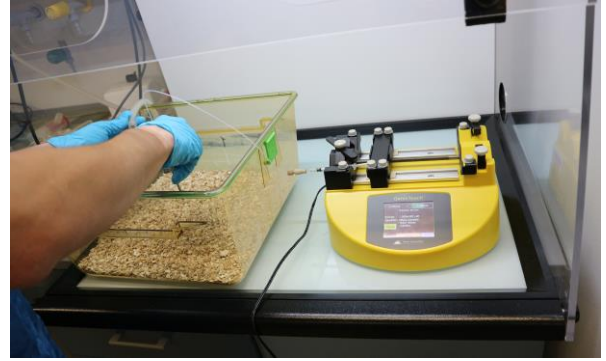
**Kmen NSG**

Zdroj: [https://www.arc.wa.gov.au/?page\\_id=2095](https://www.arc.wa.gov.au/?page_id=2095)



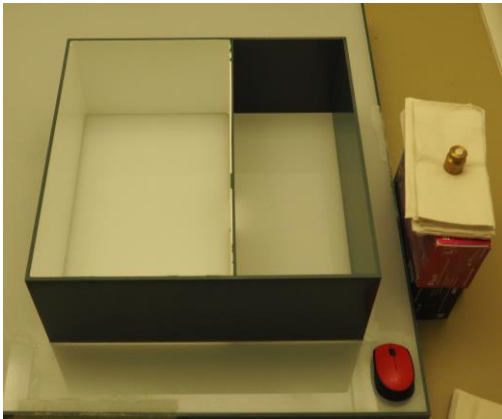
Chovný box

Foto by Šárka Karbanová



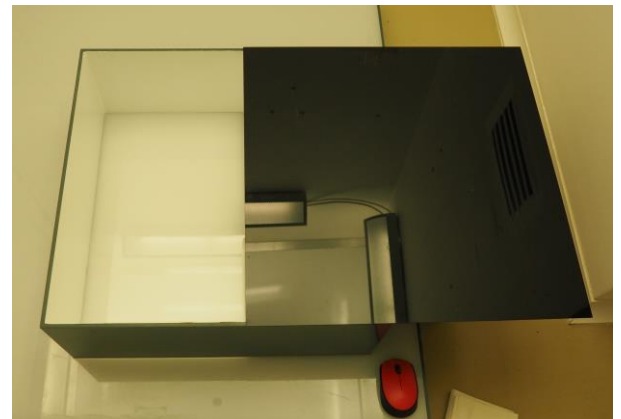
Nebulizér

Foto by Šárka Karbanová



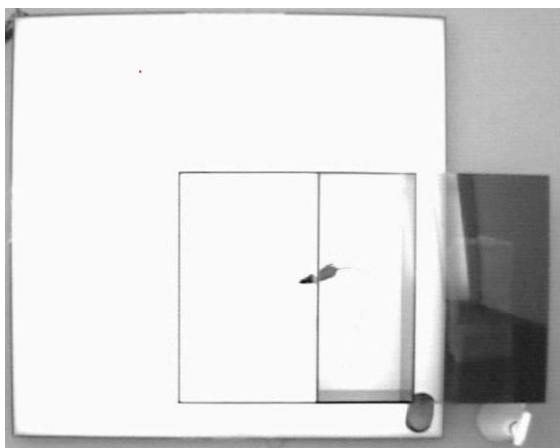
Light-dark box

Foto by Šárka Karbanová



Light-dark box kompletní

Foto by Šárka Karbanová



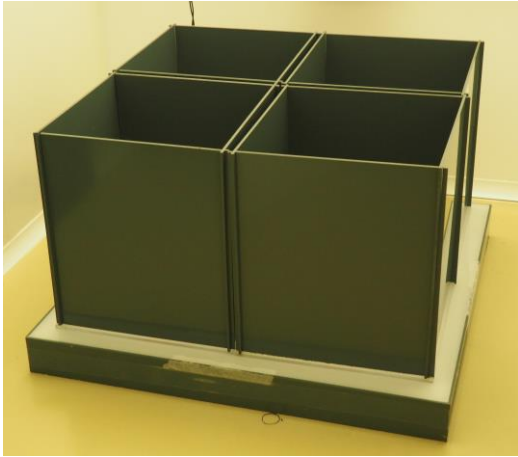
LDB – obrázek z videa - přechod mezi světlou a tmavou komou

Foto by Šárka Karbanová



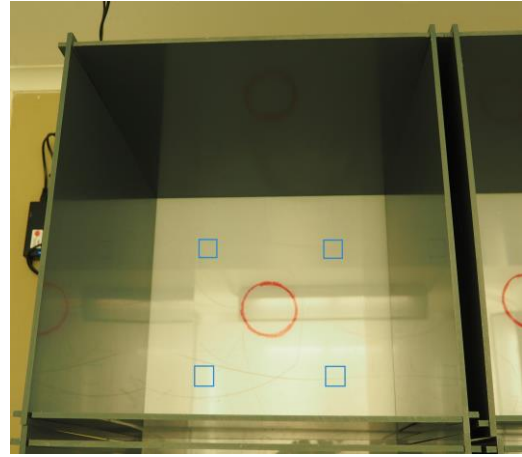
OF – obrázek z videa - samice různé pozice periferie/centrum

Foto by Šárka Karbanová



Open field přístroj

Foto by Šárka Karbanová



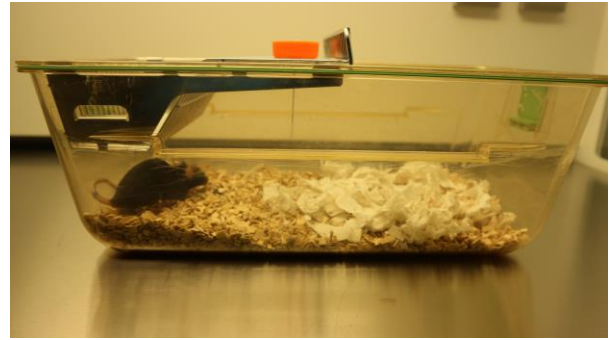
Detail jednoho pole Open field přístroje

Foto by Šárka Karbanová



Olfaktorický test

Foto by Šárka Karbanová



Olfaktorický test

Foto by Šárka Karbanová