

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Model regenerace β -buněk Langerhansových ostrůvků po jejich destrukci streptozotocinem.

Doba trvání projektu pokusů - v měsících 23

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾ Langerhansovy ostrůvky, regenerace, transplantace

Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností

☒ základní výzkum

☐ translační a aplikovaný výzkum

☐ kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)

☐ legislativní účely jiné zkoušení účinnosti a tolerance

☐ a běžná výroba zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie

☐ běžná výroba

☐ ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat

☐ zachování druhů

☐ vyšší vzdělávání

☐ odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí

☐ trestní řízení a jiné soudní řízení

☐ udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech

Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb

Přirozená regenerace Langerhansových ostrůvků (LO), je v současné době studovanou nezbytnou součástí možné léčby diabetes mellitus 1. typu, založené na zvládnutí autoimunitního procesu.

Cíl předkládaného projektu:

Posouzení průběhu a zjištění nezbytnosti prostředí pankreatu pro regenerace β -buněk Langerhansových ostrůvků. Zajímá nás, jestli se v regenerovaných ostrůvcích zachová struktura a zastoupení jednotlivých endokrinních buněk a jestli je možné očekávat regeneraci β -buněk i v jiném prostředí než je vlastní pankreas.

Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)

Objasnění možné spontánní regenerace β -buněk při inhibici autoimunitní inzulitidy.

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

- Aplikace léčiv intraperitoneálně rozpuštěných v citrátu sodném (Streptozotocin 0.5 – 1.0 ml, 60 mg/kg).
- Aplikace léčiv intravenózně – 20% glukóza pro IVGTT test – do 1 ml.
- Odběr maximálně 0.5 ml krve z ocasní žíly (po týdnu a každý měsíc od první aplikace léčiv).
- Izolace pankreatických ostrůvků se provádí v celkové anestézii intramuskulární. Střední laparotomií je otevřena břišní dutina, usmrcení zvířete vykrvením a další zpracování pankreatu in vitro.
- Transplantace ostrůvků pod pouzdro ledviny se provádí v celkové anestézii (isofluran – 5% indukce, 2% vedení inh. + butorphanol 1mg/kg i.m.). Po otevření břišní dutiny je pod pouzdro levé ledviny infundován roztok s izolovanými ostrůvky. Po 30–60 vteřinách se vyjímá kanyla, při správném provedení vstup nekrvácí. Bolest po operaci je tlumena podkožní injekcí analgetik (meloxicam – 1 mg/kg s.c.).
- Glykemie se měří 1x týdně glukometrem z kapky venózní krve získané punkcí postranní ocasní žíly.

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

Neočekáváme nežádoucí účinky. Zvířata použitá jako dárci pro izolaci Langerhansových ostrůvků nenabudou vědomí. Zvířata, kterým budou transplantovány ostrůvky, podstoupí pokusy střední závažnosti. Jediným nežádoucím účinkem plynoucím z navrhovaného projektu je vyvolaná hyperglykemie po navození diabetu. Míra závažnosti plynoucí z přetrvávající hyperglykemie je vzhledem k rychle navazující transplantaci a terapii diabetu nízká.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu					
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Potkan laboratorní (Rattus norvegicus)	224	126	56	42	
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					---
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					---
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					---
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte					
Všechna laboratorní zvířata v tomto projektu budou na konci projektu usmrcena.					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu					
Studium spontánní regenerace β -buněk Langerhansových ostrůvků se neobejde bez použití laboratorních zvířat. Prohlašuji, že tento pokus je nezbytné provést s využitím laboratorních zvířat.					
Omezení používání zvířat - vysvětlete, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).					
Celkové počty experimentální zvířat byly zvoleny na nejnižších počtech umožňujících statistické porovnání skupin. Langerhansovy ostrůvky není možné získat jiným způsobem než izolací z pankreatů čerstvě usmrcených dárců - v našem případě potkanů Brown Norway.					
Šetrné zacházení se zvířaty - uveďte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu					
Se zvířaty bude zacházet pouze vyškolený personál. Veškeré chirurgické zákroky budou prováděny v celkové anestezii. Předpokládaná bolest po zákroku bude mírněna podáním analgetik.					
Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií					
Pro předkládaný projekt plánujeme použít potkany kmene Brown Norway, samce ve věku 10 – 12 týdnů (250 g na začátku pokusu), protože je známa jejich vysoká citlivost k inzulinu a tedy poměrně nízká náročnost na množství transplantované inzulin produkující tkáně. Druhý důvodem pro volbu tohoto kmene je velká zkušenost pracovníků laboratoře právě s tímto kmenem laboratorního potkana.					

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nespecifikovaného savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech.