

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Tolerogenní dendritické buňky a bezlepková dieta jako kombinovaná terapie diabetu 1. typu

Doba trvání projektu pokusů v měsících

27

Klíčová slova

tolerogenní dendritické buňky

diabetes 1. typu

bezlepková dieta

kombinovaná terapie

0

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Endokrinní systém / metabolismus [PB10]

0

Translační a aplikovaný výzkum: Endokrinní/metabolické poruchy u lidí [PT31]

0

Cíle projektu pokusů

Cílem projektu je testovat tolerogenní dendritické buňky a různé protokoly jejich přípravy a aplikace na jejich potenciál zamezit rozvoji diabetu na NOD myším modelu tohoto onemocnění. Cílem je též studovat efekt tolerogenních dendritických buněk v kombinaci s bezlepkovou dietou, jako možné kombinované terapie, na rozvoj diabetu 1. typu u NOD myší. Poslední část projektu zahrnuje funkční testy na NOD-SCID myších, u kterých budou testovány adoptivním ko-transferem s diabetogenními splenocyty vybrané populace regulačních buněk.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Přínosem výzkumného projektu je vývoj nových terapeutických postupů pro prevenci či dokonce časnou léčbu diabetu 1. typu.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Zvířata budou zpravidla používána ke sledování efektu různých intervenčních strategií při rozvoji diabetu 1. typu. Myším budou injekčně aplikovány tolDC (i.p., s.c., i.v.) a bude jim 1x týdně měřena hladina glykémie (ze špičky ocasu). Část zvířat bude usmrcena za účelem izolace buněk z orgánů a odběru dalších vzorků.

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

Zvířata pocítí krátkodobou mírnou bolest způsobenou injekční aplikací a odběry krve (ze špičky ocasu) pro měření glykémie.

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

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
	Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
myš laboratorní (Mus musculus) [A1]	100	400	0	0

0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0

Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat		
	Opětovné použití	Navrácení do chovu, do přírodního stanoviště	Do zájmového chovu
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty

Eutanázie v anestézii (inhalační isofluran 1-3% nebo i.p. kombinace ketaminu hydrochloridu 90 mg/kg živé hmotnosti a xylazinu hydrochloridu 4,5 mg/kg živé hmotnosti, cervikální dislokace), odvoz asanační službou, se kterou mají pracoviště smlouvy. Opětovné použití zvířat není plánováno.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat

Experimenty, při kterých bude optimalizován protokol pro indukci tolDC, budou prováděny in vitro. Alternativními metodami není možné zkoumat vliv faktorů prostředí gluten-free diety a tolDC na rozvoj diabetu, ani změny imunitních reakcí, a proto nemohou nahradit navrhované pokusy.

Omezení používání zvířat

Zvířata budou používána v minimálních počtech, které umožní statistické vyhodnocení rozdílů mezi skupinami. Pokud to bude možné, tak budou sdíleny vzorky získané v experimentech. Analýzou většího počtu parametrů najednou (použití moderních, citlivých metod) docílíme další redukce potřebného počtu zvířat.

Šetrné zacházení se zvířaty

Veškerá manipulace se zvířaty bude co nejohleduplnější a co nejméně narušující přirozené potřeby zvířat.

Použité druhy zvířat - vysvětlení

V projektu budeme používat myši kmen NOD (Non-obese diabetic), které reprezentují vhodný a nejrozšířenější spontánní model pro studium diabetu 1. typu a odpovídající kontrolní kmen myši BALB/c. Kmen NOD-SCID myši je vhodným kmenem pro pokusy adoptivního ko-transferu diabetu pro testování funkční kapacity efektorových či regulačních buněk izolovaných od NOD myši. Počet myši je na úrovni minimálního počtu, který zaručuje statisticky vyhodnotitelné výsledky mezi skupinami. Stáří myši na experimentálních dietách se pohybuje od 3 do 45 týdnů. Maximální stáří experimentálních zvířat při sledování incidence diabetu bude 45 týdnů. Stáří zvířat pro imunologické odběry je 4-12 týdnů.