NETECHNICKÉ SHRNUTÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Studium hojení ran u diabetiků typu II.
Studium molekulárně-biologických dějů a nutričních vlivů významných pro hojení ran
Aplikace potenciálně léčivých látek na kožní rány a sledování jejich vlivu na hojení

Doba trvání projektu pokusů	1.4.2016 do 31.12.2019
Klíčova slova - *maximálně 5*	diabetes mellitus II type, hojení ran

Účel projektu pokusů - *označte jej křížkem (x) do prázdného políčka*

x	základní výzkum
	translační nebo aplikovaný výzkum
	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
	zachování druhů
	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
	trestní řízení a jiné soudní řízení

Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

Cílem studie je jednak molekulární analýza tkáně rány (imonohistochemická, histologická, chemická, analýza RNA a proteinů) s cílem objevit důvody zhoršeného hojení u diabetiků, jednak charakteristika celkového stavu organismu nejenom prostřednictvím sledování a měření vybraných markerů v plazmě (např. insulin, TNF-α, TGF-β, IL-6 and IL-1), ale i vnitřních orgánů, které jsou obezitou a nemocí diabetes mellitus ovlivněny. Dalším cílem je lokální aplikace látek s potenciálně pozitivním účinkem na hojení ran, např. kurkumin nebo nutriční ovlivnění celkového stavu s cílem urychlit hojení ran. Předpokládaným přínosem budou informace o molekulárním stavu diabetické rány, které nám případně pomohou zlepšit dosavadní způsoby léčení chronických ran. Plánujeme pokračovat v chovu geneticky podmíněných obézních diabetických potkanů typu II výhradně pro účely tohoto výzkumu. Pro chovné účely bude vyhrazeno ročně 30 zvířat s dožitím maximálně 12 měsíců. Vždy budou vyhrazeni jedinci na vyšetření pro potvrzení dobrého zdravotního stavu. Pro účely experimentu budou namnožena diabetická obézní (fa/fa) zvířata i kontrolní štíhlá (fa/+) zvířata. Kříženi budou způsobem fa/+ samice a fa/+ samec, popřípadě fa/+ samice a fa/fa samec. Genotyp potomků bude určen pomocí specifické metody PCR z DNA získaného z tkáně při odstřižení prstu zadní končetiny, z krve anebo z mikrobiopsie. Do experimentů budou zařazeni samice i samci. Přebytečná zvířata nevhodná pro experimenty budou použita na zavedení metodik a následně likvidována podle platných pravidel Celkem během 3 letého trvání projektu bude použito max. 300 potkanů v experimentech a 90 na chov, tj. celkem 390 potkanů.

Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)

Předpokládaným přínosem budou informace o molekulárním stavu diabetické rány, které nám případně pomohou zlepšit dosavadní způsoby léčení chronických ran a potvrzení nebo vyloučení vhodnosti námi sledovaných látek.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

potkan ZDF 390 jedinců

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Práce se zvířaty bude probíhat tak, aby byla co nejméně stresována, a všechny bolestivé zákroky (vytvoření rány) budou prováděny v narkóze a s použitím anestetika. Navrhovaná míra závažnosti je středně závažná, neboť se jedná o genetický model diabetes mellitus II. typu, který vede k výraznému zhoršení zdravotního stavu. Po skončení pokusu bude zvíře usmrceno a následně bude odebrána a analyzována většina orgánů. Po usmrcení laboratorních zvířat budou zbytky těl odvezeny speciálním autem do FN v HK k likvidaci spálením.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Nehojící se rány představují závažný problém humánní i veterinární medicíny. Hojení ran nelze studovat jen na izolovaných buňkách nebo izolovaném orgánu, neboť sledujeme patofyziologickou odpověď celého organismu. V každé pokusné skupině bude použit pouze nezbytný počet zvířat nutných ke správnému statistickému vyhodnocení. Pro účely porovnání hojení u diabetických a nediabetických zvířat bude vytvořena skupina max. n=6 diabetických zvířat (fa/fa) a skupina max. n=6 kontrolních zvířat (fa/+) pro každou fázi hojení a pohlaví. Všem bude vytvořena rána a odebraná tkáň za stejných podmínek.

Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

V každé pokusné skupině bude použit nezbytný počet zvířat nutných ke správnému statistickému vyhodnocení.

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.

Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.

Po operačním zákroku bude podáno analgetikum v případě, že potkani budou jevit známky bolesti.