

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Duodenální slizniční resurfacing jako faktor glukózové homeostázy, projekt GAUK č.1042317	
Doba trvání projektu pokusů	1.1.2019-31.12.2020
Klíčová slova - <i>maximálně 5</i>	Diabetes mellitus 2. typu, duodenální resurfacing, inkretiny, ZDF potkan
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
	☐ 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)	
Diabetes mellitus 2. typu je onemocněním zatížené vysokou morbiditou i předčasnou mortalitou, které epidemicky postihuje rozvinuté i rozvojové země. Cílem projektu je ověřit, zdali modifikace duodenální sliznice endoskopickou technikou slizničního resurfacingu (radiofrekvenční ablace a následná reepitelizace sliznice) vede k ovlivnění glukózového metabolismu v potkaním modelu. Na základě literatury a znalosti fyziologie očekáváme, že po tomto mini-invazivním výkonu dojde ke zlepšení metabolismu sacharidů a zabránění rozvoji cukrovky u potkanů, čímž se otevrou dveře k aplikaci identické metody v humánních experimentech a následnému ověření účinnosti tohoto postupu v léčbě diabetes mellitus 2. typu. Uvedený experiment bude probíhat v přímé návaznosti na projekt „Duodenální slizniční resurfacing jako faktor modulační glukózové homeostázy (projekt pokusů č.55/2016).“	
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)	
Výsledky této práce přinesou základní poznatky o vzniku diabetes mellitus 2. typu a zejména o podílu duodenální sliznice na regulaci hodnot plazmatické glykémie. Zároveň výsledky studie poskytnou pilotní data pro využitelnost duodenálního resurfacingu (radiofrekvenční ablace) v terapii cukrovky 2. typu u lidských subjektů. Cílem projektu je ověřit, zdali modifikace duodenální sliznice endoskopickou technikou slizničního resurfacingu (radiofrekvenční destrukce a následná reepitelizace sliznice) vede k ovlivnění glukózového metabolismu v potkaním modelu cukrovky. Naše hypotéza zní, že destrukce duodenální sliznice a její obnovení pozmění endokrinní odpověď této části tenkého střeva (zejména sekreci GLP-1 a GIP) na stimulaci a následně sekreci inzulínu v pankreatu. Předchozí studie na zvířecích modelech i na lidských dobrovolnících prokázaly, že vyloučení kontaktu tráveniny se sliznicí duodena např. pomocí zavedení plastového rukávu vede ke zlepšené kompenzaci cukrovky. Nicméně tato metoda má řadu komplikací a nevýhod, musí být pravidelně obnovována a zatěžuje pacienta opakovanými endoskopickými výkony. Proto jsou hledány cesty, jak ovlivnit strukturu duodenální sliznice trvale, například pomocí radiofrekvenční ablace sliznice, jak bude provedeno v navrhovaném projektu.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
S ohledem na možné selhání intervence či pooperační komplikace, bude celkový počet zvířat použitých v rámci této studie 30 potkanů kmene ZDF (model se spontánním rozvojem cukrovky 2. typu) a 12 potkanů kmene Wistar	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Trvalé nežádoucí účinky výkonu radiofrekvenční ablace (RFA) nepředpokládáme, jedná se o výkon prováděný v různých indikacích v humánní medicíně. Nelze zcela vyloučit vzácné akutní komplikace v průběhu radiofrekvenční ablace, zejména pak perforaci stěny trávicí trubice. Investigátoři v průběhu i po dokončení RFA cíleně zhodnotí stav a integritu trávicí trubice a v případě známek perforace budou zvířata utrácena předávkováním anestetika. Jelikož bude v průběhu zákroku provedeno otevření břišní dutiny, teoreticky lze zvažovat i obecné chirurgické komplikace (infekce, krvácení, poruchy hojení). Těmto se však lze obvykle vyvarovat dodržováním zásad asepse a antisepse a správnou operační technikou. Projekt tak spadá do kategorie střední závažnosti s odpovídající úrovní prevence a léčby bolesti a pooperačního sledování. Po ukončení pokusu budou zvířata uvedena do celkové inhalační anestezie, provedeny odběry krve, tkání a tenkého střeva k mikroskopickému zhodnocení a následně utrácena předávkováním anestetikem	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Pro uvedený typ pokusu neexistuje alternativní metoda vzhledem k endokrinním mechanismům způsobujícím diabetický fenotyp a k sekreci klíčových endokrinních substance duodenální sliznicí in-vivo. Rovněž intervenci na duodenu v podobě radiofrekvenční ablaci nelze modelovat jinými přístupy a z podstaty experimentu musí být provedena na živém	

organismu. Laboratorní potkan, zejména kmen ZDF je nejvhodnějším druhem pro tuto studii, jelikož se u něj spontánně rozvíjí diabetes mellitus 2. typu včetně inzulínové rezistence a poruch sekrece inzulínu v pankreatických beta buňkách.

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

Počet zvířat užitých v každé skupině byl stanoven na základě literárních údajů jako minimální počet nutný k detekci cca 25% rozdílu mezi skupinami. K redukci počtu zvířat dále dochází vysokou technickou zdatností investigátorů a stanovením maximálního počtu proměnných s využitím jednoho zvířete, včetně využití histologických a molekulárních metodik.

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.

Invasivní procedury jsou vykonávány v celkové anestezii s následnou pooperační analgezií. V rámci experimentu nebudou omezeny sociální interakce ani kvalita života pokusných zvířat. Se zvířaty budou manipulovat výhradně osoby s platným školením v rámci zákona na ochranu pokusných zvířat.