

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 36/2020

Název projektu pokusů

Otestování účinnosti a bezpečnosti použití nově vyvinutého generátoru využívajícího vysokofrekvenční střídavé napětí pro ireverzibilní elektroporaci v srdečních síních a komorách u prasat.

Doba trvání projektu pokusů

Oč nabytí právní moci do 31.12.2023

Klíčová slova - maximálně 5

Generátor střídavého napětí, ireverzibilní elektroporace, animální experiment, bezpečnost.

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

	základní výzkum
x	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)

Vysoce účinnou metodou v léčbě srdečních arytmí je nyní v nemocnicích běžně používaná tzv. katérová ablace, která je prováděna pomocí radiofrekvenční energie (RF) – vysokofrekvenčního střídavého elektrického proudu přiváděného na hrot katetru. Při této metodě dochází k cílenému termálnímu poškození arytmogenního substrátu (části myokardu zodpovědného za vznik či udržení arytmií) a tím k vyléčení arytmií. RF ablace je vysoce účinná metoda, nicméně riziko komplikací a riziko termálního poškození nesrdečních struktur je značné. Metoda ireverzibilní elektroporace (IRE) je netermální metoda ablace, která využívá velmi krátkých pulzů elektrického proudu, který v buněčné stěně iniciuje tvorbu malých pórů. Takto narušená buňka postupně zaniká apoptózou. Až doposud se používaly standardní generátory poskytující krátké pulzy stejnosměrné napětí a jejich využití je pro srdeční elektrofyziologii obtížné a zatížené řadou rizik – riziko maligních arytmí, kontrakce příčně pruhovalného svalstva či vznik mikrobublinek. Nyní byl vyvinut ve spolupráci několika institucí nový generátor využívající krátkých pulzů vysokofrekvenčního střídavého napětí, který výše uvedené nevýhody eliminuje. Cílem experimentu je otestovat tento nový generátor a prokázat jeho bezpečnost a účinnost. Elektroporace je komplexní děj a je třeba řádně otestovat jeho vliv na živý organismus a sledovat následné „in vivo“ změny v ošetřené tkáni.

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)

Ireverzibilní elektroporace (IRE) je netermální metoda ablace, která využívá velmi krátkých pulzů elektrického proudu, který v buněčné stěně iniciuje tvorbu malých pórů, proto název *elektroporace*. Takto narušená buňka postupně zaniká apoptózou. Velkou výhodou metody je likvidace elektricky aktivních srdečních buněk, myocytů, bez poškození struktury myokardu a okolních tkání. Také riziko perforace srdeční stěny je výrazně menší. Použití standardních generátorů poskytujících krátké pulzy stejnosměrné napětí je pro srdeční elektrofyziologii obtížné a zatížené řadou rizik – riziko maligních arytmí, kontrakce příčně pruhovalného svalstva či vznik mikrobublinek. Cílem experimentu je otestovat a prokázat účinnost a bezpečnost nově vyvinutého generátoru, který využívá krátkých pulzů vysokofrekvenčního střídavého napětí a který výše uvedené nevýhody eliminuje. Jelikož je elektroporace komplexní děj je třeba řádně otestovat jeho vliv na živý organismus a sledovat následné „in vivo“ změny v ošetřené tkáni. Pokud bude prokázáno, že použití generátoru je účinné a bezpečné, je možno jej v budoucnu používat i pro terapii arytmí u lidí.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Celkem bude použito 12 prasat.

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

Nejsou očekávány žádné nežádoucí účinky. Navrhovaná míra závažnosti je střední. Pokus pravděpodobně zvířatům způsobí krátkodobou středně intenzivní bolest. Bude zajištěna pooperační léčba bolesti (Metacam 0,4mg/kg i.m). Prasatům budou aplikována antibiotika Alamycin La 300 a.u.v. Veškeré výkony budou

provádět osoby odborně způsobilé. Zvířata budou v během vlastního výkonu pod veterinárním dohledem v celkové anestezii s vyloučením všech forem utrpení. S opětovným použitím zvířat není počítáno. Po skončení pokusu budou zvířata v celkové anestezii utracena aplikací preparátu T61. Utracená zvířata budou odvezena asanačním ústavem. Zacházení se zvířaty bude probíhat v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů, a s vyhláškou č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Není možné žádnou jinou metodou (dle databází ICCVAM, EURL ECVAM Search Guide, TSAR), kromě klinické experimentální studie, ověřit účinnost a bezpečnost generátoru využívajícího technologii ireversibilní elektroporace. Jelikož je elektroporace komplexní děj je třeba řádně otestovat jeho vliv na živý organismus a sledovat následné „in vivo“ změny v ošetřené tkáni. Dále je důležité porovnat výsledky v určitém časovém odstupu od aplikace IRE a zhodnotit vliv na hojení lézí. Vzhledem ke komplexnosti problematiky a složitosti kardiovaskulárního aparátu neexistují alternativní metody, které by toto umožňovaly.

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

Počty zvířat jsou minimalizovány s ohledem na náročnost pokusu. Celkem bude použito maximálně 12 prasnic. Vzhledem k charakteru pokusu budou použita prasata o hmotnosti 70 kg. Toto je nejmenší možný počet zvířat, abychom získali dostatek statisticky významných dat k následnému zpracování a k posouzení účinnosti metody.

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.

Za modelové zvíře bylo zvoleno prase (*Sus scrofa*). Je fyziologicky a částečně také anatomicko-topograficky odpovídající člověku, s obdobným uložením orgánů dutiny hrudní. Je nejčastěji užívaným zvířetem při elektrofyziologických experimentech. Z tohoto pohledu lze považovat zvolený druh pokusného zvířete za vhodný. Počty zvířat jsou minimalizovány s ohledem na náročnost pokusu a následné statistické zpracování získaných dat. Veškeré chirurgické zákroky budou provádět osoby odborně způsobilé. Zvířata budou v během vlastního chirurgického zákroku v celkové anestezii pod odborným veterinárním dohledem s vyloučením všech forem utrpení. Bude zajištěna pooperační léčba bolesti (Metacam 0,4mg/kg i.m.), zvířatům budou podána širokospektrá antibiotika (Alamycin LA 300 inj., 30mg/kg, hluboká i.m. aplikace). Prasata budou krmena 2x denně vhodně složenou krmnou dávkou odpovídající složením danému zvířecímu druhu a věkové kategorii v adekvátním množství a budou mít neomezený přístup k vodě v automatických napáječkách. Na konci experimentu budou zvířata v celkové anestezii utracena aplikací preparátu T61. Zacházení se zvířaty bude probíhat v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů, a s vyhláškou č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat.