

Vyplňujte jen bílé kolonky!

Formulář vyplňujte na počítači; kolonky se zvětší automaticky podle množství textu.

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

In vivo testování vstřebatelných materiálů pro kardiovaskulární chirurgii na modelu potkana, králíka a prasete.

Doba trvání projektu pokusů Ukončení k 31. 12. 2024

Klíčová slova - maximálně 5 bandáž, céva, resorbovatelný, nanovlákná, kolagen

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)

Řada současných zákroků cévní chirurgie jako je léčba vrozených srdečních vad, bandážování aneurysmat, arterializovaných žilních štěpů či prevence tzv. „endoleaků“ je založena na mechanické interakci tepenné stěny a vnější výztuže (bandáže). Cílem studie bude preklinicky otestovat nově vyvinutý kompozitní materiál tvořený nanovlákný kopolymerů poly-L-laktátu (PLA) a polykaprolaktonu (PCL) kombinovaného s kolagenní maticí nebo nanovlákný, síťovanými netoxickými chemickými činidly a měkčenými glycerinem, ve formě resorbovatelné arteriální bandáže umožňující redukci průtoku krve arteriálním řečištěm a ochranu arteriální stěny před patologickou deformací a rupturou. Pro testy na zvířatech budou použity kompozitní materiály se stanovenými strukturálními, degradačními a mechanickými vlastnostmi v *in vitro* simulovaném prostředí živého organismu a vlivem sterilizace. Materiály dále budou předem otestovány na cytotoxicitu v *in vitro* modelech buněčných kultur. Na základě těchto *in vitro* testů budou vybrány 2 nejlepší kompozitní materiály z hlediska degradačních a mechanických parametrů, a tyto materiály budou otestovány v podmínkách živého organismu, a to konkrétně na 3 zvířecích modelech – potkanovi, králíkovi, a praseti. Testy na těchto 3 zvířecích modelech budou na sebe postupně navazovat a celý experiment lze rozdělit do následujících fází:

FÁZE 1 (2020-2021): Na modelu potkana bude otestována míra degradace, mechanické vlastnosti a základní biokompatibilita (bezpečnost) těchto 2 materiálů. Materiály budou vkládány do peritonea potkana (vždy 1 materiál/zvíře).

FÁZE 2 (2020-2022): Na modelu králíka bude otestována interakce těchto 2 materiálů s cévní stěnou. Bude sledována degradace materiálů, imunitní reakce a míra fibrotizace cévní stěny, a efekt bandáže na mechanické vlastnosti cévy. Materiály budou implantovány na břišní aortu (vždy 1 materiál/zvíře).

FÁZE 3 (2021-2022): Na modelu prasete bude otestována funkce 1 materiálu vybraného na základě fáze 2 jako bandáže cévní stěny schopné regulovat krevní průtok cévou. Materiál bude implantován na břišní aortu a plicnici (vždy 1 materiál/zvíře).

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)

Výstupem a přínosem studie budou základní data o chování nového degradovatelného materiálu, který může být použit jako bandáž cév při paliativní léčbě vrozených srdečních vad, při bandážování aneurysmat, arterializovaných žilních štěpů či prevence tzv. „endoleaků“. Tento typ degradovatelného materiálu obcházející potřebu re-operací u těchto indikačních skupin stále chybí.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Laboratorní potkan v množství 22 ks. Králík NZW v počtu 100 ks. Prase přeštické v počtu 76 ks.

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

Operačními výkony jsou a) implantace materiálu do peritonea potkana; b) implantace materiálu na abdominální aortu králíka; c) implantace materiálu na abdominální aortu a plicnici prasete. U modelu potkana a králíka neočekáváme žádné závažné nežádoucí účinky bandáže, kromě pooperační bolesti. Ta bude po dobu min. 3-5 dnů tlumena analgetiky. U modelu prasete očekáváme změny v průtoku krve v místě vložení bandáže. Změny budou monitorovány. Dále očekáváme pooperační bolest, která opět bude po dobu 3-5 dnů tlumena analgetiky. Klasifikace závažnosti je střední. Po ukončení experimentu budou zvířata usmrcena podáním letální dávky pentobarbitalu a KCl intrakardiálně ((prase a králík) či předávkováním CO₂ (potkan) v celkové anestézii. Po usmrcení budou kadavery zlikvidovány dle schválených postupů.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Plánované experimenty nelze nahradit alternativami bez použití zvířat, protože bandážování cév není možné modelovat jinak než v *in vivo* podmínkách. Dle aktuální literatury (databáze Scopus, WoS, Medline) i databáze ECVAM neexistuje dostatečně realistická virtuální simulace, která by umožňovala alespoň některé aspekty projektu řešit bez použití experimentálních zvířat.

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

Konkrétní zdůvodnění 100 ks králíků je: 30 ks bude implantováno typem bandáže 1 / 30 ks bude implantováno typem bandáže 2 a 30 ks bude bez implantace jako kontrola. V každé skupině 30 králíků bude rozděleno na 10 – histologická

analýza a 20 – biomechanická analýza. Obě analýzy jsou destruktivní, proto musí být pro každou z nich samostatná skupina zvířat. 10 ks zvířat dále bude sloužit jako případná rezerva, která nemusí být využita. Konkrétní zdůvodnění 76 ks prasat: zvířata budou rozdělena do 4 skupin po 16 zvířatech, 2 skupiny budou implantovány na abdominální aortu a 2 skupiny na plícnici. Z těchto 2 skupin vždy 1 skupina 16ti zvířat půjde pak na histologickou analýzu a další skupina 16ti zvířat na biomechanické zkoušky. 12 ks zvířat bude sloužit jako rezerva, která nemusí být využita. Plánovaný počet zvířat je dle našich zkušeností a statistické analýzy minimálním počtem, který umožní při daném experimentálním designu a vzhledem k variabilitě studovaných parametrů získat statisticky validní výsledky. Uvedený počet zahrnuje i rezervu, která nebude případně využita.

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlíte volbu druhu zvířat, a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů. Vysvětlíte obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.

V projektu jde postupný vývoj a testování. Proto je nejprve materiál testován na potkanovi (biokompatibilita, toxicita pro organismus), pak na králíkovi (degradace materiálu a její vliv na mechanické vlastnosti), a funkce je nakonec ověřena na modelu prasete (funkce bandáže regulovat průtok krve cévou). O zvířata bude řádně pečováno v souladu s aktuálními předpisy o ochraně zvířat. Veškeré bolestivé zákroky budou probíhat v celkové anestézii a pooperační bolest bude adekvátně tlumena analgetiky.