

| NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Název projektu pokusů                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                   |
| Efekty protibakteriálního zušlechťení kardiostimulační elektrody při jejím dlouhodobém použití u králíků                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                   |
| Doba trvání projektu pokusů - v měsících                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 51 měsíců (10/2020 - 12/2024)                                                     |
| Klíčová slova - maximálně pět <sup>1)</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Oxid dusnatý, úprava implantabilních elektrických pomůcek, interakce s organismem |
| Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> základní výzkum                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                   |
| <input checked="" type="checkbox"/> translační a aplikovaný výzkum                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> legislativní účely                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> jiné zkoušení účinnosti a tolerance                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> a běžná výroba                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> běžná výroba                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> zachování druhů                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> vyšší vzdělávání                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> trestní řízení a jiné soudní řízení                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                   |
| Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                   |
| Jedná se o součást výzkumu a vývoje metody zušlechťení materiálů srdečních implantabilních pomůcek (CIED) v prevenci bakteriální infekce a vzniku biofilmu pomocí donoru oxidu dusnatého (NO). Hlavním cílem zde navrhovaného projektu je ověřit dlouhodobou stabilitu a biokompatibilitu zušlechťených materiálů tak, aby funkčnost elektrody zůstala nenarušená i v dlouhodobém horizontu po implantaci kardiostimulačního systému. Jde o fázi bazálního výzkumu, proto jsou výsledky opřeny o chemická a mikrobiologická měření <i>in vitro</i> a pozorování na zvířecích modelech. CIED jsou komplexní pomůcky složené z kovových částí i polymerů. Dosud nebylo popsáno, jaký vliv má chemická úprava (zušlechťení) na funkčnost a trvanlivost těchto pomůcek. |                                                                                   |
| Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                   |
| Očekávané poznatky z navrhovaného projektu by měly přispět k vývoji protibakteriální úpravy CIED a umožnit tak její užití v klinické praxi. V lékařství by měla účinná metoda, která by dokázala redukovat riziko vzniku infekční endokarditidy, velký potenciál zlepšit zdraví rizikové populace pacientů.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                   |
| Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                   |
| Operační zákrok bude proveden v chirurgickém stádiu anestezie. V průběhu výkonu budou monitorovány vitální funkce (teplota, respirační frekvence, EKG) a hloubka anestezie.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                   |
| Operační zákrok spočívá ve sterilní přípravě operačního pole a následné transvenózní implantaci kardiostimulačního systému. Výkon bude monitorován fluoroskopicky. Intenzivní pooperační péče bude trvat do plného zhojení rány (10 až 14 dnů).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                   |
| V definovaných intervalech bude zvíře podrobeno krevnímu odběru a tzv. interrogaci kardiostimulačního systému k ověření jeho správné funkčnosti.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                   |
| Všechny experimenty budou zakončeny euthanázií předávkováním anestetika osobou odborně způsobilou.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                   |
| Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                   |
| Chirurgický výkon bude prováděn v celkové anestezii a hlavním nežádoucím účinkem bude bolestivost operační rány po intravaskulární a podkožní implantaci materiálu. Míra závažnosti je mírná až střední. V případě, že se zvíře ocitne v závažném a jinak neléčitelném zdravotním stavu (přetrvávající anorexie či apatie trvající déle než 24 hodin, ztráta hmotnosti o 20 %), bude předčasně utraceno, aby se zabránilo jeho utrpení.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                   |
| Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                   |
| Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                   |

| Druh zvířat <sup>1)</sup><br>- vyberte ze seznamu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Odhadovaný počet | Nenabude vědomí | Mírná | Střední | Závažná |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|-----------------|-------|---------|---------|
| Králík domácí (Oryctolagus cuniculus)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 40               |                 |       | 40      |         |
| Zvolte položku.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                  |                 |       |         |         |
| Zvolte položku.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                  |                 |       |         |         |
| Zvolte položku.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                  |                 |       |         |         |
| Zvolte položku.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                  |                 |       |         |         |
| <b>Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                  |                 |       |         |         |
| Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                  |                 |       |         | 0       |
| Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                  |                 |       |         | 0       |
| Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                  |                 |       |         | 0       |
| <b>Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                  |                 |       |         |         |
| Jedná se o experiment, který spočívá ve studiu patofyziologických reakcí na implantovaný materiál a dlouhodobou funkčnost upravené kardiostimulační soustavy. Po ukončení sledování nebudou pokusná zvířata znovu použita.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                  |                 |       |         |         |
| <b>Uplatňování 3R</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                  |                 |       |         |         |
| <b>Nahrazení používání zvířat - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                  |                 |       |         |         |
| Studiu na živých biomodelech předcházela testování materiálu <i>in vitro</i> a v bioreaktoru. Ta prokázala, že u implantátů s NO byly alespoň krátkodobě zachovány jejich elektrické vlastnosti. Toto je však třeba potvrdit experimenty na živých organismech. Přes obrovský pokrok základního výzkumu je stávající porozumění komplexnímu chování imunitního systému omezené a nedokážeme jej věrně nasimulovat. Není možné sestavit jiný model, který by dostatečně věrně napodoboval velmi složité interakce zušlechťovaných materiálů a řady typů imunokompetentních buněk, vnitřního a zevního prostředí a dalších orgánových systémů. Pro testování imunitní odpovědi organismu na aplikovaný materiál a rozvoj případných nežádoucích účinků neexistuje k biomodelům alternativa.                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                  |                 |       |         |         |
| <b>Omezení používání zvířat - vysvětlíte, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                  |                 |       |         |         |
| Velikost pokusných skupin odpovídá počtům obvyklým v obdobných studiích. Podrobná materiálová a teoretická příprava s předchozím <i>in vitro</i> testováním v technické a mikrobiologické laboratoři zamezují nadbytečnému použití pokusných zvířat v jednotlivých skupinách. K redukci počtu pokusných zvířat pomůže i zahrnutí dat z pilotních experimentů do výsledků. Zvířata budou použita v minimálních počtech tak, aby bylo současně možné vyvozovat pomocí statistických metod relevantní závěry práce.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                  |                 |       |         |         |
| <b>Šetrné zacházení se zvířaty - uveďte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                  |                 |       |         |         |
| Druh pokusných zvířat je zvolen s ohledem na velikost implantovaných pomůcek tak, aby umožňoval nejen implantovat stimulační elektrodu a kardiostimulátor, ale současně i dlouhodobé komfortní přežívání zvířat. Králík domácí je zároveň druhem, který po nutném přivyknutí si na pravidelnou manipulaci umožňuje kontroly zdravotního stavu i stavu sledovaného materiálu bez nutnosti anestezie. Refinement bude zajištěn především díky anesteziologickým, peri- a pooperačním přístupům analogickým ve veterinární a humánní medicíně. Péče je věnována zvláště pooperačnímu managementu pro zmírnění pooperační bolestivosti a také rychlé rekonvalescenci pokusných zvířat (udržování tělesné teploty, kvalitní krmivo, při anorexii dokrmování kompletní tekutou stravou). Zdravotní stav bude denně kontrolován a zaznamenáván. Veškeré výkony i sledování zdravotního stavu budou prováděny zkušeným personálem a pravidelně konzultovány s veterinárním lékařem. V případě neřešitelného neuspokojivého zdravotního stavu zvířete bude pokus předčasně ukončen euthanázií. |                  |                 |       |         |         |
| <b>Použité druhy zvířat - vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                  |                 |       |         |         |
| Dospělý králík domácí, samice; v maximálním počtu 40 zvířat (včetně rezervy 25 %). Výběr byl založen na vhodné anatomii a velikosti kardiovaskulárního systému a dobré toleranci plánovaných zákroků.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                  |                 |       |         |         |

<sup>1)</sup> Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

<sup>2)</sup> Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nespecifikovaného savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech