

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569				
Název projektu pokusů				
OPPIK / Klastry výzva IV /Nanoprogress V - Funkcionalizované nanostruktury pro biomedicínské aplikace				
Doba trvání projektu pokusů - v měsících		6		
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾		PLA, nanovlákná, kys. hyaluronová, BMP-2, tkáňové inženýrství		
Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností				
☐	základní výzkum			
☒	translační a aplikovaný výzkum			
☐	kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)			
☐	legislativní účely	jiné zkoušení účinnosti a tolerance		
☐	a běžná výroba	zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie		
☐	běžná výroba			
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat			
☐	zachování druhů			
☐	vyšší vzdělávání			
☐	odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí			
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení			
☐	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				
Použití biokompatibilních a biodegradabilních nosičových systémů podporující buněčný vrůst a tvoření nové tkáně, je nadějným směrem v regenerativní medicíně a tkáňovém inženýrství. Cílem studie je ověření terapeutického účinku nově vyvíjeného kompozitního materiálu na bázi kys. hyaluronové a PLA nanovláken se zabudovaným BMP-2 při léčbě kostních defektů. Projekt navazuje na výsledky získané v rámci projektu GAČR 15-15697S v kterém byl vyvíjen třidimenzionální nanovláknenný nosič s inkorporovaným systémem řízeného dodávání léčiv pro tkáňové inženýrství kosti a chrupavky a také na rozsáhlé testování v in vitro podmínkách simulující co nejvíce přirozené prostředí dané tkáně, v rámci kterého byl u vyvíjených nosičů ověřen jejich pozitivní osteogenní vliv na buňky kultivované po zabudování do těchto materiálů. Během experimentu bude použito celkem 20 zvířat, z toho 12 ks bude léčeno vyvíjeným materiálem a 5 ks bude použito jako negativní kontrola s neléčeným defektem. 3 zvířata budou jako rezerva v případě špatného zdravotního stavu nebo nutnosti utracení některého zvířete.				
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)				
Vývoj nového materiálu pro léčbu kostních defektů s řízeným uvolňováním osteogenních látek.				
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání				
Jako model pro testování terapeutického účinku daného materiálu při léčbě kostních defektů bude vytvořen nadkriticky velký defekt (průměr 6 mm, hloubka 10 mm) v laterální straně kondylu femuru kolenního kloubu zvířete. Při chirurgickém zákroku budou opatrně odpreparovány měkké tkáně, bude zpřístupněna laterální strana kondylu. Po vytvoření a ošetření defektu bude přístup zašit dle anatomických vrstev.				
Zvířatům budou podávána analgetika a antibiotická clona po dobu 5 dnů po operačním zákroku. Po uplynutí doby regenerace (8 - 12 týdnů) budou zvířata usmrcena přípravkem T61 (po předchozí sedaci). Místo implantace bude hodnoceno makroskopicky a následně bude defekt odebrán a fixován pro další histologické vyšetření.				
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků				
Předpokládáme bolest operované končetiny která bude tlumena odpovídajícími analgetiky.				
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu				
Druh zvířat ²⁾		Odhado-	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti	
- vyberte ze seznamu		vany	Nenabude	Mírná Střední Závažná

Králík domácí (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	počet 20	vědomí 0		20
Zvolte položku.				
Zvolte položku.				
Zvolte položku.				
Zvolte položku.				
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena				
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
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - <i>uved'te</i>				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat - <i>uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>				
Podle dostupné literatury, prozatím neexistuje žádný in vitro model k dané problematice, který by zahrnoval celou škálu procesů, které se rozvinou u živého organismu. Pro úspěšné provedení pokusu je důležité sledovat celou řadu sekundárních procesů, které se rozvinou v živé tkáni trvající řádově několik měsíců. Existence alternativních metod byla ověřena v následujících literárních zdrojích: https://d360prx.biomed.cas.cz:2469/pubmed ; https://www.google.cz ; https://webofknowledge.com				
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlete, 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).</i>				
Během experimentu bude použito celkem 20 zvířat, z toho 12 ks bude léčeno vyvíjeným materiálem a 5 ks bude použito jako negativní kontrola s neléčeným defektem. 3 zvířata budou jako rezerva v případě špatného zdravotního stavu nebo nutnosti utracení některého zvířete. Počet zvířat je minimální z hlediska reprodukovatelnosti a statistického zpracování dat				
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uved'te 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</i>				
Zvířata budou kromě úkonů nezbytných k pokusu ponechána v klidu, bude o ně pečováno dle platných zoohygienických předpisů a jejich biologických potřeb. Během vystavení zákrokům budou zvířata uvedena do celkové anestezie, přičemž po dobu anestezie bude zajištěn jejich tepelný komfort a vlhčení očí. Po operačním zákroku budou zvířata pod kontinuální kontrolou až do úplného zotavení. Následně budou navracena do klecí. Prvních pět dní po zákroku budou zvířata sledována minimálně dvakrát denně. První tři dny po zákroku budou zvířatům podávána analgetika a antibiotika. U zvířat se bude sledovat celkový zdravotní stav, chování, příjem potravy a vody. Pooperační péči bude zajišťovat člen experimentálního týmu s platným osvědčením podle § 15d odst. 3 nebo § 15e odst. 1 zákona č. 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů. V dalším experimentálním období budou zvířata sledována min 1x denně. Zvířata nebudou použita pro pokus při známkách snížené zdravotní kondice. Se zvířaty budou manipulovat pouze certifikované osoby a usmrcení zvířat bude provedeno maximálně šetrně, a to předávkováním anestetik.				
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>				
Králík je vhodný animální model z řad hlodavců pro možnost vytvoření nadkritického defektu ve velikosti několika mm, což je nutné z hlediska manipulovatelnosti s materiálem a nejmenší možné velikosti testovaných matric, která je limitována možnostmi jejich přípravy.				

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

²⁾ 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