

## NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ

### Název projektu pokusů

**Ověření účinnosti kostní náhrady s inkorporovaným systémem řízeného dodávání léčiv na modelu potkana s experimentálně indukovanou osteoporózou**

Doba trvání projektu pokusů Projekt je plánován na 4 roky . Zahájení se předpokládá v okamžiku nabytí právní moci rozhodnutí o schválení projektu pokusů.. Ukončení celého projektu se předpokládá k 31.12.2022 v případě opětovného udělení oprávnění k používání pokusných zvířat.

Klíčová slova - *maximálně 5* Osteoporóza, biomateriály, kosti, řízené uvolňování léčiv

### 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)

Předkládaný projekt se bude zabývat testováním biomateriálů, které budou obohaceny o systém řízeného dodávání léčiv – mikrokapsle. Léčivo uvolňující se přímo v místě defektu povede ke snížení dávek léčiva, což povede ke snížení rizik spojených se systémem užíváním těchto léků. Bude testován materiál obohacený o léky běžně používané v léčbě osteoporózy (bifosfonáty) a alternativně také odanacatib, inhibitor cathepsinu K. Zároveň je součástí studie vytvoření a optimalizaci in vitro modelu, který povede k minimalizaci použití experimentálních zvířat v budoucnosti. Tento in vitro model bude ověřen pomocí stejných biomateriálů, které budou implantovány zvířatům.

### 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)

Osteoporóza je velmi rozšířené onemocnění, které postihuje přibližně 6% mužů a 21% žen ve věku 50–84 (27,6 mil mužů a žen v EU v roce 2010; zdroj: European Osteoporosis Foundation). Osteoporóza způsobuje více než 8,9 milionů zlomenin ročně a jejich počet neustále narůstá vzhledem ke stárnutí populace. Odhaduje se, že počet zlomenin způsobených osteoporózou vzroste z 3,5 milionů v roce 2010 na 4,5 milionů v roce 2025, to je 28% nárůst. Náklady na léčbu osteoporózy v EU byly v roce 2010 odhadovány 37 miliard euro. Pouze ojedinělé případy se však zaměřují na regeneraci kostní tkáně u osteoporotických pacientů. Hojení fraktur a kostních defektů je u osteoporotických pacientů zdlouhavý proces, který může vést ke vzniku dalších zlomenin. Řešením je zavedení biomateriálů, které plnohodnotně nahradí kostní tkáň. Velmi nadějně jsou například kompozitní materiály s inkorporovanými vlákny. Takto konstruované materiály rovněž umožní cílenou aplikaci léčiv a jiných biologicky aktivních látek s cílem zabránit pooperačním komplikacím či podpořit proces regenerace. Cílem pokusu je optimalizovat zvířecí model tak, aby se co nejvíce přiblížil cílové skupině pacientů a zároveň otestovat vybrané biomateriály.

### Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Do pokusu budou zařazovány samice kmene Wistar starší než 4 měsíce, které minimálně 1x porodily. Cílem je, aby se zvířata co nejvíce přiblížila cílové skupině v lidské populaci, ženám v menopauze. Bude použito maximálně 60 zvířat v první fázi pokusu a 256 zvířat ve druhé fázi pokusu. Dále předpokládáme využití 50 zvířat pro odběr orgánů v souladu s §3, odst. t Zákona 246/1992.

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

Zvířata určená pro izolaci buněk podstoupí pouze ovariektomii. Zárok bude proveden v celkové anestézii. Zvířata určená k experimentální léčbě podstoupí ovariektomii a s časovým odstupem 2-3 měsíců jim bude chirurgicky vytvořen defekt femuru, který bude vyplněn testovanými biomateriály. Jako možné nežádoucí účinky předpokládáme bolest po zákrocích, ta však bude adekvátně tlumena analgetiky. Navrhovaná míra závažnosti je vzhledem k plánovaným operacím střední. Po ukončení experimentu budou zvířata usmrcena předávkováním anestetikem nebo cervikální dislokací v celkové anestézii. Po usmrcení budou odebrány vzorky tkání pro analýzy a kadaver bude v souladu s provozním řádem pracoviště uzavřen do neprodyšného obalu, uložen do mrazicího boxu a likvidován specializovanou asanační firmou.

### 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 rozvoj osteoporózy je

dlouhodobý proces, ve kterém se uplatňují velmi komplexní patofyziologické mechanismy se vzájemnými interakcemi, které dosud není možné modelovat jinak než v in vivo podmínkách. Rovněž reakci tkáně na implantované materiály a jejich vhojení nelze modelovat alternativními metodami.

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

Počet zvířat naplánovaný pro implantace je nejmenší možný, který umožní statistické vyhodnocení dosažených výsledků. U osteoporotických i zdravých zvířat – dárců buněk zahrnuje navržený počet i rezervu. Do protokolu však budou zvířata zařazována postupně, ve skupinách po cca 10 jedincích. Uvedeného počtu tak nebude nutné dosáhnout, ukáže-li se, že počet získaných buněk pro in vitro model je dostačující.

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.

Veškeré invazivní a bolestivé zákroky na experimentálních zvířatech (ovariektomie a implantace materiálů do kostních defektů) budou probíhat v CA. Ještě před vyvedením zvířete z CA budou aplikována analgetika, která budou podávána i v pooperačním období. Po zákrocích nebude se zvířaty manipulováno a bude jim poskytována chovatelská péče minimalizující stres a rovněž minimalizující riziko vzniku fraktur v období pokročilé osteoporózy.