

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569	
Název projektu pokusů	
Nové materiály pro kardiovaskulární chirurgii na bázi modifikovaných decelularizovaných tkání – změna zvířecího modelu (NV18-02-00422).	
Doba trvání projektu pokusů - v měsících	2/2021 – 12/2021
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾	decelularizovaná cévní náhrada; cévní protéza; allograft; kmenové buňky
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
☐	a běžná výroba
☐	zkoušení účinnosti a tolerance
☐	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	
Hlavním cílem projektu je testování nových biochemicky a/nebo buněčně modifikovaných povrchů pro tkáňové inženýrství cévních náhrad v kardiovaskulární chirurgii. Náhrady jsou založeny na decelularizovaných prasečích cévách malého průměru. Cílem projektu je návrh nových cévních náhrad. Ve srovnání s klinicky užívanými relativně rigidními a trombogenními syntetickými cévními protézami si naše decelularizované nosiče zachovávají mechanické vlastnosti a složení podobné nativním cévám. Vnitřní povrch nosičů bude osídlen živými buňkami in vitro v bioreaktoru (autologní z tukové tkáně, komerčně dostupné allogenní prasečí nebo xenogenní lidské kmenové buňky) za účelem zvýšení atraktivity a následné spontánní re-celularizace in vivo, zejména endotelovými buňkami (EB) a tím pádem snížení rizika trombózy. Výsledkem je tedy vývoj dostupného, biokompatibilního štěpu připraveného metodami tkáňového inženýrství pro použití na poli cévní chirurgie a kardiochirurgie a dále potvrzení/vyvrácení hypotézy z hlediska nutnosti osídlení takového štěpu různými typy buněk a jejich přínos pro rychlejší remodelaci v těle.	
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)	
Výše uváděný biokompatibilní materiál by mohl být v klinické praxi použit jako nová cévní náhrada, cévní záplata, příp. i záplata k augmentacím/plastikám srdečních oddílů, chlopní.	
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání	
- Celková anestézie (CA): zahrnuje premedikaci i.m. injekcí, úvod do anestézie a vedení anestézie, aplikaci i.v. injekcí a infúzí (např. anestetika, analgetika, antibiotika, antitrombotika, krystaloidní roztoky), intubaci pro inhalační anestézii. Pooperační analgésie transdermálně náplastí. Zvířata v rámci implantace štěpu osídleného autologními buňkami podstoupí CA celkem 3x (1. odběr tuku - 2. implantace - 3. explantace), ostatní 2x (1. implantace - 2. explantace). - Perorální léčiva: např. antitrombotika (aspirin) - Odběr krve k vyšetření, cca 1x týdně - Chirurgický zákrok: Odběr krční tukové tkáně pro izolaci autologních buněk v CA, cca 15 min, následně příprava štěpu v laboratoři (cca 3 týdny). - Chirurgický zákrok: Implantace záplaty nebo náhrady karotické tepny v CA, cca 2 h. - Chirurgický zákrok: Explantace karotidy (po 1-6 měsících), provedení angiografie kontrastní látkou z třísla pod rentgenem v CA, cca 3h, následně usmrcení zvířete v CA.	

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků					
Nepříznivé účinky na zvířata nejsou očekávány. Navrhovaná míra závažnosti je "střední". Nepředpokládá se, že by implantace mohla způsobovat výraznou bolest, strach nebo utrpení zvířete. Plánované chirurgické výkony budou prováděny v celkové anestezii, s pooperační analgézií, certifikovanou osobou a nezhorsí celkový zdravotní stav nebo dobré životní podmínky pokusných zvířat. Během celého experimentu budou zvířata pravidelně kontrolována. Na konci experimentu budou zvířata utracena předávkováním anestetik v CA po provedené explantaci zkoumaných tkání. Po usmrcení budou odebrány tkáně pro další výzkum.					
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu					
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Prase domácí (Sus scrofa domesticus)	32	0		32	
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 - uveďte					
Při ukončení pokusu bude implantovaný konstrukt v celkové anestézii chirurgicky explantován pro makroskopické a mikroskopické vyšetření a tato explantace vyžaduje usmrcení zvířete v anestézii.					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - <i>uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>					
In vivo model, tj. použití prasat pro tento pokus, je zcela nezbytné. Modelování v in-vitro podmínkách je sice možné, nicméně limitní. Arteficiální bioreaktor, jež byl vyvinut a je používán, není s to obsáhnout veškeré skutečnosti/jevy, k nimž v živém organismu dochází. Proto biologický model představuje optimální řešení.					
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>					
V rámci pokusů proběhlých v předcházejících projektech (realizované stejným týmem) bylo dosaženo potřebné praktické dovednosti stran práce s laboratorními prasaty, optimálního zvládnutí chirurgické techniky implantace decelularizovaných cévních záplat a cévních náhrad. Již tento fakt přispívá k redukci nechtěného nadužívání pokusných zvířat. K dosažení relevantních výsledků byl stanoven minimální možný počet zvířat. Celkový počet zvířat byl zvolen jako minimální možný pro statistické vyhodnocení pokusu. Pakliže se v iniciačních fázích pokusu objeví zásadní problém na jakékoli úrovni, bude od dalších pokusů upuštěno s cílem maximální možné redukce užitým zvířat. Strategie k omezení počtu zvířat: oboustranná implantace, využití dárce allograftu k jiné implantaci, využití resekované karotidy ke kontrole barvení, odběr tkání zvířete pro jiné experimenty po ukončení pokusu.					
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>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</i>					
K laboratorním zvířatům bude přistupováno s veškerým respektem a ohledy. Zvířata budou kromě úkonů nezbytných k pokusu ponechána v klidu, bude o ně pečováno dle platných zoohygienických předpisů a jejich biologických potřeb, včetně navykací periody. Během vystavení zákrokům budou zvířata uvedena do celkové anestezie, přičemž po dobu anestezie bude zajištěn jejich tepelný komfort a vlhčení očí. Zvířata nebudou použita pro pokus při známkách snížené zdravotní kondice. Bude prováděna pravidelná pooperační kontrola a podávána pooperační analgésie. Se zvířaty budou manipulovat pouze certifikované osoby a usmrcení zvířat bude provedeno maximálně šetrně, a to v celkové anestézii předávkováním anestetik.					

Opatření, jež budou provázet celý projekt, vychází jednak z platných, zákonem stanovených předpisů pro práci s laboratorními zvířaty i ze zkušenosti týmu ošetřovatelů/ošetřovatelek a laborantů/laborantek.

Použité druhy zvířat - vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií

Laboratorní prase je humánnímu organismu velice blízké, a to jak funkčně, tak strukturálně – proto se jeví jako optimální model. Druh zvířete (prase přeštické, samice, 30–50 kg) je tedy vybrán s ohledem na anatomickou, funkční a chirurgickou podobnost člověku. Životní stadium je vybráno s ohledem na dobu trvání pokusu, růst zvířete a opakování celkové anestézie 2 až 3krát.

- 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