

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Implantace recelularizovaných žilních a tepenných štěpů – experiment na praseti domácím; součástí je program Start UK:
Recellularization of decellularized caval vein – in vitro and in vivo experiment START/MED/027

Doba trvání projektu pokusů v měsících	54
Klíčová slova	Recelularizace
Implantace	Cévní štěpy
Prasečí model	0

Účely projektu pokusů

Translační a aplikovaný výzkum: Jiné poruchy u lidí [PT32]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Cílem projektu je ověřit využitelnost decelularizovaných cévních štěpů prasete domácího recelularizovaných endotelovými buňkami pro rekonstrukci cévního řečiště.

Cíl 1: Ověření průchodnosti a biomechanických vlastností (vznik stenóz či dilatací) těchto štěpů pomocí CT angiografie.

Cíl 2: Posoudit přítomnost a původ endotelových a případně i dalších buněk ve stěně štěpu po jeho explantaci.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Přínosem projektu je získání dat o chování decelularizovaných cévních štěpů osídlených endotelovými buňkami, které by mohly být případně využity jako alternativa k současným cévním náhradám v humánní chirurgii. Dalším významným přínosem studie je získání dat nezbytných pro další fáze výzkumu přípravy arteficiálních jater získaných decelularizací a následnou recelularizací, kdy budou jako součást takto připraveného orgánu implantovány i příslušné cévy.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Zvířata budou před operací či před jinou manipulací uvedena do celkové anestezie se zajištěním analgézie. Následně bude provedena orotracheální intubace.

Zvířata, která budou použita k získání cévních štěpů:

Po provedení laparotomie bude vypreparována v. portae nebo v. cava caudalis. U zvířat určených k odběru tepen budou vypreparovány obě aa. carotides. Zvířeti bude aplikován Heparin a vypreparované žíly či tepny budou následně resekovány. Poté budou zvířata v celkové anestézii usmrcena předávkováním anestetikem.

Zvířata z kontrolních a experimentálních skupin:

Nejprve bude zaveden Port-a-cath cestou v. jugularis do v. cava cranialis s fixací komůrky do podkoží na laterální straně krku zvířete. Po provedení laparotomie bude vypreparována v. portae či v. cava caudalis. Zvíře bude heparinizováno a následně bude nahrazen úsek v. cava caudalis nebo v. portae o délce cca 2–5 cm. V případě zvířat s tepennou náhradou bude místo laparotomie z incize na krku vypreparována a. carotis a bude nahrazen její úsek o délce cca 2–5 cm.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata, a doba trvání těchto účinků

Zvířata podstoupí chirurgický zákrok v celkové anestézii s dostatečnou analgézií. V pooperačním období bude zajištěna dostatečná analgézie. Od druhého pooperačního dne předpokládáme normální příjem krmiva. Veškeré odběry krve a vyšetření v pooperačním období budou prováděny v celkové anestézii. Zvířata pravděpodobně pocítí krátkodobou bolest či strach během uvádění do celkové anestézie.

Zvířata dárce podstoupí chirurgický zákrok, ze kterého nebudou probuzena.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
	Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
prasata (Sus scrofa domesticus) [A14]	240	0	240	0

0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi				
Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat			
	Opětovné použití	Navrácení do chovu, do přírodního stanoviště	Do zájmového chovu	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty				
Po ukončení experimentu budou zvířata v celkové anestézii usmrcena. Usmrcení zvířat bude provedeno v celkové anestézii injekčním roztokem T61 v dávce 0,3 – 0,5 ml/kg a roztoku KCl 7,45% 20-40 ml za kontinuální monitorace vitálních funkcí až do potvrzení trvalého zastavení oběhu. Po usmrcení budou odebrány vzorky tkání pro analýzy a kadaver bude předán ke kafilernímu zpracování firmě Asavet Biřkov dle platných postupů.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Použití živého zvířete je pro zkoumání vlastností recelularizovaného štěpu po jeho implantaci do cévního řečiště nezbytné, neexistují alternativy, které by umožnily dosáhnout klinicky relevantních výsledků. Žádná jiná alternativa neumožňuje detailně zkoumat regeneraci cév.				
Omezení používání zvířat				
Experiment je navržen tak, aby data mohla být průběžně vyhodnocována. V plném počtu budou operovány jen skupiny zvířat s dobou přežití, která se bude jevit jako nejvíce přínosná stran zkoumání regenerace štěpu po jeho implantaci. V projektu jsou tak zahrnuta zvířata, která nemusí být použita. Až pilotní výsledky pomohou rozhodnout, které skupiny zvířat budou operovány v plném počtu. Ve všech případech, kdy to bude možné, bude odebráno více cévních štěpů z jednoho dárce. Dostatečný počet jedinců v rámci skupin je nutný pro validitu statisticky hodnocených výsledků. Navrhovaný počet 480 zvířat je tak maximum, kterého nebude dosaženo.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
O zvířata bude řádně pečováno v souladu s aktuálními předpisy o ochraně zvířat. Veškeré bolestivé a omezující zákroky proběhnou v celkové anestézii. V pooperačním období bude zajištěna adekvátní analgésie zvířat. Veškerý personál je řádně proškolen v šetrném zacházení se zvířaty.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Použijeme prasata domácí z ověřeného chovu (plemeno přeštické černostrakaté) s ohledem na dlouhodobé zkušenosti s tímto druhem a široké použití v základním výzkumu, tzn. možnost porovnání výsledků s jinými pracovišti a jejich praktickou využitelnost. Dostatečná velikost umožňuje nekomplikovaný přístup ke studovaným strukturám. Předpokládaný věk zvířat je 3-4 měsíce.