

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Analýza buněčného cyklu a viability tukových buněk pomocí Q-PHASE holografického mikroskopu

Doba trvání projektu pokusů v měsících	4
Klíčová slova	lipografting
králičí model	buněčný cyklus
0	0

Účely projektu pokusů

Translační a aplikovaný výzkum: Poruchy smyslových orgánů (kůže, očí a uší) u lidí [PT30]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Cílem popisovaného projektu je v reálném čase zobrazit buněčný cyklus a růst za použití unikátního QPHASE holografického mikroskopu, který bude použit pro vyšetření tukové tkáně při jejím přenosu (lipografting) za použití různých typů aditiv, které potencují neovaskularizaci a viabilitu tukového štěpu. Využití autologního přenosu tukové tkáně patří mezi nejpopulárnější metody nejen substituce chybějícího objemu tkáně. Potenciál vaskularizované tukové tkáně byl prokázán rovněž v rámci hojení a regenerace. Největším úskalím metody je obtížně predikovatelná míra přežití přenášeného štěpu. Výsledný efekt je závislý na řadě faktorů. Recentní studie ukazují, že časná neovaskularizace hraje klíčovou úlohu v míře a kvalitě přežití tukového štěpu.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Možnosti aplikace lipograftingu přináší nepřeberné možnosti v oblasti plastické chirurgie a regenerativní medicíny. I tato metoda má však svá úskalí a limity. Jako hlavní limitace metody je parciální vstřebání přenášeného tukového štěpu. Možnost předejít nebo alespoň omezit tento děj, představuje významný posun této metody. Historicky se zkoušela řada metod k potenciaci viability tukových buněk, avšak žádná si nenašla své pevné místo v klinické praxi. Využití růstových faktorů představuje slibnou kapitolu moderní medicíny, která však vyžaduje precizní preklinický a posléze klinický výzkum. Králík domácí představuje ideální model k preklinickému testování nové metody, bez jehož provedení by další posun do klinické praxe nebyl možný.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Během experimentu budou provedeny dva chirurgické zákroky vždy v celkové injekční s následnou inhalační anestezii. Během prvního zákroku bude králíkům odebráno 5 g tukové tkáně z podkoží v oblasti inguina a tukový štěp bude po jeho zpracování aplikován do podkoží v oblasti ušního boltce. Chirurgické rány budou minimálního rozsahu (1-3 cm). Po zákroku bude králíkům podávána odpovídající analgezie po dobu 3 dnů. Druhý zákrok bude proveden po 12 týdnech po lipotransferu, během tohoto zákroku bude odebrán tukový štěp pro další vyšetření.

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

Během experimentu se neočekává negativní ovlivnění celkového zdravotního stavu zvířat, zákroky budou prováděny v celkové anestezii s následným podáváním analgetik.

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
králík domácí (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) [A8]	0	0	40	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
králík domácí (Oryctolagus cuniculus) [A8]	40	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 jedinci v dobrém zdravotním stavu použiti pro účely dalších experimentů, které budou klasifikovány jako mírné nebo střední závažnosti.

U králíků se změnou celkového zdravotního stavu bude po dobrání transplantovaného tukového štěpu provedena šetrná eutanázie v celkové anestezii podáním preparátu schváleného k šetrnému utracení zvířete.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat

Výběr jednotlivých komponent pro in vivo testování následuje až po proběhlých in vitro studiích na tkáňových a buněčných kulturách. Výsledků testování však nelze dosáhnout jinak než provedením experimentu na živém modelu.

Omezení používání zvířat

Počet zvířat je optimalizován tak, aby bylo možné vytvořit dostatečné množství lézí pro statistickou analýzu výsledků.

Šetrné zacházení se zvířaty

Zacházení se zvířaty bude probíhat v souladu se zákonem na ochranu zvířat proti týrání v platném znění a v souladu s vyhláškou č. 158/2021 Sb., o ochraně pokusných zvířat. Zvířata budou ustájena v akreditovaných experimentálních stájích s použitím technologie odpovídající živočišnému druhu.

Veškeré zákroky budou provádět osoby odborně způsobilé. Zvířata budou během vlastního zákroku v celkové anestezii s vyloučením všech forem utrpení. Následně bude použita odpovídající analgezie.

Použité druhy zvířat - vysvětlení

Králík domácí je vhodným animálním modelem pro studie, jejichž cílem je studium chování tukových buněk přenášených metodou lipotransferu s následným vyhodnocením vhodného aditiva a jeho vlivu na míru uchycení tukového štěpu s časovým odstupem. Dalším používaným modelem jsou například zástupci hlodavců (laboratorní myš nebo potkan) ty jsou však limitní svoji velikostí a množstvím tukové tkáně, stejně jako obtížnějším pooperačním sledováním.