

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

In vivo testování biokompatibilních polymerních nanovlákných vrstev k rekonstrukci kraniálních durálních defektů na modelu králíka (podpořeno grantem „INTERNÍ GRANTOVÁ SOUTĚŽ“)

Doba trvání projektu pokusů v měsících	17
Klíčová slova	králík
duroplastika	nanomateriály
0	0

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Nervová soustava [PB3]

0
0
0

Cíle projektu pokusů

Duroplastika proto hraje v neurochirurgii důležitou roli a je trvalou součástí všech intradurálních výkonů. Nejběžnější indikací duroplastiky je resekce nádoru (53 %) (4). Pokud v závěru operace není možná prostá sutura tvrdé pleny v linii durotomie, rekonstruujeme tvrdou plenu pomocí biologických (autograft, alograft, xenograft), nebo syntetických materiálů.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Syntetické materiály jsou, bezpochyby, budoucností durálních náhrad; přestože mechanické vlastnosti v současnosti registrovaných syntetických náhrad neumožňují snadnou manipulaci a ani všití, přesto Azzam et al. v roce 2018 upozornili, že v případech chirurgické léčby nádorových onemocnění se již dnes používají častěji syntetické materiály, než biologické štěpy. Dle MacEwan et al. syntetická nanovlákná a bovinní kolagenová durální náhrady prokázaly srovnatelnou efektivitu při rekonstrukci tvrdé pleny. Cílem naší studie je otestovat nanovlákný materiál z vysoce nereaktivního termoplastického fluoropolymeru PVDF, který byl již aplikován za podmínek, kde je třeba zajistit nejvyšší čistotu; jedná se o absolutně netoxický materiál schválený FDA. Taktéž byl úspěšně medicínsky testován. Nicméně v našem experimentu by byl poprvé užít jako durální náhrada. Vzhledem ke svým vlastnostem se zdá být ideálním kandidátem. Jeho pozitivní účinky byly prokázány během kostní regenerace. V experimentu bude porovnáván s dalšími nanomateriály a jejich kombinacemi. Testována bude schopnost zajistit uspokojivý durální uzávěru a schopnost vhojení materiálu s následnou novotvorbou pleny při minimální kortikální adhezi.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Operační zákrok bude zahájen 3cm dlouhým řezem ve střední čáře se středem nad vertexem s cílem umožnit provedení bilaterální kraniotomie. Po nasazení kožního retraktoru provedeme s pomocí mikrofrézy kraniotomii na obou stranách šípového švu. Kostní lalok se odstraní bez narušení kontinuity tvrdé pleny. Ta se následně inciduje, tak aby vzniklý defekt v pleně kopíroval okraje lehce oválné kraniotomie s dlouhou osou v předozadním směru. Proveďte se vizuální kontrola povrchu mozku a následně se 3–4 stehy přichytí nanovlákný implantát k okrajům durotomie. Implantát bude fungovat jako náhrada za odstraněnou část tvrdé pleny.

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

K tlumení pooperační citlivosti bude ihned po operaci podáno s.c. 0,2 mg/kg meloxicamu (NSAID - Meloxidolor 5 mg/ml), po 24 hodinách 0,1 mg/kg s.c.; v tomto dávkovém schématu budeme pokračovat 7 dní. Všechna zvířata podstoupí denní a týdenní hodnocení chování, rány a neurostatu.

Po 12 týdnech od durální rekonstrukce nanovlákným materiálem budou zvířata usmrcena.

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	25	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 usmrcení králíka předávkováním celkového anestetika budou, po makroskopickém vyšetření, vytnuty výseky v celé šíři mozku, mozkových obalů a lebky v místě implantace durální náhrady. Histologické vzorky budou fixovány ve formalínu.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Navrhovaný pokus je nezbytné provést na pokusném zvířeti, neboť jeho cílem je sledovat a hodnotit in vivo odpověď organismu a jeho regenerační schopnost ve vztahu k testovaným nanomateriálům.				
Omezení používání zvířat				
Budou použity minimální nezbytné počty zvířat nutné ke správnému statistickému zhodnocení účinku. Plán pokusu reflektuje i interindividuální variabilitu zvířat při navození patologického stavu. Struktura experimentů je navržena po důkladné teoretické přípravě a navazuje na dlouhodobé zkušenosti realizujícího týmu. Všechny odebrané vzorky budou dlouhodobě skladovány v hlubokomrazících boxech (-80 °C) pro možnost dodatečných analýz bez nutnosti opakování experimentu.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Snížení újmy zvířatům bude zabezpečeno vysokou kvalitou péče ve Viváriu postavené na zkušeném personálu, pravidelném denním režimu a používání anestetik a analgetik v odpovídajících dávkových schématech. Se zvířaty bude experimentováno až po náležité aklimatizaci.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Experimentální část našeho projektu bude provedena na králičím modelu.

K tomuto rozhodnutí vedla ideální kombinace následujících faktorů: dostatečná velikost neurokrania k provedení kraniotomie; dostatečná tloušťka a pevnost tvrdé pleny pro potřeby komfortního provedení sutury při duroplastice; lehká dostupnost takového množství zvířecího modelu, abychom mohli přinést statisticky uspokojivá data; finanční a prostorová náročnost při péči o zvířata; celkově lehká manipulovatelnost s králičím modelem