

## NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

### Název projektu pokusů

Efekt využití nanomateriálů v prevenci formování epidurální jizvy po provedení laminektomie. Experimentální studie na králících.

|                                        |               |
|----------------------------------------|---------------|
| Doba trvání projektu pokusů v měsících | 16            |
| Klíčová slova                          | králík        |
| duroplastika                           | nanomateriály |
| 0                                      | 0             |

### Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Nervová soustava [PB3]

0  
0  
0

### Cíle projektu pokusů

Tématem projektu pokusů je zjištění vlivu nanovlákněnné (nn) textilie na tvorbu jizvy zachování klouzavosti jednotlivých anatomických vrstev. Cíle bude dosaženo hodnocením vzorků získaných z in vivo modelu po vložení nn materiálu ve formě plátna do epidurálního prostoru po operaci v páteřním kanále. Cílem, na základě histologické a elektronové analýzy, je dokázat významnou redukci tvorby jizvy v okolí nervových struktur a redukci prorůstání fibroblastů do nn materiálu. Průkaz redukce prorůstání fibroblastů do nn materiálu lze považovat za nepřímý důkaz zachování efektu předoperační skluznosti okolních struktur (2) vůči durálnímu vaku při pooperační ztrátě fyziologických bariér. Dlouhodobým cílem, mimo rámec projektu, je nalezení nanomateriálu, který bude možno použít v každodenní chirurgické praxi.

### Potenciální přínosy projektu pokusů

Cílů chceme dosáhnout histologickou analýzou odebraných vzorků zvířecího modelu - potvrdit významnou redukci tvorby jizvy a její prorůstání do nanovlákněnného materiálu jak mezi nanomateriálem a tvrdou plenou, tak mezi ním a paravertebrálními svaly. Toto prorůstání do nanomateriálu bude verifikováno i elektronovým mikroskopem.

### Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

V celkové anestezii bude zvíře fixováno v pronační poloze na malý operační stolek. Operační pole bude oholeno a vydezinfikováno jodovaným povidonem a poté potřen kombinovaným biocidním dezinfekčním roztokem na kůži (Spitaderm). Bude provedena svodná anestézie pro vybranou oblast páteře articaínem (2 ml Supracain 4%) s.c. Řez bude veden ve střední čáře od Th12-S1. Dále bude prořazena fascie a provedena skeletizace (uvolnění svalů od kostí páteře – deperiostace). Po ozřejmění obratlového oblouku L1 a L5 přistoupíme k jejich snesení (laminektomii) tak, aby nebyl poškozen durální obal a byly vizualizovány míšní kořeny. Obratlový oblouk L3 bude ponechán bez zásahu jako referenční místo pro histologické řezy. Nakonec bude do nově vzniklého prostoru v místě laminektomie L5 epidurálně vložena nanovlákněnná textilie.

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

Nebude použito žádných dalších léčiv, které by mohly modifikovat tvorbu jizvy. Pooperační analgezii provedeme s využitím buprenorfinu ihned po ukončení zákroku a za 10-12 hodin v dávce 0,05 mg/kg. V dalších dnech k tlumení pooperační citlivosti bude podáván 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 do 7. pooperačního dne.

Po 15 týdnech od rekonstrukce nanovlákněnným 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     | 44      | 0       |

| 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 0                       | 0                                            | 0                  | 0 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------------------------------------|--------------------|---|
| 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 0                       | 0                                            | 0                  | 0 |
| 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 0                       | 0                                            | 0                  | 0 |
| <b>Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                         |                                              |                    |   |
| 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                  |   |
| <b>Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                         |                                              |                    |   |
| <p>Po uplynutí 15 týdnů budou zvířata uvedena do celkové anestezie stejným protokolem jako k operaci, stejným způsobem bude odebrána krev k dalším analýzám. V celkové anestezii budou zvířata usmrcena intrakardiálně podaným Pentobarbitalem v letální dávce. Po usmrcení bude zvíře pitváno, makroskopicky zhodnocen stav operačního pole s následným odebráním tkání na histologické vyšetření.</p>                                                                                      |                         |                                              |                    |   |
| <b>Uplatňování 3R</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                         |                                              |                    |   |
| <b>Nahrazení používání zvířat</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                         |                                              |                    |   |
| <p>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.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                         |                                              |                    |   |
| <b>Omezení používání zvířat</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                         |                                              |                    |   |
| <p>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.</p> |                         |                                              |                    |   |
| <b>Šetrné zacházení se zvířaty</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                         |                                              |                    |   |
| <p>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.</p>                                                                                                                                                                                                              |                         |                                              |                    |   |
| <b>Použité druhy zvířat - vysvětlení</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                         |                                              |                    |   |

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