

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569	
Název projektu pokusů	
Studie regenerace ischiatického nervu po chirurgickém poškození u králíka	
Doba trvání projektu pokusů - v měsících	3 měsíce
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾	králík, implantace, regenerace, ischiatický nerv
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
☐	jiné zkoušení účinnosti a tolerance
☐	a běžná výroba
☐	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	
Cílem studie vyhodnotit vliv implantační trubice na regeneraci ischiatického nervu po chirurgickém přetěti. Testovaným prostředkem jsou dva typy resorbovatelné implantační trubice vyplněné speciální matricí. Implantační trubice a vnitřní matrice jsou na bázi kolagenu typu I. Oba testované typy matrice, obsahující fibronektin, laminin 1 a laminin 2, se liší rozdílnou povrchovou úpravou kolagenních vláken. Nejbližší komerčně dostupný zdravotnický prostředek pro regeneraci periferních nervů je NeuraGen® Nerve Guide. Studie poskytne základní informace o schopnosti regenerace ischiatického nervu na nehlodavčím zvířecím modelu. Testovaná implantační trubice by měla být využita při léčbě traumatických poškození periferních nervů u lidí. Studie s obdobným designem byla již provedena na potkanech, kde byla prokázána regenerační schopnost po implantaci trubice při odebrání 15 mm periferního nervu.	
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)	
Studie poskytne informace o schopnosti regenerace chirurgicky poškozeného ischiatického nervu. Testované implantační trubice by měly být využity při léčbě traumatických poškození periferních nervů u lidí.	
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání	
Po minimálně 7denní době aklimatizace bude zvířatům v hluboké anestezii chirurgicky, jednostranně vypreparován ischiatický nerv. Poté bude nerv na dvou místech pomocí skalpelu přetnut a bude odebráno asi 30 mm periferního nervu. Následně bude na vzniklé dva pahýly ischiatického nervu našita kontrolní nebo testovaná regenerační trubice podle zařazení do skupin tak, že trubice bude tyto pahýly spojovat a tím umožní postupnou regeneraci nervu. U zvířat pak bude následovat 12týdenní pozorovací období. Zvířata budou denně sledována, denně bude sledován stav chirurgické rány a místo implantace (otok, zarudnutí apod.). Minimálně týden po implantaci budou králíci vybaveni ochrannými límci tak, aby si nepoškozovali postiženou končetinu. Zjištění tělesné hmotnosti bude probíhat na začátku a na konci pozorovacího období. Před aplikací, následně Den 3, Den 10, Den 21 po implantaci a na konci pozorovacího období bude u zvířat proveden odběr krve pro zjištění degradačních produktů. Krev bude odebrána z <i>vena auricularis</i> , <i>vena cephalica antebrachii</i> nebo <i>vena saphena</i> v objemu maximálně 3 ml/odběr. Na konci 12týdenního pozorovacího období bude zvířatům v anestezii provedeno elektrofyziologické vyšetření nervové a svalové funkce a následně budou zvířata usmrcena i.v. aplikací pentobarbitalu (Exagon) a patologicky vyšetřena.	
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků	
Po plánovaném chirurgickém zákroku ztratí zvířata hybnost operované končetiny minimálně po dobu několika týdnů. Klasifikace závažnosti pokusu je závažná. V případě výskytu utrpení u zvířat bude postupováno dle doporučení veterinárního lékaře, případně bude zvíře neprodleně usmrceno i.v. aplikací pentobarbitalu (Exagon).	

1

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
Králík domácí (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	39		3		36
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					
Odhadovaný počet zvířat, která budou navržena do přírodního stanoviště či systému chovu					
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu					
Pro tento typ pokusu neexistuje alternativní metoda, která by mohla testovat regeneraci poškozeného periferního nervu. Veškeré úkony (chirurgický zákrok, implantace, odběry krve apod.) jsou prováděny obdobně, jak je tomu běžné v humánní a veterinární praxi, případně za použití anestezie (viz bod 12). Vyhodnocení studie je potřebným podkladem pro vyhodnocení schopnosti podpory regenerace periferního nervu na nehlodavčím zvířecím modelu.					
Omezení používání zvířat - vysvětlíte, 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).					
Studie je prováděna na dostatečném počtu zvířat, tak aby získané výsledky poskytly validní informace pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou.					
Šetrné zacházení se zvířaty - 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					
Se zvířaty bude zacházeno v rámci standardních a schválených postupů práce se zvířaty, které vylučují nehumánní zacházení a minimalizují možný stres a utrpení zvířat na nejnižší možnou úroveň. Veškeré úkony (implantace, odběr krve apod.) jsou prováděny obdobně, jak je tomu běžné v humánní a veterinární praxi. Zvýšená pozornost bude kladena na stav operační rány a implantovaného místa.					
Použité druhy zvířat - vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií					
Králík domácí jako zástupce ne-hlodavců je vhodným modelem pro preklinické zkoušení regenerace periferního nervu.					

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

1