

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Bioarteficiální 3D štep pro meziobratlovou fúzi u spinálního defektu páteře potkana

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

Do 10/2022

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

tkáňové inženýrství, kostní štěp, ortopedická onemocnění, spondylochirurgie

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

Pevná kostěná fúze je základním předpokladem léčby rozsáhlé řady onemocnění páteře. Podmínkou je štep obsahující organické a anorganické prvky k docílení srůstu. Autograft zdravého jedince nese ideální poměr biofyzikálních vlastností vyjádřený schopností osteoindukce, osteokondukcí a osteogeneze. Experimentální vývoj obsažený v tomto projektu kombinuje vývoj třidimenzionálního porózního nosiče s vhodnými fyzikálními vlastnostmi s aplikací lidských mesenchymálních stromálních buněk a endotelových prekursorů, s cílem navrhnout a ověřit *in vitro* a následně *in vivo* na malém zvířeti produkci ideálního živého – bio-artifciálního – osteogenního nosiče s terapeutickým potenciálem pro efektivní navození pevné meziobratlové fúze. Pokus je nezbytný z důvodů základního výzkumu a vyhledávacího výzkumu a dále předcházení, poznání nebo léčení nemocí, utrpení, poškození zdraví, tělesných nesnází nebo k poznání ovlivnění fyziologických stavů a funkcí člověka nebo zvířete.

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)

Přínosem projektu je vývoj nových léčebných postupů pro terapii závažných onemocnění páteře.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání

Před operačním zákrokem budou oči zvířat ošetřeny proti vysychání mastí Ophthamo-Azulen. Pokusná zvířata budou uvedena do celkové anestezie pomocí směsi 10% ketamin/10% xylazin 2:1 v dávce 0.1 ml/100g hmotnosti podané intraperitoneálně. Následně bude ve sterilních podmínkách provedena dorzální incize kůže a zpřístupněna páteř posterolaterálně. Následně bude provedena postero-laterální lumbální disketomie a implantace a osteointegrace inženýrovaného štěpu (resp. osteoindukce) pod mikroskopickou kontrolou. Svalová tkáň a vazivo budou uzavřeny resorbovatelnými, a kůže neresorbovatelnými stehy. Pokusná zvířata budou ošetřena antibiotickou profylaxí (amoxicillin 15mg/kg) a budou dlouhodobě sledována (cca 120 dní). Během operace budou zvířata umístěna na temperovaném stolku a budou průběžně monitorovány jejich životní funkce systémem Vevo 2100. Po operaci budou zvířata sledována v pravidelných intervalech, v prvních 24 hodinách v intervalech 2 hodiny, dále pak nejméně 1x denně až do ukončení pokusu. Opakované zákroky na jednom jedinci nebudou prováděny. Po ukončení experimentu budou pokusná zvířata usmrcena předávkováním anestetikem (směs embutramid, mebezonium-jodid a tetrakain-hydrochlorid v letální dávce).

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků					
Zvířata budou podrobena operačnímu zásahu a implantaci štěpu, který může způsobit středně intenzivní bolesti nebo strach nebo středně závažný zásah do běžného chování pokusného zvířete. Samotný operační zásah bude proveden podle standardů humánní medicíny.					
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
Potkan laboratorní (Rattus norvegicus)	40				X
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					0
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					0
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					0
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					
Vzhledem k plánovanému posuzování indukce osteogeneze <i>in vivo</i> , není možné pokusná zvířata nahradit žádným buněčným či jiným modelem. Alternativní metody podle ECVAM neexistují.					
Omezení používání zvířat - vysvětlete, 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).					
Budou použity minimální nezbytné počty zvířat pro správné statistické vyhodnocení. Maximální počet zvířat bude 40.					
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					
V průběhu pokusů budou zohledňována hlediska humánního zacházení s pokusnými zvířaty, zejména s ohledem na umožnění jejich adaptace, klidné zacházení, tichý přístup a návyk na uchopení rukou. Pro eliminaci zvýšené bolesti po zákroku bude zvířatům subkutánně aplikováno analgetikum Buprenorfin v dávce 0,05 mg/kg hmotnosti. V rámci pooperační péče bude Buprenorfin aplikován v intervalech 12 hodin po dobu dalších 5-ti dní.					
Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií					
Budou využity imunodeficientní bezsrstí potkani rnu/rnu („nude rat“) věku 10 týdnů o přibližné váze 200 g v minimálním počtu nezbytném pro statistické vyhodnocení, který je představován maximálním počtem 40 zvířat. Tento kmen, který vznikl křížením (NE genetickou modifikací), je standardně využívaný pro testování bioinženýrovaných nebo xenograftovaných tkáňových konstruktů.					

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