

NETECHNICKÉ SHRNTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569						
Název projektu pokusů						
Nové materiály pro kardiovaskulární chirurgii na bázi modifikovaných decelularizovaných tkání – změna zvířecího modelu						
Doba trvání projektu pokusů - v měsících			1.9.2020 – 30.9.2022			
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾			kardiovaskulární náhrady; decelularizace; endotel; povrchová modifikace			
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					
☐	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 projektu je vytvořit nové kardiovaskulární cévní náhrady a záplaty na bázi decelularizovaných krevních cév s bioaktivní povrchy za účelem jejich spontánní endotelizace. Tyto povrchy budou tvořeny vrstvou heparinu, nebo kys. hyaluronové nebo jejich kombinací. Spontánní endotelizace pak snižuje trombogenicitu nových cévních náhrad.						
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)						
Cílem experimentu je dokázat, že naše decelularizované náhrady si oproti syntetickým protézám zachovají mechanické vlastnosti a složení podobné nativním cévám. Přítomnost bioaktivních povrchů by měla výrazně zvýšit jejich bio- a hemokompatibilitu <i>in vivo</i> .						
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání						
Bude provedena střední laparotomie, preparace břišní aorty a napojení cévního implantátu za použití standardní operační techniky obecné a cévní chirurgie. Rána bude zašita po jednotlivých anatomických vrstvách absorbovatelným šicím materiálem. Chirurgický zákrok bude proveden v celkové anestézii (Thiopental 50 mg/kg ž.h.m.), po operaci budou podána analgetika (Acticam 1 mg/kg ž.h.m., s.c.), do nabytí plného vědomí budou zvířata uložena na vyhřívané podložce. Po implantaci pokusná zvířata nabydou vědomí. Implantované štěpy budou explantovány za 1 měsíc a podrobeny histologické analýze. Po explantaci zvířata nenabydou vědomí. Doba 1 měsíce je minimální k posouzení integrace a endotelizace cévního štěpu u experimentálních zvířat.						
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků						
Navrhovaná míra závažnosti je "střední". Nepředpokládá se, že by implantace nosičů mohla způsobovat výraznou bolest, strach nebo utrpení zvířete. Veškeré chirurgické zákroky budou prováděny v celkové anestézii odborným pracovníkem. Po operaci budou zvířatům podána analgetika a do úplného nabytí vědomí budou uložena na vyhřívané podložce z důvodu předejití podchlazení organismu. Během celého experimentu budou zvířata pravidelně kontrolována. Na konci experimentu budou zvířata utracena dekapitací v celkové anestézii, budou odebrány vzorky tkání (cévy, kosti, tuk) pro izolaci buněk (endotel, hladký sval, kmenové buňky) nebo decelularizaci pro další výzkum v oblasti tkáňového inženýrství. Kadavery budou umístěny do kafilerního boxu. Likvidace zvířat bude provedena odbornou asanační službou.						
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)		144			144	

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 - <i>uved'te</i>					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - <i>uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>					
Plánované pokusy vzhledem ke sledování <i>in vivo</i> , které je nutné pro pochopení komplexní reakce organismu na implantát, není možno otestovat pouze za podmínek <i>in vitro</i> (ty postihují pouze situaci na buněčné úrovni). Je nutno, aby byl použit biologický model pokusného zvířete, není jiná další alternativní metoda. Podle dostupné literatury prozatím neexistuje žádný <i>in vitro</i> model k dané problematice, který by zahrnoval celou škálu procesů, které se rozvinou u živého organismu. Pro úspěšné provedení pokusů je důležité sledovat celou řadu sekundárních procesů, které se rozvinou v živé tkáni, trvajících řádově několik týdnů až měsíců. Tento model je i nezbytný k následným klinickým zkouškám implantátů. Existence alternativních metod byla ověřena v následujících literárních zdrojích: https://www.pubmed.gov .					
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).					
Počty zvířat jsou minimalizovány tak, aby bylo možné získat statisticky průkazné výsledky.					
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uved'te 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</i>					
Pokusy budou prováděny na potkaních samcích kmene PHHC, HTGR a Lewis o váze 400 – 550g (váha závisí na daném kmeni). Pro tento typ studie je potkan jediné vhodné zvíře. Veškeré chirurgické výkony u vybraných skupin zvířat budou provedeny v celkové anestézii (Thiopental 50 mg/kg ž.hm.), po operaci budou podána analgetika (Acticam 1 mg/kg ž.hm.), do nabytí plného vědomí budou zvířata uložena na vyhřívané podložce. Po probuzení budou potkani umístěni v označených a schválených klecích (M4 pro potkany) dle určených skupin v konvenčním chovu Experimentálního pracoviště IKEM. Zvířata budou po 3-4ks s volným přístupem k vodě a peletovanému krmivu, se stabilní teplotou a vlhkostí a světelným režimem 12:12. Veškerou manipulaci se zvířaty bude provádět odborně způsobilý personál.					
Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií					
Kmeny potkanů PHHC, HTGR (modely kardiovaskulárního onemocnění) a Lewis (inbrední, kontrolní kmen). Celkem plánujeme použít 144 potkanů během 2 let. Zvířata budou rozdělena do 6 skupin, obsahující dvě podskupiny po 6 jedincích (kontrolní a modifikované kardiovaskulární náhrady)					

- 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