

## NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ

### Název projektu pokusů

Acelulární vaskulární náhrady s endotelovou výstelkou na aktivním povrchu

Doba trvání projektu pokusů 5 let (2018-2022)

Klíčová slova - *maximálně 5* kardiiovaskulární náhrady; decelularizace; endotel; modifikace povrchu

Účel projektu pokusů - *označte jej křížkem (x) do prázdného políčka*

|          |                                                                                                                  |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>x</b> | základní výzkum                                                                                                  |
|          | translační nebo aplikovaný výzkum                                                                                |
|          | vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků |
|          | ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat                        |
|          | zachování druhů                                                                                                  |
|          | vyšší vzdělávání nebo odborná příprava                                                                           |
|          | trestní řízení a jiné soudní řízení                                                                              |

**Cíle projektu pokusů** (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

Vytvořit nové bioaktivní povrchy na decelularizovaných krevních cévách za účelem jejich spontánní endotelizace. Tyto povrchy budou tvořeny fibrinovou vrstvou s heparinem, rekombinantními růstovými faktory (VEGF, FGF-2) a oligosacharidovými ligandy pro galektin-3 na endotelových progenitorových buňkách (EPB).

**Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů** (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)

Naše decelularizované nosiče si zachovávají mechanické vlastnosti a složení podobné nativním cévám. Přítomnost ligandů pro receptory na EPB by měla výrazně zvýšit biokompatibilitu cévních protéz *in vivo*.

**Druhy a přibližné počty zvířat**, jejichž použití se předpokládá

Možná králíci plemena: Činčila velká, Novozélandský bílý a Belgický obr. Králíci ve studii budou mít hmotnost 4-4,5 kg. Zvířata budou rozdělena do 3 skupin. Celkem plánujeme použít 60 králíků obou pohlaví během 5 let.

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Výrazné nežádoucí účinky nejsou očekávány, případný rozvoj infekce bude řešen antibiotickou clonou a analgetiky. Po operačním zákroku budou zvířata pod kontinuální kontrolou až do úplného zotavení a následně budou navraceny do klecí. Zvířata budou sledována minimálně dvakrát denně během prvních čtyř dnů po zákroku, kdy budou podávána analgetika a antibiotika. U zvířat se bude sledovat celkový zdravotní stav, chování, příjem potravy a vody. Pooperační péči bude zajišťovat člen experimentálního týmu s platným osvědčením podle § 15d odst. 3 nebo § 15e odst. 1 zákona č. 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů. V dalším experimentálním období budou zvířata sledována min 1x denně.

Po operaci budou podána analgetika Meloxidyl (meloxicamum 5 mg.ml<sup>-1</sup>) 0,3 mg.kg<sup>-1</sup> s.c. Pro antibiotickou clonu během operace a po ní Marbocyl (marbofloxacinum 20 mg.ml<sup>-1</sup>) 2 mg.kg<sup>-1</sup> i.m.

Vzhledem k tomu že budou prováděny chirurgické zákroky v celkovém znecitlivění a za použití příslušných prostředků snižujících bolest spojené po zákroku s bolestí, utrpením nebo zhoršením celkového stavu pokusného zvířete navrhovaná míra závažnosti je "střední".

Na konci experimentu budou všechna pokusná zvířata usmrcena schválenou metodou předávkováním anestetikem.

Kadavery budou umístěny do kafilerního boxu. Likvidace kadaverů bude provedena asanační službou.

**Uplatňování 3R** (replacement, reduction, refinement)

Nahrazení používání zvířat: Uved'te, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Plánované pokusy vzhledem ke sledování *in vivo*, které je nutné pro pochopení komplexní reakce organismu na implantát, není možno otestovat pouze za podmínek *in vitro*. Je nutno, aby byl použit biologický model. Podle dostupné literatury, prozatím neexistuje žádný *in vitro* 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 trvající řádově několik měsíců. Tento model je i nezbytný k následným klinickým zkouškám implantátů.

Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

Projekt je náročný z hlediska počtu zvířat (odběr cév, testování 2 skupin modifikací), uvedené počty jsou minimální z hlediska reprodukovatelnosti a statistického zpracování dat.

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat, a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.

Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.

Králík je nejmenším možným pokusným zvířetem použitelným ve studii daného typu. Zvířata budou kromě úkonů nezbytných k pokusu ponechána v klidu, bude o ně pečováno dle platných zoohygienických předpisů a jejich biologických potřeb. Během vystavení zákrokům budou zvířata uvedena co celkové anestezie, přičemž po dobu anestezie bude zajištěn jejich tepelný komfort a vlhčení očí. Zvířata nebudou použita pro pokus při známkách snížené zdravotní kondice. Se zvířaty budou manipulovat pouze certifikované osoby a usmrcení zvířat bude provedeno maximálně šetrně.