

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Protektce endotelu a endoteliálního glykokalyxu vodíkem před ischemicko-reperfučním poškození po náhlé zástavě oběhu u prasete a testování biochemické diagnostiky z intraoseálního vstupu během resuscitace

Doba trvání projektu pokusů v měsících	1
Klíčová slova	glykokalyx
endotel	resuscitace
prase	0

Účely projektu pokusů

Translační a aplikovaný výzkum: Jiné poruchy u lidí [PT32]

0
0
0

Cíle projektu pokusů

Jedná se o translační výzkum, který se snaží prokázat protektivní vliv vodíku na mikrocirkulaci a endoteliální glykokalyx na modelu náhlé zástavy oběhu.

Dále bude testována použitelnost intraoseálního vstupu k biochemické diagnostice ze sera a jeho srovnání s hodnotami získanými z žilního vstupu.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Experiment přispěje k testování hypotézy o protektivním vlivu vodíku na mikrocirkulaci v poresuscitační péči. Jeho pozitivní vliv jako antioxidantů byl již prokázán. Nicméně se přesně neví, jakým mechanismem se tak děje. Předpokládaný vliv na mikrocirkulaci je v literatuře citován, ale nebyl dosud dokázán.

Dle doporučených postupů k resuscitaci Evropské resuscitační rady 2021 lze intraoseální vstup použít k běžným laboratorním biochemickým analýzám, nicméně není podrobně zdokumentována spolehlivost takto získaných údajů. Náš výzkum by tuto otázku mohl ozřejmit.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

A) Experimentální studie bude provedena na 14 prasatech domácích v prostorách vivária Fakulty vojenského zdravotnictví.

1. skupina: kontrolní skupina – 7 ks prasnic

2. skupina: testovaná skupina – 7 ks prasnic – podávání vodíku

U obou skupin bude navozena zástava oběhu fibrilací komor intrakardiální elektrodou zavedenou přes jugulární žílu nitrožilním zaváděčem po předchozím úvodu do celkové anestézie, zajištění vstupů a provedení vstupních odběrů a vyšetření sublingvální mikrocirkulace. Zvířata budou 2 minuty ponechána s fibrilací komor, poté 5 minut resuscitována stlačováním hrudníku pomocí přístroje LUCAS 2 bez ventilace a následně dle doporučených postupů ERC 2021 do obnovy spontánní cirkulace.

B) Před utrácením bude na 3 zvířatech zaveden intraoseální vstup do proximální epifýzy holenní kosti a provedeny 4 odběry krve. Sublingvální mikrocirkulace bude vyšetřována pomocí ručního stroboskopického mikroskopu fungujícího na principu SDF (Side-stream Dark Field imaging) za pomoci automatického software AVA 4.3C. Nahrávky budou hodnoceny off-line analýzou a získány hodnoty udávající hustotu kapilární sítě a její prokrvení (De Backer skóre a PPV index).

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

Nebudou. Nežádoucí účinky u zvířat nejsou očekávány. Navrhovaná klasifikace závažnosti pokusů je "zvíře nenabude vědomí". Po skončení pokusu budou zvířata usmrcena a kadavery budou smluvně odvezeny ke kafilernímu zpracování dle technologických postupů platných na FVZ.

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
prasata (Sus scrofa domesticus) [A14]	14	0	0	0

0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0

Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat		
	Opětovné použití	Navrácení do chovu, do přírodního stanoviště	Do zájmového chovu
prasata (Sus scrofa domesticus) [A14]	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty

Velká laboratorní zvířata (miniaturní prasata) nebudou probuzena z anestezie.

Po usmrcení bude kadavér smluvně odvezen ke kafilernímu zpracování.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat

Navrhované schéma experimentu nelze nahradit buněčným nebo jiným in vitro modelem, neboť je nutno sledovat odpověď na celooorganismové úrovni.

Omezení používání zvířat

Bude použito minimální nezbytné množství zvířat.

Počet zvířat na každou skupinu je daný, aby mohl být experiment statisticky vyhodnotitelný a odebraný biologický materiál byl dostačující na všechny laboratorní testy, a aby nemusel být pokus znovu opakován.

Šetrné zacházení se zvířaty

Po dobu celého experimentu bude zvíře v celkové anestezii, ke zvířeti bude přistupováno klidně. Zvířata nebudou opakovaně použita. Veškeré odběry biologického materiálu u malých hlodavců budou prováděny po eutanazii zvířete. Odběry periferní krve u prasete budou prováděna při hřbetní fixaci bez anestezie.

Použité druhy zvířat - vysvětlení

Je třeba využít velké zvíře, aby byly výsledky co nejvíce podobné stavu u člověka a přenositelné do humánní medicíny. Minimální počet pro statisticky významnou sílu používaných statistických testů je 6 zvířat v každé skupině (s vodíkem a bez vodíku). V plánu je použít 7 a 7 kusů zvířat. Budou použity prasata domácí, mladá vývojová stádia samic (tzv. piglet, cca 30–40 kg).