

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Efekt operační stabilizace na hojení zlomenin žeber u experimentálního modelu prasete

Doba trvání projektu pokusů Zahájení se předpokládá v okamžiku nabytí právní moci rozhodnutí o schválení projektu pokusů, ukončení 31. 12. 2020 v případě opětovného udělení oprávnění k používání pokusných zvířat.

Klíčová slova - maximálně 5 zlomenina žeber, žeberní dlahy, osteointegrace, histologie, biomechanika

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

	základní výzkum
x	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)

Hlavními cíli jsou:

1. Zhodnotit efekt dlahové fixace zlomenin žeber na proces kostní regenerace u prasat ve srovnání s konzervativní léčbou na základě výsledků histologické analýzy a biomechanických zkoušek zjistit, zda operační stabilizace žeber vede ke změnám fyziologického hojení zlomeniny žebra v důsledku manipulace s jeho povrchem, které předchází implantaci dlahy.
2. Pokud prokážeme signifikantně příznivější parametry kostní regenerace svalku žebra fixovaného dlahou, pak lze očekávat, že použití dlahové stabilizace hrudní stěny má své opodstatnění nejen u pacientů s rozsáhlým poraněním hrudní stěny (např. bloková zlomenina) z důvodu zlepšení ventilačních funkcí a zkrácení doby hospitalizace, ale také u pacientů se sériovou frakturou žeber z důvodu rychlejšího zhojení zlomeniny, a tím i redukce bolesti.

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)

Mnohočetné zlomeniny žeber se vyskytují u 39 % hrudních traumatických poranění a u 10 % všech traumatických poranění (J Bone Joint Surg Am. 2011;93(1):97-110). Pacienti s traumatickou zlomeninou žeber jsou často odkázáni na umělou plicní ventilaci (UPV) a prodloužený pobyt na jednotce intenzivní péče. Jsou vystaveni vyšší míře rizika incidence nozokomiální pneumonie a chronické bolesti plynoucí z rozvoje nonunion. Dosud stále mnohými operatery preferovaný konzervativní způsob léčby mnohočetných zlomenin žeber, tj. bez operační stabilizace, nezlepšuje výše popsané léčebné komplikace pacientů, a přispívá k ekonomicky náročné léčbě a rekonvalescenci. Operační dlahová fixace zlomenin žeber nabízí možné řešení těchto komplikací.

V našem projektu se zaměříme na studium histo-morfologických a biomechanických parametrů kostní regenerace sériové zlomeniny žeber u experimentálních zvířat a porovnáme tyto parametry u skupiny zvířat se zlomeninami fixovanými žeberní dlahou a bez fixace dlahou (konzervativní způsob léčby).

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Miniaturní prase v počtu 12 kusů.

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

Jako možné nežádoucí účinky předpokládáme bolest po zákroku či bolest při dýchání, ta však bude adekvátně tlumena analgetiky. Pro možné obtíže s dýcháním budou zvířata několik hodin po operaci sledována vyškoleným personálem a v případě výrazného zhoršení stavu bude adekvátně zasáhnuto. Protože zlomeniny žeber budou provedeny unilaterálně, očekáváme nižší pravděpodobnost výskytu těchto dýchacích potíží. Možnou komplikací je lokální infekce rány, které se však pokusíme předejít dodržováním hygienických podmínek a kontrolou stavu zvířat a ran. V případě rozvinutí systémové infekce či v případě výrazného zhoršení stavu zvířat bude pokus ihned ukončen.

Navrhovaná míra závažnosti je střední - osteotomie 10 žeber unilaterálně u 8 zvířat a 5 žeber u 4 zvířat.

Po ukončení experimentu budou zvířata v CA usmrcena podáním letální dávky Thiopentalu a KCl intrakardiálně. Po usmrcení budou odebrány vzorky tkání pro analýzy a kadaver bude v souladu s provozním řádem pracoviště uzavřen do neprodyšného obalu, uložen do mrazicího boxu a likvidován specializovanou asanační firmou.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Cílem projektu je zjistit, zda dlahová stabilizace zlomeniny žeber zajistí lepší regeneraci kostní tkáně v porovnání s konzervativní léčbou, tj. bez dlahové stabilizace. Kostní regenerace je proces zajišťovaný kostními buňkami a buňkami chrupavky. Ke správnému hojení přispívají dále buňky endotelové, imunitní a v určité míře i mezenchymální včetně fibroblastů (Injury. 2011; 42(6): 551-555). Současné dostupné alternativní a *in vitro* modely neumožňují vytvoření relevantní náhrady za experimentální zvíře, která by umožnila komplexní zhodnocení procesu hojení (v tomto projektu pomocí histologických kvantitativních technik), a zhodnocení biomechanických kvalit zhojené kostní tkáně.

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

Použití pokusných zvířat v plánovaném počtu 12 je minimální možné jak z hlediska získání dostatečného množství vzorků na histologickou analýzu a na biomechanické zkoušky, tak hlediska dostatečného množství opakování pro statistickou analýzu provedených měření.

Rozvržení zvířat do skupin je následující: Skupina s fixací obsahuje 8 zvířat. Na každém zvířeti provedeme 10 zlomenin a z toho 7 zhojených zlomenin bude použito pro histologickou analýzu a 3 pro biomechanickou analýzu. Skupina bez fixace obsahuje 4 zvířata. Na každém zvířeti provedeme 5 zlomenin a z toho 3 zhojené zlomeniny budou použity pro histologickou analýzu a 2 pro biomechanickou analýzu. Celkem tedy získáme 68 vzorků pro histologickou analýzu (56 s fixací vs. 12 bez fixace) a 32 pro mechanickou analýzu (24 s fixací vs. 8 bez fixace). Jednotlivá zvířata budou do projektu vstupovat postupně, max. po dvou kusech, a jakmile získáme dostatečnou statistickou signifikanci našich pozorování, nebudeme v dalších opakováních pokračovat, tj. nebudeme do projektu řadit další zvířata.

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.

Veškeré invazivní a bolestivé zákroky na experimentálních zvířatech (osteotomie žeber a stabilizace hrudní stěny u skupiny s fixací) budou probíhat v CA, před vyvedením z CA po ukončení zákroku bude pro optimální analgetický efekt použit interkostální blok (aplikace svodné anestezie do mezižeberního prostoru), který bude následně v pooperačním období doplněn minimálně 5-denní aplikací opioidních analgetik. Pooperační a následná péče o zvířata bude zajištěna kvalifikovaným personálem uživatelského zařízení. Po 3 týdnech (nebo po 4-8 týdnech, pokud bude dle výsledků první fáze potřeba dobu experimentu prodloužit) budou zvířata usmrcena způsobem uvedeným níže v CA a budou jim post mortem odebrány vzorky tkáně (zhojená žebra) pro následné analýzy.