

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ 7. 42 2018	
Název projektu pokusů	
Pooperační <i>in vivo</i> monitorace střevní anastomózy a miniinvazivní ošetření dehiscence – experimentální studie	
Doba trvání projektu pokusů	2018-2020
Klíčová slova - maximálně 5	miniprase, rektální anastomóza, <i>leakage</i> , miniinvazivní ošetření dehiscence
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
☒	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)	
Cílem experimentální studie je prokázat na prasečím modelu, že <i>in vivo</i> monitorace tkáňového metabolismu v oblasti střevní anastomózy může vést k časně diagnostice dehiscence. Tím může být eventuální sanační výkon indikován dříve a nemusí dojít k rozvoji těžké peritonitidy a sepse. Dále je v plánu ověřit význam méně invazivního ošetření dehiscence (transanální sutura, endoskopický klip) ve srovnání s klasickými chirurgickými přístupy (laparotomie, derivační výkon). Cílem je prokázat vyšší procento zachráněných anastomóz a nižší operační stres u výše uvedených metod pomocí sledování zánětlivé reakce organismu. Všechny tyto techniky vyžadují ověření na experimentálním modelu dříve, než budou zavedeny do klinické praxe.	
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)	
K tomu, aby mohly být nové miniinvazivní metody ošetření dehiscence anastomózy zavedeny do běžné klinické praxe, je nutné provést srovnávací studii s klasickými chirurgickými přístupy na relevantním experimentálním modelu. Vzhledem k tomu, že sledování metabolismu v oblasti anastomózy vyžadující invazivní měření jsou u člověka podstupující střevní resekční výkon nevhodná, je nezbytné tuto monitoraci provádět ve zvířecím experimentu. Obdobná studie doposud nebyla provedena a tento pokus je nenahraditelný a plně oprávněný. S ohledem na charakter chirurgického výkonu, velké množství odběrů a nutnou blízkou anatomickou příbuznost je použití laboratorního zvířete (laboratorní prase) nezbytné a nelze nahradit žádnou alternativní metodou. Dalším důvodem jsou srovnatelné hodnoty zánětlivých parametrů, které odrážejí reakci organismu. Výsledky experimentu na praseti jsou aplikovatelné pro lidské subjekty.	
Druhy a přibližné počty zvířat , jejichž použití se předpokládá	
Skupiny a počty zvířat: - kontrolní skupina (Sham) - anastomóza bez leaku – 7 zvířat (3 náhradní pro případ onemocnění) - kontrolní skupina – dehiscence anastomózy anastomózy - 14 zvířat (3 náhradní pro případ onemocnění). - jednotlivé intervenční skupiny A – transanální sutura + laparoskopická laváž B - transanální sutura + laparotomie a otevřená laváž dutiny břišní C – ošetření dehiscence pomocí endoskopického klipu – (Over-The-Scope klip - OTSC) D - chirurgická revize, dekonexe anastomózy Vždy – po 14 prasatech + 4 náhradní pro případ jejich onemocnění nebo selhání modelu.	
Počet prasat, max 95 jedinců, je nutný, jak k získání dostatečných zkušeností, tak i k statistické signifikanci a správné interpretaci dat. Celý projekt je rozložen na období 2018-2020	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Míra závažnosti experimentů je střední.	

Následky experimentální perforace tlustého a slepého střeva u miniaturního prasete jsou naším vědeckým týmem dostatečně prozkoumány a optimalizovány pomocí předcházejících experimentů. Zvířata budou po vytvoření rektální anastomózy a následného *leakage* dostávat léky s protizánětlivým a analgetickým účinkem Vetalgín nebo Flunixin (i.m.). Při jakémkoliv zhoršení zdravotního stavu bude zvířatům podáván Fentanyl (i.m.) nebo budou bezodkladně utracena. V experimentu budou použity jednak intaktní zvířata nebo zvířata z jiných mírně až středně závažných experimentů, u kterých nedošlo k narušení tělových dutin například experimenty na kůži případně svalově-kosterním aparátu po uplynutí několikátýdenní (5-8 týdnů) rekonvalescenci. Po ukončení experimentu budou zvířata usmrcena podáním letální dávky Thiopentalu a KCl případně omráčena jatečnou pistolí a vykřvena. Po usmrcení bude kadáver smluvně odvezen ke kafilernímu zpracování dle platných technologických postupů.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

V roce 2013 byla publikována práce popisující vytvoření nového prasečího modelu střevního úniku (*leakage*) po provedení anastomózy následující po resekci rekta (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23957829>). V této studii byla schopnost vytvořit *leakage* u prasat cca 30%. Provedení transanální rektosigmoidektomie pomocí jednoho laparoskopického portu nebo cirkulárního stapleru byly také demonstrovány pomocí prasat (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22751619>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25392669>). V roce 2011 byla také publikována vědecká práce o prasečím *leakage* tlustého střeva a jeho úspěšném primárním ošetření pomocí degradabilního stentu (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21706291>). *Ex vivo* bylo prasečí rektum použito také na otestování kyanoakrylátového lepidla pro zpevnění dostatečně i nedostatečně provedené anastomózy (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23736305>). Model totální kolektomie u prasat byl také použit na demonstraci efektivity side-to-side nitinol kompresní anastomózy (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23575914>). Většinou se prasata používají jako model na porovnání různých technik ošetření anastomózy se zaznamenáním komplikací (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24608308>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24385246>). Transanální radikální endoskopická resekce rekta na dvou prasatech byla vykonána v roce 2011, přičemž autoři pozorovali, že endoskopická resekce rekta u prasat není jenom technicky proveditelná ale taky bezpečná (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22776309>). Z přehledové práce z roku 2011 je patrné že potkan se jako modelové zvíře pro simulaci anastomózy tlustého střeva v důsledku poměrně silné rezistence vůči intra-abdominální infekci nehodí a myš nebo prase představuje vhodnější variantu (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21968050>). Z další studie vyplývá, že pro vytvoření prasečího modelu střevního *leakage* je potřebné vytvořit perforaci minimálně 21mm (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17106198>). Na druhé straně jiná studie poukazovala na určité rozdíly ve vytvoření komplikací (peritonitidy, absces, sepse) spojených s perforací nebo následnou ischemizací anastomózy u prasečího modelu (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19842904>). Žádné experimenty nebo studie se neopakují a nebudou opakovat. V databázi (<http://www.pubmed.org/web/go3r/>) jsme použitím klíčových slov: *pig, colon anastomosis leakage* nenalezli žádnou studii, kde by byly použity námi zamýšleny způsoby ošetření *leakage* rekta u preklinického modelu miniaturního prasete nebo prasete jako takového.

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

V předchozích studiích jsme optimalizovali počty experimentálních zvířat v jednotlivých skupinách (7-14ks). Uvedený počet zvířat je nezbytný pro vědecky zdokumentovanou variabilní odpověď prasat/miniprasat po experimentální perforaci tlustého střeva. Průběh experimentu a parametry modelu budou sledovány pomocí odběrů vzorků periferní krve, roztoku přes mikrodialyzační katetr a pomocí mikroendoskopu.

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.

Následky experimentální perforace tlustého a slepého střeva u miniaturního prasete jsou naším vědeckým týmem dostatečně prozkoumány a optimalizovány pomocí předcházejících experimentů. Zvířata budou po vytvoření rektální anastomózy a následného *leakage* dostávat léky s protizánětlivým

a analgetickým účinkem Vetalgín nebo Flunixin (i.m.). Při jakémkoliv zhoršení zdravotního stavu bude zvířatům podáván Fentanyl (i.m.) nebo budou bezodkladně utracena.