

Modely pro testování bezpečnosti a účinnosti přípravků na hojení ran – úvaha nad jejich výhodami a limity

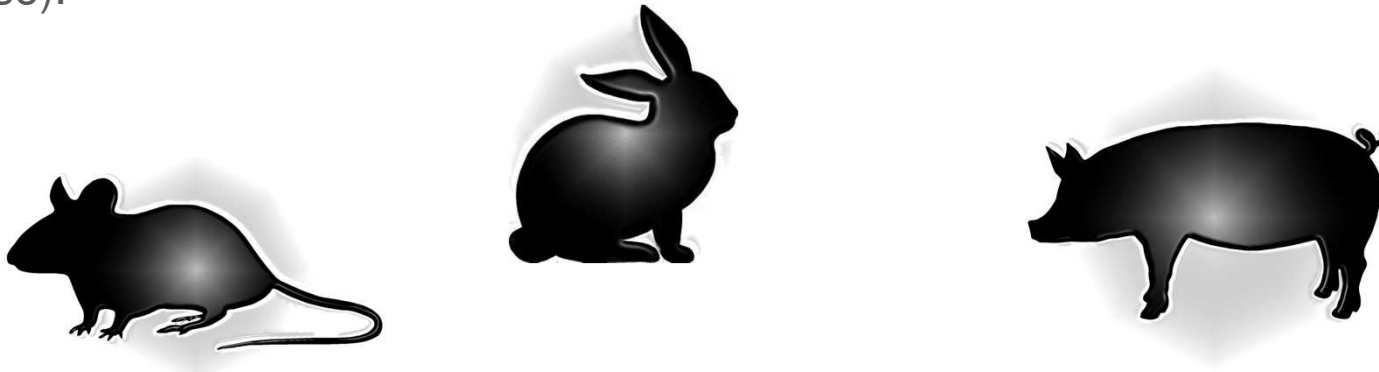
Část II – *in vivo* modely

Pavel Klein

pavel.klein@lfp.cuni.cz

Obecné charakteristiky zvířecích modelů hojení ran

Ve výzkumu hojení ran lze teoreticky využít celou řadu zvířecích modelů. V praxi jsou však rozšířená zejména běžná laboratorní zvířata (tj. myš, potkan, králík a prase).



Proces hojení u člověka lze věrně modelovat jen na lidském modelu! Při volbě zvířete je proto nutné počítat jak s limity vycházejícími z mezidruhových rozdílů, tak i s limity technického rázu

Obecné charakteristiky zvířecích modelů hojení ran

Myš (*Mus musculus*)

Výhody: dostupné, levné, dokonale charakterizované zvíře, vč. genomu. Možnost použít mutanty či GMO zvířata => detailní studium dílčích procesů regenerace a hojení. Možnosti modelovat proces hojení za patologických podmínek ! (diabetes II. typu). Zvíře lze získat s definovaným mikrobiálním statutem, existuje pro něj široká komerční dostupnost protilátek atd.

V zásadě platí to samé i pro potkana (*Rattus norvegicus*).



Obecné charakteristiky zvířecích modelů hojení ran

Myš a potkan

Pro ranhojičské experimenty mají ale myš a potkan několik zásadních **nevýhod**:

- Kůže myšovitých je od lidské velmi odlišná v morfologických i fyziologických parametrech => translace výsledků do humánní klinické praxe(?)
- Krátká doba hojení => omezené možnosti sledovat celý průběh hojení, vysoké nároky na uspořádání pokusu
- Technická omezení – rány lze umístit jen v dorsální krajině, fixace krytů, ochrana ran před poškozením zvířetem, bolestivost, atd.

Srovnání struktury kůže myši, potkana a člověka (*podle J Invest Dermatol 1990;95:582-6; Toxicol Appl Pharmacol 1982;62:481-8; Arch Dermatol Res. 1990;191:555-59*):

	Epidermis (μm)	<i>Stratum corneum</i> (μm)	Počet buněčných vrstev <i>S. corneum</i>	Počet vlasových folikulů / cm^2
Myš	$13,3 \pm 1,2$	$2,9 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,1$	658 ± 38
Potkan	$21,7 \pm 2,2$	$5,0 \pm 0,9$	$1,8 \pm 0,1$	289 ± 21
Člověk	$56,6 \pm 11,5$	$18,3 \pm 4,9$	$3,9 \pm 0,1$	11 ± 1

Obecné charakteristiky zvířecích modelů hojení ran

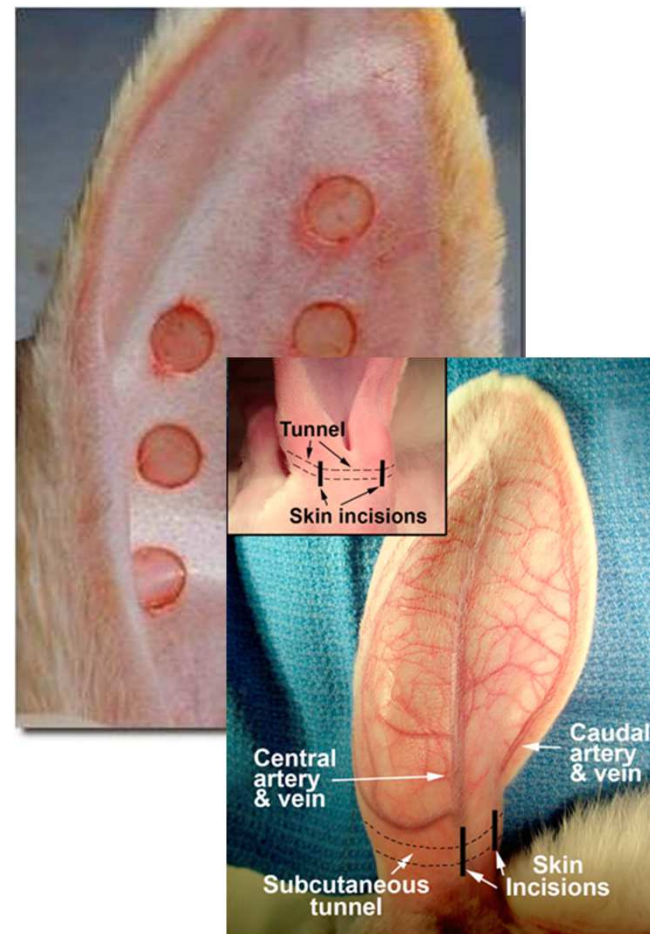
Králík (*Oryctolagus cuniculus*)

I u králíka je možné umístění ran v dorsální krajině. Ve srovnání s potkanem a myší však toto nepřináší žádné výhody

Vhodným místem pro umístění experimentálních ran u králíka je ucho (zejména vnitřní strana boltce).

Výhody: bezproblémová manipulace, velká plocha boltců = možnost využití obou boltců – např. jedna strana pokusná, druhá kontrolní.

Možnost modelovat hojení ischemických ran



Model ischemické rány na králičím uchu
(Chien: Wound Repair Regen. 2007;15:928-35)

Obecné charakteristiky zvířecích modelů hojení ran

Králík (*Oryctolagus cuniculus*)

Nevýhody: kůže na uchu je velmi tenká a u plnoprofilových ran tvoří spodinu rány chrupavka.

Na jednu stranu sice vzniká rána, která se nehojí kontrakcí, ale reepitelizací, avšak její profil je velmi odlišný od lidských ran (velmi tenká kůže bez podkožního tuku přímo na chrupavce).

Sporná translace výsledků do humánní medicíny



Obecné charakteristiky zvířecích modelů hojení ran

Prase (*Sus scrofa*)

Výhody: Prase má velmi podobnou stavbu kůže jako člověk a hojí se podobnými mechanismy (u plnoprofilových excizí převažuje epitelizace nad kontrakcí).

Výsledky získané z pokusů na prasatech jsou tak nejlépe extrapolovatelné do humánní medicíny!



Kostecké miniprase z chovu Výzkumného ústavu živočišné výroby v Kostelci nad Orlicí

	Epidermis (μm)	<i>Stratum corneum</i> (μm)	Number of cellular layers in <i>S. corneum</i>	Number of hair follicles/ cm^2
Mouse	$13,3 \pm 1,2$	$2,9 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,1$	658 ± 38
Rat	$21,7 \pm 2,2$	$5,0 \pm 0,9$	$1,8 \pm 0,1$	289 ± 21
Human	$56,6 \pm 11,5$	$18,3 \pm 4,9$	$3,9 \pm 0,1$	11 ± 1
Pig	$51,9 \pm 1,5$	$12,3 \pm 0,7$	$9,0 \pm 2,0$	11 ± 1

Obecné charakteristiky zvířecích modelů hojení ran

Prase (*Sus scrofa*)

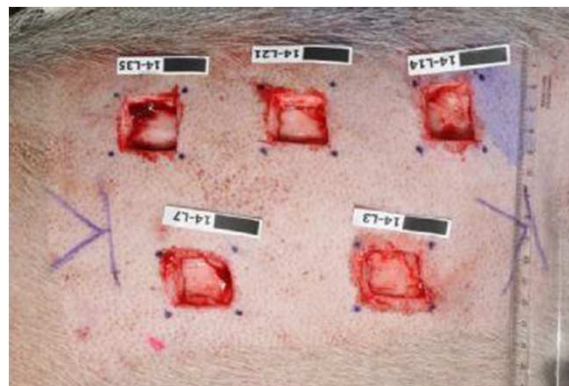
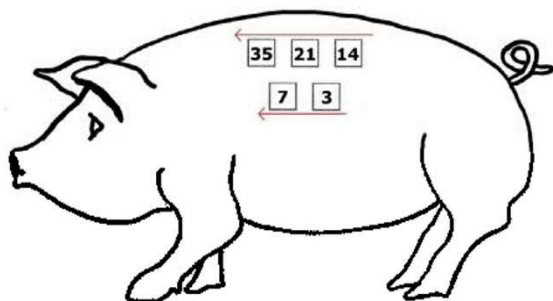
Výhody: U prasete lze modelovat i hojení některých komplikovaných ran. Existují modely diabetických ran (DM I i DM II), model ischemické rány a modely experimentálně infikovaných ran, dokonce s přítomností biofilmu



Osabawské prase je geneticky predisponováno k rozvoji DM II

Obecné charakteristiky zvířecích modelů hojení ran

Nevýhody: Prakticky jediné místo, kde lze praseti vytvořit více uniformních ran, je dorsální a/nebo dorsolaterální krajina



Rány zde lokalizované:

- neexsudují, od 10. dne jsou kryty strupem
- Velmi rychle se hojí – u zdravého zvířete je excize 25 x 25 mm plně zhojená za 3-4 týdny => vysoké nároky na dokumentaci průběhu hojení
- Samotná dokumentace ran je technicky velmi náročná – vyžaduje hlubokou sedaci, lépe však celkovou anestézií zvířat (rizika spojená s opakovaným použitím anestetik).

Obecné charakteristiky zvířecích modelů hojení ran

Nevýhody: prase zásadně nespolupracuje a má tendenci poškozovat si převazy. Fixace krytů musí být velmi důkladná



Děkuji za pozornost

pavel.klein@lfp.cuni.cz

tel.: 377 593 895