**Netehniskais kopsavilkums**

**Nosaukums: Jaunu hibrīda nanokompozītu materiālu testēšana *in vivo*,**

 **izmantojot mājas trušus**

**Mērķis:** Veicot testēšanu laboratorijas dzīvniekos - mājas trušos (*Oryctolagus cuniculus*) ar sekojošu kaulaudu radioloģisku un patomorfoloģisku izmeklēšanu, izstrādāt jaunu hibrīdu nanokompozītu implantu materiālu, kuram būs raksturīga augsta stiprība (iespējas izmantot arī ortopēdiskiem pielietojumiem), augsta stingrība, spēja rezorbēties un kas neuzrādīs iekaisumu reakcijas pacientos.

**Kaitējums:** stress dzīvnieku transportēšanas laikā no audzētavas uz pētījuma norises vietas novietni. Plānotās pamatprocedūras, kuras tiks veiktas vispārējā anestēzijā un analgēzijā. Dzīvnieks tiks transportēts uz operāciju zāli un tam tiks pievienotas inhalācijas narkozes un monitoringa iekārtas. Inhalācijas ceļā dzīvniekam tiks ievadīta pamatnarkoze. Ik pēc divām minūtēm tiks fiksēti dzīvnieka sirdsdarbības, asinsspiediena, skābekļa piesātinājuma asinīs, elpošanas frekvences un ķermeņa temperatūras rādītāji.

Uzsākot operāciju, tiks ievadīts pretsāpju medikaments, kura efekts ilgst 24 stundas.

Turpmāk tiek uzsāktas ķirurģiskās manipulācijas, kuru laikā stilba kaula diafīzes mediālajā apvidū tiks ievietoti divi implanti. Procedūru atkārtos arī otrai kājai. Pēcpoerācijas periodā izmēģinājuma dzīvnieku veselības stāvokli novēros veterinārārsts, kontrolējot dzīvnieku vispārīgo veselības stāvokli, kas ietver dzīvnieka klīnisko izmeklēšanu pēc vispārpieņemtās shēmas, ieskaitot ķermeņa temperatūru, gļotādu stāvokli, apetīti, dzertgribu, reakciju uz apkārtējo vidi, brūces dzīšanu u.c., Konstatējot neparedzētas izmaiņas, kas liecinātu par veselības stāvokļa pasliktināšanos un to, ka dzīvnieks izjūt ciešanas, tiks nodrošināta nepieciešamā veterinārmedicīniskā aprūpe, tai skaitā atbilstoša atsāpināšanas un antibakteriālo līdzekļu pielietošana. Izmitināšanas laikā barības uzņemšanas kontroli un veselības stāvokļa uzraudzību veiks arī dzīvnieku kopēji, veicot atzīmes dzīvnieku kartiņā, kā arī nekavējoties informējot veterinārārstu par jebkādām izmaiņām.

Pēcoperācijas periodā paredzēta ādas brūces ārējā apkopšana. Ādas brūces apkopšanu un vizuālo novērtēšanu veiks katru dienu pēcoperācijas periodā. Audu savienošanai uzliktās, pārtrauktās mezglu šuves plānots izņemt 10. dienā pēc operācijas, iepriekš izvērtējot brūces stāvokli.

Operācijas un pēcoperācijas periodā tiks veiktas visas iespējamās darbības lai maksimāli samazinātu dzīvniekam nodarīto kaitējumu.

Pēc procedūrasdzīvnieks tiek eitanizēts.

**Ieguvumi:** Pētījums sekmēs nākošās paaudzes implantmateriālu izstrādi, kuri raksturosies ar augstu mehānisko izturību, stingrību un tajā pašā laikā būs biorezorabli. Šāda veida materiālu izmantošana nākotnē samazinās atkārtotu operāciju veikšanu gadījumos, kad nepieciešams izņemt implantus pēc pagaidu fiksācijas. Realizējot projektu, tiks veicināta efektīvāku ārstniecības metožu pielietošana medicīnā, uzlabojot pacientu dzīves kvalitāti pēc smagu ķirurģisku – ortopēdisku operāciju veikšanas. Novēršot nepieciešamību pēc atkārtotas operācijas (implantu izņemšanas), samazināsies medicīniskie izdevumi un laiks, kuru pacients pavada stacionārā, pacients iespējami ātrāk varēs atgriezties aktīvā sadzīvē un darbā. Šo materiālu varēs pielietot arī veterinārmedicīnas praksē.

Šī projekta novitāte ir augstspiediena tehnoloģiju izmantošana zemās temperatūrās hibrīdu kalcija fosfātu nanodaļiņu un biorezorabla polimēra kompozītu iegūšanai ar augstu kalcija fosfātu saturu (robežās no 50 līdz 95%). Augstu spiedienu izmantošana nodrošinās saišu veidošanos starp organisko un neorganisko fāzi, tādejādi izveidojot homogēnu kompozītu ar teicamām īpašībām, atdarinot kaula uzbūvi, kur organiskā polimēra matrica nodrošinās elastību un stingrību un rezorablas kalcija fosfātu nanodaļiņas - biosaderību. Kā kalcija fosfāti tiks izmantotas nano-hidroksilapatīta nanodaļiņas, kas atdarina hidroksilapatīta daļiņas, kuras ir atrodamas cilvēku kaulos. Šo daļiņu sintēzei ir izstrādāta un patentēta unikāla mikroviļņu hidrotermālās sintēzes tehnoloģija, kas ir reģistrēta un uz kuru ir iesniegts patenta pieteikums.

Projektā laboratoriskos apstākļos ir izstrādāts jauns kompozītmateriāls, kurš sastāv no organiskās un neorganiskās daļas, kur organiskā daļa ir poli-L-laktāts, kas jau šobrīd tiek izmantots polimēra implantu ražošanā, un neorganiskā daļa ir kalcija deficīta hidroksilapatīta nanodaļiņas, kuru ķīmiskais sastāvs ir tuvs cilvēka kaulaudu minerālajai daļai un to biosaderība ir iepriekš pārbaudīta. Izstrādātais materiāls ir specifisks un unikāls poli-L-laktāta un hidroksilapatīta nanokompozīts, kur polimēra matricā ir disperģētas hidrokslapatīta nanodaļiņas.

**Dzīvnieku skaits un suga:** plānots izmantot 14 mājas trušus (*Oryctolagus* *cuniculus*), vīriešu kārtas dzīvniekus, vecumā no 8 mēnešiem, 4,00 – 5,00 kg dzīvsvarā, veidojot izmēģinājuma grupu (7 dzīvnieki) un kontrolgrupu (7 dzīvnieki). Pētījumā iekļautie 14 dzīvnieki ir minimālais skaits, kas nodrošina objektīvu pētījuma rezultātu izvērtējumu, analizējot iegūtos rezultātus.

Sekmīgu šo pētījumu nodrošina tikai dzīvie audi un šī iemesla dēļ šāda veida pētījumu nav iespējams veikt *in vitro*. Mazāka izmēra dzīvnieku (peļu, žurku, jūras cūciņu) izmantošana apgrūtina vai pat padara neiespējamu pētījumu tehniskā ziņā, arī apdraudot dzīvnieku veselību un dzīvību, kā arī atšķiras šo sugu un cilvēku audos novērojamās morfoloģiskās pārmaiņas.

Iepriekšējos eksperimentos izvērtētas un/vai izmēģinātas sekojošas alternatīvas metodes kompozītmateriāla komponenšu pētījumiem:

Projektā pētāmajam materiālam ir veikti *in vitro* eksperimenti akreditētā laboratorijā atbilstoši PN-EN ISO 10993-2009; USP/NF; PN-EN ISO 10993-12:2012 standartiem ar rezultātu “paraugs nav citotoksisks”.

***In vivo* eksperimenti** ir veikti projekta materiāla izstrādes partnerinstitūcijā Polijā, izmantojot zebras zivs (*Danio rerio*) 5 dienas vecus embrijus. kuriem tika implantēti stikla kapilāri, kas pārklāti ar dažāda izmēra GoHAp hidroksilapatīta nanodaļiņām, lai novērtētu osteoblasu aktivitātes izmaiņas ap implantu, ko varētu ierosināt nanoizmēra hidroksilapatīta pārklājums. Lielākā daļa no embrijiem izdzīvoja, bet specifiskas pārmaiņas ap implantēto kapilāru netika novērotas. Lai palielinātu iespējas novērot izmaiņas, sekojošajos eksperimentos izmantota tansģenētiska zivs līnija ar īpaši nosakāmu agrīnu osteoblastu marķieri (*osterix*). Arī šajā eksperimentā netika novērotas nekādas specifiskas pārmaiņas. Tālāk veicot *in vivo* eksperimentu, izmantojot zebras zivs (*Danio rerio*) embrijus, kur nanodaļiņu suspensijas tika ievadītas vidē, kurā uzturas embriji. Pēc novērošanas secināts, ka nanodaļiņu atrašanās apkārtējā vidē būtiski nav ietekmējusi organismu attīstību. No veiktajiem eksperimentiem secināts, ka, lai novērotu specifiskas pārmaiņas, ir nepieciešams vairākkārt ilgāks *in vivo* eksperimenta periods, vai cits dzīvnieku modelis.

Novērtēta iespēja arī veikt *in ovo* eksperimentus. Pētījumu gadījumā līdzīgu materiālu pētniecībā galvenokārt tiek analizēta asinsvadu veidošanās porainu implantu struktūrā un implantētā materiāla ietekme uz embrija attīstību. Šī plānotā eksperimenta gadījumā tiks izmantoti blīvi implanti un tādēļ nav racionāli veikt *in ovo* eksperimentus. Tāpat *in ovo* eksperimenti ir pārāk īsi (tie parasti ilgst līdz 20 dienām), lai novērtētu materiāla bionoārdīšanos un tā ietekmi uz apkārtējiem audiem, tai skaitā kaulaudiem.

Izmēģinājums notiks, sekojot pētījuma ietvariem, kurš ir izstrādāts, balstoties uz hibrīdu nanokompozītu implantu materiālu izstrādātāju, projekta partneru, sniegtajiem datiem un saskaņots ar izpildītāju. Šāds pētījums, saskaņā ar inovatīvā materiāla izstrādātāju sniegto informāciju, ir vienīgais, tādējādi procedūru dublēšana nav iespējama. Projekta sagatavošanā izskatīta informācija, kas pieejama “Web of Science”, “EBSCO HOST”, PubMed” un “ScienceDirect” datubāzēs un tika secināts, ka šādi pētījumi iepriekš nav tikuši veikti.

Jaunā materiāla implants, kura izstrādāšanas un izmēģinājuma laikā dažādās nozarēs tiek veikts arī nopietns zinātniskais darbs un pētījumi, pavērs plašas iespējas uzlabot un paaugstināt medicīniskās palīdzības līmeni, apgūt jaunas operāciju tehnikas, ko varam uzskatīt par lielu valstisku ieguvumu.