

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Echokardiografie a vliv renální denervace u Fawn-Hooded potkanů s chronickým srdečním selháním

Doba trvání projektu pokusů v měsících

24

Klíčová slova

echokardiografie

srdeční selhání

objemové a tlakové přetížení

renální denervace

aorto-kavální fistule

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Další základní výzkum [PB13]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Cílem projektu je studovat srdeční mechanismy pomocí echokardiografie, kdy budou sledovány změny na srdci, a to zejména změny na pravé a levé komoře srdeční, které budou vyvolané objemovým přetížením srdce skrze aorto-kavální píštěl (ACF). Dále bude pomocí echokardiografie sledován vliv oboustranné renální denervace (RDN) na funkci pravé a levé komory srdeční.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Získané poznatky by mohly najít uplatnění při vývoji nových selektivních léčebných terapií pravé a levé komory srdce při srdečním selhání.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Chirurgické zákroky a echokardiografie se budou provádět vždy v celkové anestézii: aorto-kavální píštěl (ACF) a renální denervace (RDN): calypsol (ketamin; 83 mg/kg) + midazolam (8,3 mg/kg), i.p.; neinvazivní echokardiografie: 2% isofluran, příp. kombinace calypsol (ketamin; 83 mg/kg) + midazolam (8,3 mg/kg), i.p. Prvních 24h po operacích budou aplikována analgetika (meloxicam, s.c., 1-2 mg/kg). Vlastní pokus bude trvat 16 týdnů: v den -35 absolvují 12ti týdenní zvířata první metabolické klece (MK 1), v den -33 poté podstoupí první ECHO (ECHO 1). ACF nebo Sham operace bude provedena v den -28, poté bude následovat ECHO 2 (v den -12), MK 2 (v den -7) a ECHO 3 (v den -5). Oboustranná renální denervace bude provedena 4 týdny po ACF, tedy v den 0. Následně zvířata podstoupí další metabolické klece a echokardiografická vyšetření: ECHO 4 (v den +9), MK 3 (v den +15), ECHO 5 (v den +23), ECHO 6 (v den +30), MK 4 (v den +36), MK 5 (v den +50), ECHO 6 (v den +52), MK 6 (v den +71) a ECHO 7 (v den +73). Do metabolických klecí budou zvířata umístěna vždy na 24 hodin. Pokus bude ukončen v den +74 dekapitací.

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

Po dobu celého pokusu neočekáváme výraznější změny v chování a stavu pokusných zvířat, které by vyžadovaly speciální opatření. Pro zmírnění pooperačních bolestí bude prvních 24h aplikován Meloxicam, s.c. (1-2 mg/kg). Vytvoření ACF a RDN představují miniinvazivní výkony (10-20min zákrok), s rychlým zotavením, ale s mortalitou cca 40 % v případě ACF a 10 % v případě RDN. Uvedená mortalita je následkem přechodného snížení krevního tlaku po vytvoření ACF a případného většího krvácení vyskytujícího se při vlastní operaci, či jako důsledek geneticky dané poruchy srážlivosti. Pro lepší zvládnutí pooperační rekonvalescence bude zvířatům podáván temperovaný komplexní rehydratační roztok Duphalyte (bolus 5-10 ml/kg), s.c. před samotnou operací a další tři dny po operaci v pitné vodě jako náhrada ztráty tekutin, elektrolytů, glukózy a vitaminů.

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
potkan laboratorní (Rattus norvegicus) [A2]	0	0	0	140

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	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty				
Anestézie a chirurgické zásahy ovlivňují/zvyšují koncentrace angiotenzinu II (které se budou v odebraných vzorcích měřit), proto budou na konci zvířata usmrcena dekapitací (nejrychlejší, bezbolestný a nestresující způsob usmrcení). Po ukončení pokusu budou mrtvoly laboratorních potkanů umístěny do kafilérního chladicího boxu a odstraněny dle standardních a zákonem vymezených podmínek (viz. akreditace našeho pracoviště). Pokusná zvířata nebudou opětovně použita v jiném projektu pokusu.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Plánované experimenty, které by měly přispět k objasnění strukturních a funkčních změn a vlivu renální denervace na pravou a levou komoru srdeční po vytvoření aorto-kavální fistule vedoucí k chronickému srdečnímu selhání, je možné provést pouze na experimentálních zvířecích modelech a v tomto rozsahu je nelze nahradit alternativním přístupem.				
Omezení používání zvířat				
Díky důslednému plánování a rozvržení pokusů, náležité péči o zvířata, a odborné a precizní práci bude počet zvířat snížen na statisticky přijatelné minimum. Iniciální n zvířat jsou určeno na základě statistických metod tak, aby byl minimalizován počet zvířat ve studii, ale zároveň abychom dokázali v průběhu a na konci experimentu získat dostatečné (ale ne zbytečně vysoké) n pro statistické zhodnocení výsledků této studie.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Budou použity ověřené a schválené operační postupy a vyšetření, se zvířaty bude po celou dobu nakládáno v souladu se zákonem, a to dle zákona České národní rady č. 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání v platném znění, osobami odborně způsobilými k těmto úkonům, a to tak, aby byla zajištěna maximální pohoda a dobrý zdravotní stav zvířat a minimalizovalo se utrpení a bolest zvířat.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Projekt bude proveden na laboratorních potkanech (samci; iniciační věk - 12 týdnů) kmene:

Fawn-Hooded (FH) - hypertenzní linie FHH a normotenzní linie FHL. Tyto dvě linie se liší vyšší systolického krevního tlaku a také vývojem poškození ledvin. FHH se vyznačuje zvýšenou hypertenzí (zvýšený krevní tlak), zvýšenou progresivní proteinurií a glomerulosklerózou. Zatímco normotenzní linie FHL je rezistentní k rozvoji hypertenze a renálního poškození a slouží jako kontrola pro FHH.

Experimentální model chronického srdečního selhání s redukovanou ejekční frakcí (HFrEF) bude navozen objemovým přetížením po vytvoření aorto-kavální fistule (ACF). Takto vytvořený experimentální model je optimální pro studium myokardu v progresi srdečního selhání.

Sham skupiny podstoupí stejnou operaci, ale bez vytvoření ACF a/nebo RDN.