

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Rozvoj chronického srdečního selhání v důsledku tlakového nebo objemového přetížení u laboratorního potkana.

Doba trvání projektu pokusů v měsících	60
Klíčová slova	Srdce
Chronické srdeční selhání	Infarkt myokardu
Tlakové přetížení	Objemové přetížení

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Kardiovaskulární krevní a lymfatický systém [PB2]

0
0
0

Cíle projektu pokusů

Kardiovaskulární onemocnění jsou důvodem více jak 50% úmrtí v populaci vyspělých zemí. Jednou z nejčastějších a nejzávažnějších příčin je chronické srdeční selhání (CSS). CSS má proto v současné době dominantní podíl na kardiovaskulární mortalitě. Je zřejmé, že snahou klinických i experimentálních kardiologů je nalézt způsoby, jak zpomalit rozvoj CSS různé etiologie. Cílem projektu bude analyzovat možnosti, jak zabránit rozvoji nebo alespoň zpomalit progresi CSS u laboratorních potkanů vystavených tlakovému nebo objemovému přetížení. V plánovaných experimentech se zaměříme na nativní (přirozené) kardioprotektivní intervence, jakými jsou adaptace na chronickou hypoxii a zvýšená fyzická zátěž. Dále budeme studovat úlohu nových farmak ovlivňujících expresi pro- a protizánětlivých eicosanoidů (prostaglandiny, epoxyeicosatenové kyseliny a jiné), budeme analyzovat modulátory energetického metabolismu (leptin, adiponektin, hypoxií indukovaný faktor 1 α , ketolátky a jiné), modulátory zánětu a oxidačního stresu. Experimenty budou prováděny jak u zdravých jedinců, tak u zvířat s různou formou hypertenze, metabolického syndromu a diabetu, neboť tyto onemocnění jsou nejčastějšími komorbiditami u pacientů s CSS.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Projekt je zaměřen na jednu z nejzávažnějších příčin úmrtí na kardiovaskulární onemocnění. Svými výsledky může významným způsobem přispět k objasnění nových terapeutických postupů v léčbě CSS, které bude možné uplatnit v klinické praxi.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

[A] CHIRURGICKÉ ZÁKROKY VEDOUcí K ROZVOJI CHRONICKÉHO SRDEČNÍHO SELHÁNÍ (CSS):

1. Infarkt myokardu, 2. Arteriovenózní spojení, 3. Konstriktce abdominální aorty v dospělosti, 4. Konstriktce abdominální aorty v časném postnatálním období.

[B] KARDIOPROTEKTIVNÍ INTERVENCE:

1. Adaptace na chronickou hypoxii, 2. Pravidelná fyzická zátěž, 3. Farmakologická léčba.

[C] ANALÝZA FUNKČNÍHO STAVU SRDCE:

1. Echokardiografie, 2. Katetrizační vyšetření srdce

Komplexní analýza rozvoje CSS různé etiologie bude trvat několik týdnů (max. 3 měsíce) od chirurgické intervence.

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

Všechny plánované zákroky mohou vést k přechodným bolestivým stavům, pooperačnímu stresu a dočasnému mírnému úbytku hmotnosti. Při práci se zvířaty bude dodržován tichý přístup a jemná manipulace. Zvířata budou anestetizována aplikací pentobarbitalu resp. inhalací isofluranu (případně éteru u mláďat) a ponechána v klidu pod dohledem až do nástupu účinné anestézie. Hloubka anestézie bude před zahájením experimentu kontrolována, experiment bude zahájen až po nástupu účinku anestézie do chirurgické tolerance (vymizení reakce na bolestivý podnět). Potkanům bude na konci chirurgického výkonu a následující 3 dny podávána analgezie. V prvních třech dnech od operace budou umístěni jednotlivě v klecích, v případě mláďat budou vráceny po probuzení k matce. Zdravotní stav bude opakovaně během dne kontrolován, a v případě výskytu jakýchkoliv zdravotních problémů, bude jejich aktuální zdravotní situace konzultována s veterinářem.

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	1800	0

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				
Na konci experimentu budou anestezizovaná zvířata (isofluran, 2 MAC) usmrcena zlomením vazů. Následně budou odebrány tkáně a orgány (krev, plazma, srdce, ledviny, plíce, kosterní sval) po další biochemické a histologické analýzy. Kadavery budou umístěny do sběrných nádob kafilerního boxu.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Vzhledem k nutnosti komplexního pohledu na studovanou problematiku nezbývá než použít laboratorní zvířata, z nichž nejvhodnější jsou laboratorní potkaní. Řada dostupných poznatků a využití transgenních modelů s jasně definovanými vlastnostmi umožní minimalizovat počty zvířat v experimentech. Alternativními metodami, bez využití laboratorních zvířat, nelze postihnout složitost studované problematiky.				
Omezení používání zvířat				
Počty zvířat na skupinu budou uzpůsobeny minimálním požadavkům na získání relevantních a statisticky prokazatelných výsledků, tj. 6-8 potkanů na biochemické a molekulárně-biologické analýzy; 8-12 potkanů na fyziologická měření. Tyto počty a finální sdílení tkání umožní výrazným způsobem zredukovat počty zvířat.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Experimenty budou provedeny v souladu s etickými hledisky. Při práci se zvířaty bude dodržován tichý přístup a jemná manipulace. Zvířata budou anestezizována aplikací pentobarbitalu resp. inhalací isofluranu (případně éteru u mláďat) a ponechána v klidu pod dohledem až do nástupu účinné anestézie. Hloubka anestézie bude před zahájením experimentu kontrolována, experiment bude zahájen až po nástupu účinku anestézie do chirurgické tolerance (vymizení reakce na bolestivý podnět). Potkanům bude na konci chirurgického výkonu a následující 3 dny podávána analgezie (viz bod 7). V prvních třech dnech od operace budou umístěni jednotlivě v klecích, v případě mláďat budou vráceny po probuzení k matce. Zdravotní stav bude opakovaně během dne kontrolován, a v případě výskytu jakýchkoliv zdravotních problémů, bude jejich aktuální zdravotní situace konzultována s veterinářem.				
Použití druhů zvířat - vysvětlení				

K experimentům budou použiti dospělí samci laboratorního potkana (stáří cca 3 měsíce) nebo mláďata ve stáří 2-10 dní od narození. Použití mláďat umožní dobře modelovat rozvoj CSS v důsledku tlakového přetížení během vývoje, což velmi dobře koreluje s podobnými stavy v důsledku vrozených srdečních vad u lidí. Pokusy plánujeme provádět u normotenzních outbredních potkanů kmene Wistar, Sprague-Dawley (SD) nebo Brown-Norway (BN). Dále budou používáni Ren-2 transgenní potkani (TGR) (modelový organismus angiotenzin II dependentní hypertenze), spontánně hypertenzní potkani (SHR) (modelový organismus geneticky podmíněné hypertenze a metabolického syndromu) a transgenní jedinci odvození od SHR (kmeny SHR-DAPIT, SHR-CRP a jiné) v rámci spolupráce s odd. Genetiky modelových organismů Fyziologického ústavu AV ČR a IKEM Praha. Řada dostupných poznatků a využití transgenních modelů s jasně definovanými vlastnostmi umožní minimalizovat počty zvířat v experimentech.