

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Vliv kardioprotektivních intervencí na akutní ischemicko-reperfuční poškození srdce u laboratorního potkana a myši

Doba trvání projektu pokusů v měsících	60
Klíčová slova	Srdce
Ischémie	Infarkt myokardu
Komorové arytmie	Kardioprotekce

Účely projektu pokusů

Translační a aplikovaný výzkum: Kardiovaskulární poruchy u lidí [PT23]

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 akutní infarkt myokardu (AIM). AIM má proto v současné době dominantní podíl na kardiovaskulární mortalitě. Je zřejmé, že snahou klinických i experimentálních kardiologů je nalézt způsoby, jak zabránit vzniku AIM. Cílem projektu bude analyzovat možnosti, jak zvýšit ischemickou toleranci srdce u laboratorních hlodavců. 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, epoxygenové kyseliny a jiné), budeme analyzovat modulatory energetického metabolismu (leptin, adiponektin, HIF-1 α , ketolátky a jiné), modulatory 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 AIM.

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 AIM, které bude možné uplatnit v klinické praxi.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

[A] CHIRURGICKÉ ZÁKROKY UMOŽŇUJÍCÍ TESTOVÁNÍ AKUTNÍ ISCHEMICKÉ TOLERANCE SRDCE:

1. Akutní infarkt myokardu in vivo, 2. Akutní infarkt myokardu ex vivo, 3. Izolace komorových kardiomyocytů

[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 preventivních kardioprotektivních intervencí bude trvat max. 6 týdnů před testem ischemické tolerance srdce.

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

Pro echokardiografické a katetrizační vyšetření srdce budou zvířata uvedena do inhalační anestézie isofluranem. Vlastní echokardiografie nezpůsobuje bolestivé podněty, nicméně anestézie je nutná z důvodů imobilizace jedinců při vyšetření. Potkani a myši budou uvedeni do hluboké anestézie pentobarbitalem sodným v případě chirurgických výkonů v hrudní dutině. Hloubka anestézie bude před zahájením experimentu kontrolována, experiment bude zahájen až po nástupu účinku anestézie do chirurgické tolerance (vymizení reakce na bolestivý podnět). Na konci experimentu budou anestetizovaná zvířata (isofluran nebo pentobarbital) usmrcena zlomením vazů.

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]	1000	600	0	0

myš laboratorní (Mus musculus) [A1]	500	300	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 anestetizovaná 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 potkani a myši. 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 anestetizována aplikací pentobarbitalu resp. inhalací isofluranu 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).				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

K experimentům budou použiti dospělí samci laboratorního potkana nebo myši (stáří cca 3 měsíce). 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. Dále budou použity myši kmene C57B6 a transgenní kmeny s delecí pro transkripční faktor HIF-1a (spolupráce s Biotechnologickým ústavem AV ČR). Řada dostupných poznatků a využití transgenních modelů s jasně definovanými vlastnostmi umožní minimalizovat počty zvířat v experimentech.