

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Vliv doxorubicinu na přežívání a renální funkce u potkanů kmenů TGR (mRen2)27 a Hannover Sprague-Dawley.

Doba trvání projektu pokusů v měsících	20	
Klíčová slova	doxorubicin	
tlakově-natriuretický systém ledvin	ledviny	
autoregulace	epoxyeikosatrienové kyseliny	

Účely projektu pokusů

Translační a aplikovaný výzkum: Urogenitální/reprodukční poruchy u lidí [PT29]

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

0

0

Cíle projektu pokusů

Doxorubicin je cytostatikum používané k léčbě karcinomu prsu, nádorů močového měchýře, plic a jiných nádorů včetně mnohočetného myelomu, lymfomů nebo akutní lymfoidní leukemie. Se vzrůstajícím počtem pacientů po léčbě doxorubicinem se více pozornosti věnuje jeho krátkodobým i dlouhodobým toxickým účinkům – především pak kardiotoxicitě a nefrotoxicitě. Cílem projektu je otestování vlivu doxorubicinu na přežívání a předpokládané zhoršení exkrečních a autoregulačních ledvinových funkcí u hypertenzního kmene TGR (mRen2)27 zkráceně TGR ve srovnání s normotenzními potkany kmene Hannover Sprague-Dawley zkráceně HanSD. Kromě samotného výzkumu rozvoje chronického srdečního selhání a s ním souvisejích zhoršení renálních funkcí, bychom se chtěli v našem projektu také soustředit na potenciální a v literatuře nadějně popisovaný kardio- a renoprotektivní účinek metabolitů kyseliny arachidonové: epoxyeikosatrienových kyselin (EETs).

Potenciální přínosy projektu pokusů

Projekt by měl přinést detailnější pohled na úlohu ledvin v hemodynamice u raného i pozdního stadia kardiotoxicky indukovaného srdečního selhání po léčbě doxorubicinem se zvláštním zřetelem na hypertenzi jakožto přítěžujícího faktoru.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Osmítýdenním zvířatům (v rámci pokusu v týdnech -2 až 0) bude během 14 dnů podáván intraperitoneálně doxorubicin nebo fyziologický roztok v celkem 6 rovnoměrně rozdělených dávkách (každá dávka 2,5 mg doxorubicinu/kg). Kumulativní dávka doxorubicinu bude 15 mg/kg (v literatuře obvyklá). PO léčbě budou zvířata zařazena buď do přeživacího nebo akutního experimentu.

Přeživací experiment:

Rozvoj postupné kardiomyopatie a tím i případného ledvinového poškození u našich experimentálních modelů v důsledku léčby doxorubicinem bude nejprve sledován u série zvířat v tzv. přeživacím protokolu. Po počátečním zaléčení doxorubicinem budou zvířata ponechána dále ve zvěřinci za standardních chovných podmínek a budou pouze sledovány jejich fyziologické funkce neinvazivním způsobem pomocí pravidelných 24 hodinových měření v metabolických klecích (změna váhy, aktivity, množství vyloučené moče, albuminurie, příjem potravy a tekutin) v týdnech 2, 6, 10, 14, 28, případně 48, v závislosti na dožití jednotlivých zvířat. Veškerá přeživší zvířata budou v týdnu 30 (pro kmen TGR) a v týdnu 50 (pro kmen HanSD) usmrcena dekapitací a následně

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

Očekáváme celkové zhoršení stavu zvířat po podání doxorubicinu, především pak zhoršení srdeční funkce. Zvířata budou pravidelně monitorována a v případě zaznamenání moribundního stavu se usmrtí.

Klasifikace závažnosti pokusu: závažná

Zvířata budou usmrcena dekapitací nebo předávkováním anestetiky. Kadávery budou umístěny do kafilerního chladicího boxu a odstraněny dle standardních a zákonem vymezených podmínek (viz akreditace našeho pracoviště).

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	132	0	275

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 pokusu budou všechna zvířata utracena předávkováním anestetikem nebo dekapitací za účelem biometrických měření orgánů a odebrání vzorků tkání na následné biochemické analýzy.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat

Tyto pokusy lze provést pouze in vivo a nelze je nahradit alternativními metodami, protože pouze in vivo lze pozorovat změny struktury a funkce myokardu a ledvinového parenchymu v důsledku rozvíjejícího se chronického srdečního selhání.

Omezení používání zvířat

Díky precizním a šetrným postupům bude použit pouze počet zvířat nutný k provedení pokusu.

Šetrné zacházení se zvířaty

Se zvířaty bude zacházet pouze odborně proškolený personál. Chirurgická příprava akutního pokusu bude provedena v celkové anestezii a ukončení pokusu bude předávkováním anestetikem, aniž by zvířata nabyla vědomí. V přežívacím pokusu budou zvířata usmrcena dekapitací, která je potřebná z důvodu následných biochemických analýz, které by jinak byly ovlivněny anestetiky. Zvířata budou umístěna do zvěřince malých zvířat, kde je pravidelně monitorován zdravotní stav a zoohygienické parametry jako teplota, vlhkost, světelný režim. V případě záznamu moribundního stavu budou zvířata usmrcena.

Použité druhy zvířat - vysvětlení

Laboratorní potkan (*Rattus norvegicus*) je standardně využíván pro studium regulace krevního tlaku, renálních a srdečních funkcí. Kmen Hannover Sprague Dawley Rat je používán v naší i v řadě světových laboratořích řadu let a je vhodný k navrhovaným studiím tohoto projektu. Kmen TGR je optimální model umožňující sledování rozvoje kardiomyopatie po podání doxorubicinu na podkladu monogenní formy hypertenze. Zvířata budou do pokusu zařazena ve věku 8 týdnů, pokus bude ukončen ve věku 12 týdnů v případě akutního renálního experimentu nebo ve věku 40 týdnů u kmene TGR a ve věku 60 týdnů u kmene HanSD v případě dlouhodobého přeživacího protokolu.