

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Renovaskulární hypertenze a srdeční selhání: charakteristika kombinovaného experimentálního modelu

Doba trvání projektu pokusů v měsících	29	
Klíčová slova	renovaskulární hypertenze	
aorto-kavální fistule	renin-angiotenzinový systém	
sympatický nervový systém	0	

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Další základní výzkum [PB13]

0
0
0

Cíle projektu pokusů

Lidská renovaskulární hypertenze je podle statistik nejčastější formou sekundární hypertenze u lidí 60+, kteří jsou zároveň nejvíce ohroženi rozvojem chronického srdečního selhání. Proto hlavním cílem této studie je charakterizovat experimentální model renovaskulární hypertenze spojený se srdečním selháním. Celá studie je rozdělena do několika fází:

1. Nejdříve si ověříme výši krevního tlaku u jedinců s 2K1C renovaskulární hypertenzí a budeme sledovat, jak ho ovlivní vytvoření aorto-kavální fistule (ACF).
2. Pro hlubší charakteristiku modelu provedeme řadu biochemických analýz hodnotících úlohu renin-angiotenzinového systému (RAS) a sympatického nervového systému (SNS).
3. V další fázi budeme sledovat přežívání.
4. V poslední fázi se zaměříme na renální funkce.

Získané poznatky měly přispět nejen k vývoji nových terapeutických postupů, ale být prospěšné i v prevenci.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Získané poznatky měly přispět nejen k vývoji nových terapeutických postupů, ale být prospěšné i v prevenci.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Chirurgické zákroky se budou provádět v celkové anestézii:

1. kombinace zoletilu (14,7 mg/kg) a xylazinu (4,1 mg/kg), i.m. – navození Goldblattovské hypertenze (2K1C; naložení svorky na pravou renální arterii)
 2. midazolam (5 mg/kg) + calypsol (ketamin; 50 mg/kg), i.p. – vytvoření aorto-kavální fistule (ACF)
 3. thiopental (10-50 mg/kg), i.p. – měření tlaku, akutní renální pokus, končí předávkováním anestetikem
 4. meloxicam (1-2 mg/kg), s.c. – analgetikum, které bude aplikováno po dobu 2-3 dnů od všech operací, doba působení – 24 h
- thiopental (150 mg/kg), i.p. – usmrcení předávkováním, s následnou exsanguinací

Ve věku 6 týdnů bude dvěma skupinám potkanů navozena Goldblattovská hypertenze naložením svorky na renální arterii (2K1C; týden -3) - laparotomie. Tři týdny poté, ve věku 9 týdnů, bude jedné kontrolní skupině a jedné skupině s naloženou svorkou vytvořena ACF (týden 0) - laparotomie. Kontrolní (sham) zvířata podstoupí stejné operace, ale bez naložení svorky a/nebo navození

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

V průběhu pokusu se mohou objevit změny ve zdravotním stavu pokusných zvířat z důvodu vysokého krevního tlaku a chronického srdečního selhání. Zvířata budou umístěna ve zvěřinci malých laboratorních zvířat, kde jsou monitorovány všechny parametry nutné pro dlouhodobý pobyt zvířat (teplota, vlhkost, vzduch, atd.). Pro zmírnění pooperačních bolestí budou po dobu 2-3 dnů po operaci aplikována analgetika (meloxicam, s.c.). 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. Po operacích budou zvířata každý den kontrolována adspekci (naježenost, čistota očí a nozder, jas oka, chování/aktivita, vzhled a hojení operační rány). V případě zaznamenání moribundního stavu budou zvířata usmrcena (s výjimkou přeživacího protokolu).

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	125	205

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 zvířata usmrcena předávkováním anestetiky (série 1 a 4) nebo dekapitací z důvodu ovlivnění plazmatické a renální koncentrace angiotenzinu II (série 2 a 3) s následným odběrem krve a orgánů. Po ukončení pokusů budou kadavry laboratorních potkanů umístěny do kafilénního chladicího boxu a odstraněny dle standardních a zákonem vymezených podmínek (viz. akreditace našeho pracoviště). Pokusná zvířata nebudou opětovně použita v jiném projektu.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Plánované experimenty, které by měly charakterizovat experimentální model renovaskulární hypertenze spojený se srdečním selháním, je možné provést pouze na experimentálních zvířecích modelech a v tomto rozsahu je nelze nahradit alternativním přístupem.				
Omezení používání zvířat				
Díky přesně naplánovaným a dobře rozvrženým pokusům, odborné a precizní práci, správné a šetrné péči o zvířata bude jejich počet snížen na statisticky přijatelné minimum. Iniciální n zvířat jsou určena 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. Při chirurgických zákrocích bude použita dostačující dávka ověřené kombinace anestetik, s ohledem na tělesnou hmotnost zvířete. Po operacích (naložení svorky, vytvoření ACF) budou zvířata až do nabytí vědomí umístěna na vyhřívací podložku pro udržení tělesné teploty. Poté budou přemístěna zpět do zvěřince malých laboratorních zvířat, kde bude chovatelkou každodenně sledován a vizuálně hodnocen jejich zdravotní stav. Pro zmírnění pooperačních bolestí bude po dobu prvních 2-3 dnů aplikován meloxicam (1-2 mg/kg), dále dle stavu zvířete a doporučení veterinárního lékaře.				
Použití druhů zvířat - vysvětlení				

Laboratorní potkan je standardně využíván pro studium mechanismů patofyziologie srdečního selhání a onemocnění ledvin. Jsou vytvářeny experimentální modely, které se blíží řadě klinických scénářů z humánní medicíny. V tomto projektu bude použit model renovaskulární hypertenze v kombinaci s chronickým srdečním selháním (objemové přetížení srdce pomocí aorto-kavální fistule) u normotenzních HanSD potkanů s normální aktivitou RAS - samci; iniciační věk - 6 týdnů; kmen: Hannover Sprague-Dawley potkani (HanSD).