

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Účinky léčby stimulatorem solubilní guanylat cyklázy BAY 41-8543, podávané samostatně nebo v kombinaci s inhibitory angiotenzin-konvertujícího enzymu, na průběh srdečního selhání, následně vyvolanou dysfunkcí ledvin a na aktivaci lokálního reninu.

Doba trvání projektu pokusů v měsících

39

Klíčová slova

aorto-kavální fistule

stimulátor sGC

ANG II-dependentní hypertenze

srdeční selhání s redukovanou ejekční frakcí

renin-angiotenzinový systém

Účely projektu pokusů

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

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Hlavním cílem této studie je vyhodnotit účinky léčby samotným stimulatorem solubilní guanylatcyklázy (sGC; BAY 41-8543), a nebo v kombinaci s inhibitory angiotenzin-konvertujícího enzymu (ACEi; RAS inhibice; gopten), v progresi srdečního selhání u transgenních potkanů (TGR) s angiotenzin II-dependentní formou hypertenze a aorto-kavální fistulí (ACF). Solubilní GC hraje klíčovou úlohu v aktivaci cyklického guanosin monofosfátu (cGMP) v signální cestě oxidu dusnatého (NO), potažmo v regulaci kardiovaskulárního systému.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Získané poznatky by měly přispět nejen k vývoji nových terapeutických postupů v léčbě chronického srdečního selhání a s ním spojeného poškození ledvin, ale také být prospěšné v prevenci.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Chirurgické zákroky a echokardiografie se budou provádět v celkové anestézii:

1. midazolam (5 mg/kg) + calypsol (ketamin; 50 mg/kg), i.p. – vytvoření aorto-kavální fistule – 1x; zákrok trvá cca 10-15 min
 2. kombinace zoletilu (12,5 mg/kg) a xylazinu (3,5 mg/kg), i.m. – implantace radiotelemetrických sond – 1x; zákrok trvá cca 10-15 min
 3. 2% isofluran (inhalační anestézie) – neinvazivní echokardiografie – 4x během pokusu; cca 15 min
 4. pentobarbital (60 mg/kg), i.p. – katetrizační vyšetření srdce (P-V analýza), provádí se na konci celého experimentu, po tomto vyšetření již potkan nenabude vědomí, je utrácen předávkováním anestetikem a exsanguinací, spojenými s odběrem krve a orgánů.
 5. thiopental (10-50 mg/kg), i.p. – akutní renální pokus, končí předávkováním anestetikem
- Během první části projektu budou zvířata opakovaně (5x) umístěna na 12h do metabolických klecí, s neomezeným přístupem k pitné vodě/léčivům, budou vážena a bude sbírána moč; 2x během této doby bude potkanům odebrána krev z ocasní žíly.

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 zvířatům aplikován Meloxicam, s.c.,

2 mg/kg, doba působení – 24 hodin. Farmaka podávaná v pitné vodě by neměla zhoršovat stav zvířat.

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	646	292
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 všech sérií pokusů budou zvířata usmrcena buď dekapitací (Série 0) nebo předávkováním anestetiky (Série 1, 2 a 3) s následným odběrem krve a orgánů. Po ukončení pokusů 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.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Plánované experimenty, které by měly přispět k poznání endogenních mechanismů odpovědných za chronické srdeční selhání a předpokládaného prospěšného účinku léčby stimulatorem sGC, je možné provést vzhledem k nutnosti komplexního pohledu pouze na experimentálních zvířecích modelech a v tomto rozsahu je nelze nahradit alternativním přístupem. Pouze in vivo lze pozorovat změny srdečních funkcí a tkáňového poškození ledvin u experimentálního modelu srdečního selhání.				
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.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Projekt bude proveden na laboratorních potkanech (samci; iniciační věk - 9 týdnů) kmene:

Ren-2 transgenní potkani (TGR) jsou model monogenetické hypertenze charakterizovaný zvýšenou tkáňovou aktivitou renin-angiotenzinového systému (RAS) a je to optimální model pro studium úlohy RAS v patofyziologii progresu chronického srdečního selhání a chronického onemocnění ledvin.

Transgen-negativní potkani (HanSD) budou sloužit jako kontrolní, normotenzní zvířata s normální aktivitou RAS.

Experimentální model chronického srdečního selhání s redukovanou ejekční frakcí (HFrEF) bude navozen objemovým přetížením po vytvoření aorto-kavální fistule (ACF).