

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

interventrikulární rozdíly v odpovědi na objemové přetížení a elektrenální denervace u experimentálního modelu srdečního selhání s redukcí srdeční frakce

Doba trvání projektu pokusů v měsících

12

Klíčová slova

interventrikulární rozdíly

srdeční selhání

objemové a tlakové přetížení

renální denervace

aorto-kavální fistule

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Další základní výzkum [PB13]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Hlavním cílem tohoto projektu je posoudit vztah mezi arteriální zátěží (systémovou a plicní), komorovou funkcí (pravou a levou) a molekulárními markery remodelace myokardu u potkanů s hypertenzí a objemovým přetížením (ACF TGR) pomocí tlakově-objemové (P-V) analýzy. Dalším cílem je posoudit vliv oboustranné renální denervace (RDN) na funkci pravé a levé komory srdeční pomocí P-V analýzy a objasnit, zda předpokládané zlepšení funkce komory po RDN je výsledkem sníženého afterloadu („dotížení“) nebo zda má RDN skutečný vliv na kontraktilitu srdce.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Získané poznatky by mohly najít uplatnění při vývoji nových selektivních léčebných terapií pravé a levé komory srdce při srdečním selhání.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Chirurgické zákroky a echokardiografie se budou provádět vždy v celkové anestézii:

1. calypsol (ketamin; 42 mg/kg) + midazolam (4,2 mg/kg), i.p. – vytvoření aorto-kavální fistule (ACF; 15 min), neinvazivní

echokardiografie (ECHO; 15 min) a renální denervace (RDN; 20 min)

2. thiopental (60-80 mg/kg), i.p. – katetrizační vyšetření srdce (P-V analýza; 120 min), 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

Vlastní pokus bude trvat 3 týdny: v den -7 zvířata podstoupí první ECHO a bude jim vytvořena ACF – v den 0 podstoupí druhé ECHO a poté oboustrannou renální denervaci – v den +7 podstoupí třetí ECHO – v den +14 podstoupí čtvrté echo, které bude doplněno P-V analýzou a pokus bude ukončen.

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 bude prvních 24h aplikován Meloxicam, s.c. (1-2 mg/kg). Vytvoření ACF a RDN představují

miniinvazivní výkony (10-20min zákrok), s rychlým zotavením, ale s mortalitou cca 30 % v případě ACF a 5 % v případě RDN.

Uvedená mortalita je následkem přechodného snížení krevního tlaku po vytvoření ACF a případného většího krvácení vyskytujícího se při vlastní operaci.

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	100	60
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 bude po echokardiografickém vyšetření provedena tlakově-objemová (P-V) analýza, ze které zvíře již nenabude vědomí, bude předávkováno anestetiky. 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 pokusu.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Plánované experimenty, které by měly přispět k objasnění mezikomorových rozdílů a vlivu renální denervace na pravou a levou komoru při srdečním selhání po vytvoření aorto-kavální fistule, 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.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Projekt bude proveden na laboratorních potkanech (samci; iniciační věk - 8 týdnů) kmene:

Ren-2 transgenní potkani (TGR) - představují model monogenní formy hypertenze charakterizovaný zvýšenou tkáňovou aktivitou renin-angiotenzinového systému (RAS). V 8. týdnu po narození má tento model TGR potkanů plně vyvinutou hypertenzi (vysoký krevní tlak).

Experimentální model chronického srdečního selhání s redukovanou ejekční frakcí (HFrEF) bude navozen objemovým přetížením po vytvoření aorto-kavální fistule (ACF). Takto vytvořený experimentální model je optimální pro studium myokardu v progresi srdečního selhání.

Sham skupiny podstoupí stejnou operaci, ale bez vytvoření ACF a RDN.