

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Vliv léčby blokátorem endotelinových receptorů u experimentálního modelu kombinovaného chronického ledvinného a srdečního selhání.

Doba trvání projektu pokusů v měsících	19
Klíčová slova	5/6 nefrektomie
aorto-kavální fistule	endotelinový systém
chronické renální selhání	chronické srdeční selhání

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 endotelinovým blokátorem a/nebo inhibitorem angiotenzin-konvertujícího enzymu na přežívání potkanů s kombinovaným chronickým selháním ledvin a srdce. Pokud se tyto dvě choroby sejdou u člověka najednou, bývá pro něho průběh velmi nepříznivý. Zjištěná data budou základem pro další experimenty. Získané poznatky by měly přispět nejen k vývoji nových terapeutických postupů v léčbě chronického ledvinného a srdečního selhání, ale také být prospěšné v prevenci.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Získané poznatky by měly přispět nejen k vývoji nových terapeutických postupů v léčbě chronického ledvinného a srdečního selhání, ale také být prospěšné 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. – 5/6 nefrektomie (5/6 NX)
2. midazolam (5 mg/kg) + calypsol (ketamin; 50 mg/kg), i.p. – vytvoření aorto-kavální fistule (ACF)
3. butorfanol (2 mg/kg), s.c. – analgetikum podávané po 5/6 NX, doba působení – 4h, podáván bude po dobu prvních 2-3 dnů po operaci a dále dle stavu zvířete a doporučení veterináře
4. thiopental (150 mg/kg), i.p. – usmrcení předávkováním, s následnou exsanguinací

Přeživací protokol – ve věku 8 týdnů bude všem potkanům, vyjma kontrolní skupiny, provedena 5/6 NX (týden -6) a čtyři týdny poté bude navozena ACF (týden -2). Kontrolní (sham) zvířata podstoupí stejné operace, ale bez 5/6 NX a navození ACF. Po dalších dvou týdnech, v den 0 budou zvířata náhodně rozdělena do experimentálních skupin a bude zahájena léčba. Léčiva budou u experimentálních skupin podávána v pitné vodě.

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. Zvířata budou umístěna ve zvířinci malých laboratorních zvířat, kde jsou monitorovány všechny parametry nutné pro dlouhodobý pobyt zvířat (teplota, vlhkost, vzduch, atd.). Pro zmírnění pooperačních bolestí budou po dobu prvních 2-3 dnů po operaci aplikována analgetika (butorfanol, s.c.), dále pak dle potřeby a doporučení veterináře. Farmaka, podávána v pitné vodě, by neměla zhoršovat stav zvířat. Po operaci budou zvířata každý den kontrolována adspekci - vizuálně bude hodnocen stav zvířete (naježenost, čistota očí a nozder, jas oka), jeho chování/aktivita, vzhled a hojení operační rány.

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	10	320

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 s následným odběrem krve a orgánů. Po ukončení pokusů budou kadavery laboratorních potkanů umístěny do kafilérního chladicího boxu a odstraněny dle standardních a zákonem vymezených podmínek. Pokusná zvířata nebudou opětovně použita v jiném projektu.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Plánované experimenty, které by měly přispět ke zjištění vlivu léčby endotelinovým blokátorem na kombinované chronické poškození ledvin a srdce, 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				

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 chronického ledvinného selhání (5/6 nefrektomie) v kombinaci s chronickým srdečním selháním (objemové přetížení srdce pomocí aorto-kavální fistule ACF) u normotenzních HanSD potkanů s normální aktivitou RAS - samci; iniciační věk - 8 týdnů; kmen: Hannover Sprague-Dawley potkani (HanSD).