

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Kardioprotektivní a terapeutické využití mírného chladu po akutním infarktu myokardu u potkana

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

04/2021 - 03/2026

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

Potkan, srdce, chladová adaptace, kardioprotekce

Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností

☒ základní výzkum

☐ translační a aplikovaný výzkum

☐ kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)

☐ legislativní účely

☐ jiné zkoušení účinnosti a tolerance

☐ a běžná výroba

☐ zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie

☐ běžná výroba

☐ ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat

☐ zachování druhů

☒ vyšší vzdělávání

☒ odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí

☐ trestní řízení a jiné soudní řízení

☐ udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech

Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb

Cílem tohoto projektu je studium odolnosti srdce k buněčnému poškození, kardioprotektivních mechanismů vyvolaných chladovou adaptací a její potenciální léčebné účinky. Současným cílem je vychovat všestranně vzdělané a prakticky vyškolené odborníky v oboru fyziologie.

Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)

Potenciální přínosy projektu můžeme sledovat ve dvou rovinách. První rovinu vidíme ve výškolení úzce specializovaných odborníků v chirurgických technikách a kvantifikaci buněčného poškození srdce na in vivo modelu, který je zlatým standardem využívaným v kardiologickém výzkumu. Tyto přístupy mohou naši absolventi dobře využít ve své další profesní dráze, např. v preklinickém testování různých látek na zvířatech a jejich vlivu na odolnost srdce k ischemii. Poznatky a praktické dovednosti získané Ph.D.: studiem fyziologie živočichů tvoří jeden z významných pilířů současné biomedicíny a je tedy žádoucí vychovávat odborníky znalé speciálních experimentálních technik používaných při práci s pokusnými zvířaty. Je zřejmé, že pouze adekvátně připravení odborníci budou moci efektivním způsobem uplatnit své znalosti a zkušenosti ve své budoucí praxi. Týká se to zejména oblasti fyziologického výzkumu, přinášejícího zásadní poznatky pro rozvoj nových léčebných, diagnostických, anebo zdravotní rizika snižujících postupů, uplatňovaných v rámci humánní i veterinární medicíny. Druhou rovinu spatřujeme v samotných výsledcích našeho výzkumu, které přinesou nové informace o kardioprotektivních mechanismech vyvolaných chladovou expozicí. Tyto mechanismy jsou zodpovědné za zvýšení odolnosti srdečních buněk k jejich poškození a jejich studium má nesporný význam pro vývoj léčiv i nových postupů. Dále, tyto pokusy by měly zásadně přispět k zodpovězení otázky, zda chladová adaptace (neboli otužování) poskytuje i léčebný potenciál, vedle prevence.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání

V bdělém stavu bude injekční aplikace (i.p.) anestezie (počet jeden, před chirurgickým výkonem nebo odebráním srdce). V anestezii bude podáván inhibitor (i.p.). Bude proveden zákrok buněčného poškození srdce buď na otevřeném hrudníku (2 cm) podvazem koronární arterie nebo katet

rizací v. jugularis krátký ischemizující puls v hluboké anestezii (počet experimentů na jednom zvířeti - jeden).

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků

Nepředpokládáme negativní dopady na zvířata během chladové expozice (1 den až 5 týdnů), teplota je pod prahem třesové termogeneze a vyvolá fyziologickou adaptivní odezvu jako je houstnutí srsti a tvorba hnědé tukové tkáně. Chirurgické zákroky budou provedeny v hluboké anestezii a budou podávána pooperační analgetika. Zvířata mohou pocítit přechodně mírnou bolest. Budou dodržována 3R.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu

Druh zvířat ²⁾

Odhado-

Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti

- vyberte ze seznamu	vaný počet	Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Potkan laboratorní (Rattus norvegicus)	800	300	500		
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					0
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					0
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					0
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte					
Všechna zvířata budou na konci pokusu usmrcena					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu					
Žádné adekvátní alternativní metody pro praktické zvládnutí vysoce specializovaných chirurgických postupů při práci s pokusnými zvířaty nejsou k dispozici. Praktickou dovednost při práci se zvířaty však nelze získat pomocí žádného simulačního programu ani jinými alternativními metodami. Podobně, analýza buněčné odpovědi srdce na ischemický nebo elektrický inzult nemá adekvátní náhradu. Navíc vliv chladové adaptace nelze modelovat na buněčných kulturách, protože buněčná protekce vzniká následkem fyziologické odpovědi celého organismu na chladový podnět, aniž by došlo k podchlazení organismu. Je to výsledek hormonální a parakrinní signalizace vyvolané chladem, která ovlivňuje signální dráhy v srdeční tkáni. Její podstatu studujeme v tomto projektu.					
Omezení používání zvířat - vysvětlete, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).					
Na celkovou dobu trvání projektu je plánováno 800 ks potkanů (Wistar, SHR – nelze uvést do druhu zvířat). Počet zvířat byl stanoven na základě následujících skutečností: Fyziologické pokusy vzhledem k vyšší variabilitě a počtu proměnných vyžadují větší počet zvířat do skupiny než metody biochemické a molekulární (hodnocení infarktu, hojení jizvy, arytmie 12-16 jedinců). Na ostatní proteomické, genové a mikroskopické analýzy bude ve skupině 5-8 zvířat při jedné proměnné a 12 zvířat při dvou sledovaných proměnných z důvodu správné statistické analýzy. Počet experimentálních skupin vždy musí zahrnovat všechny vhodné kontrolní skupiny k daným proměnným. Minimalizace počtu pokusných zvířat bude vždy zajištěna precizní teoretickou přípravou před praktickým provedením samotného pokusu, bude použito pouze nezbytné množství, aby byla naplněna kritéria pro statistiku získaných dat. Pečlivá příprava zajistí maximální úspěšnost práce a zabrání zbytečnému opakování pokusů. Výuka technik bude prováděna efektivně a pod přímým vedením proškolených a zkušených pracovníků. Zvířata budou maximálně využívána.					
Šetrné zacházení se zvířaty - uveďte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu					
V každém případě bude kladen velký důraz na 3R, tedy na maximálně ohleduplné zacházení se zvířaty a minimalizaci jejich potenciálního utrpení nebo stresové zátěže. Zvířata budou pravidelně kontrolována a handlována, což snižuje stres v pokusu. Veškeré potenciálně bolestivé zákroky budou prováděny v hluboké anestézii, veškeré manipulace se zvířaty budou prováděny zkušenými pracovníky, a bude zajištěn přímý dozor proškolených a zkušených pracovníků.					
Použití druhů zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií					
Laboratorní potkan je standardním modelovým zvířetem, tradičně používaným pro studium různých fyziologických procesů a chování, a je také vhodným zvířetem pro nácvik provádění operačních technik					

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nespecifikovaného savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech