

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Účinek renální denervace na přežívání a aktivované systémy RAS a SNS u experimentálního modelu kombinovaného ledvinného a srdečního selhání.

Doba trvání projektu pokusů v měsících	33	
Klíčová slova	5/6 nefrektomie	
aorto-kavální fistule	renální denervace	
chronické renální selhání	chronické srdeční selhání	

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Multisystémové [PB11]

0
0
0

Cíle projektu pokusů

Hlavním cílem této studie je:

1. vyhodnotit vliv renální denervace (RDN) na přežívání potkanů s kombinovaným chronickým selháním ledvin a srdce
 2. zjistit, do jaké míry je u tohoto modelu aktivován renin-angiotenzinový systém (RAS) a sympatický nervový systém (SNS) a jaký vliv bude mít na tyto aktivované systémy RDN
 3. echokardiograficky vyhodnotit srdeční funkce
- Pokud se u člověka seje najednou chronické ledvinné i srdeční selhání, bývá pro něho průběh velmi nepříznivý. Proto by získané poznatky 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), neinvazivní echokardiografie a renální denervace
3. meloxicam (1-2 mg/kg), s.c. – analgetikum, které bude aplikováno u skupin bez 5/6 NX (sk. 5-8) po dobu 2-3 dnů od všech operací, doba působení – 24 h
4. buprenorfin (0,05-0,1 mg/kg), s.c. – analgetikum, které bude aplikováno u skupin s 5/6 NX (sk. 1-4) po všech operacích, po dobu 2-3 dnů, doba působení – 12 h
5. thiopental (150 mg/kg), i.p. – usmrcení předávkováním, s následnou exsanguinací

Série 1, 3: Vliv renální denervace (RDN) na přežívání, echokardiografie – ve věku 8 týdnů bude potkanům, vyjma kontrolních

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 chronického renálního 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 nebo buprenorfin, 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 adspekcí (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	0	613

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 dekapitací (série 2 a 3) z důvodu ovlivnění plazmatické a renální koncentrace angiotenzinu II (ANG II) s následným odběrem krve a orgánů. Po ukončení pokusů budou mrtvoly 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 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. Při chirurgických zákrocích bude použita dostačující dávka ověřené kombinace anestetik, s ohledem na tělesnou hmotnost zvířete. Po operacích (5/6 NX, vytvoření ACF, RDN) 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), s.c. nebo buprenorphin (20 µg/kg), s.c., 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 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).