

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ 63/2019

Název projektu pokusů

Studium tvorby a rozvoje kolorektálních lézí

Doba trvání projektu pokusů 2019-2023

Klíčová slova - *maximálně 5* střevní epitel, rektální instilace, kolorektální karcinom, signální dráha Wnt, Apc

Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka

<input checked="" type="checkbox"/>	základní výzkum
<input checked="" type="checkbox"/>	translační nebo aplikovaný výzkum
<input type="checkbox"/>	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
<input type="checkbox"/>	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
<input type="checkbox"/>	zachování druhů
<input type="checkbox"/>	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
<input type="checkbox"/>	trestní řízení a jiné soudní řízení

Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

Cílem projektu je studium tvorby a rozvoje nádorů v kolorektu pokusných myší, což odpovídá výskytu nádorů u člověka. Tyto časně léze jsou malé, pilotní pokusy ale jasně ukazují, že nádory obsahují přinejmenším dvě majoritní populace buněk plnící různou roli v růstu nádoru. Studium genové exprese a funkce těchto buněčných populací může poskytnout nové nádorové markery pro diagnostiku a prognózu pacienta a pomůže také porozumět vývoji nádorů. Vztah růstu nádoru k zánětu či ozáření může poskytnout cenné informace využitelné pro pacienty s Crohnovou chorobou či ulcerativní kolitidou. Rozvoj kolorektálního karcinomu vždy souvisí s abnormální aktivací signální dráhy Wnt a mutace v její cílových či regulačních genech ovlivňují typ nádoru, což souvisí s jeho invazivitou, rychlostí růstu i s reakcí na zvolenou metodu léčby. Data získaná při studiu myších modelů rakoviny střeva budeme v rámci projektu ověřovat na vzorcích izolovaných z lidských nádorů a zjišťovat tak platnost získaných informací u lidských pacientů.

Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)

Očekáváme, že pokusy popsáné v tomto projektu povedou k získání nových informací o střevních nádorech a že tyto informace budou potenciálně využitelné v diagnostice, tvorbě prognózy a výběru cílené léčby u člověka.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

K pokusům budou použiti dospělí jedinci *Mus musculus* s genetickým pozadím C57Bl6. Pouze pro xenotransplantace plánujeme využití imunodeficientních myších, aby nedošlo k zánětlivé reakci na lidské nádorové buňky. Předpokládáme celkovou „spotřebu“ pokusných zvířat do 350 dospělých jedinců za rok.

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Navrhovaná míra závažnosti je střední. Intrarektální podání látek tupou plastovou kanylou při krátké anestezii je šetrné a nezpůsobuje následnou bolest. Vyvolání zánětu či nádorů ve kolonu může zhoršit fyziologickou funkci tkáně, nicméně zvířata budou usmrcena dřív, než dojde k větším patologickým změnám ve tkáni, které by působily utrpení. Růst lidského nádoru v podkoží imunodeficientních myší způsobuje nepohodlí, nádor nezasahuje do funkce orgánů a zvíře je usmrceno dřív, než by jeho velikost mohla působit bolest například v důsledku napínání kůže. Ozáření myší subletální dávkou představuje vysokou zátěž pro organismus, většina myší však nevykazuje zhoršený zdravotní stav ani chronickou bolestivost. Zvířata budou pravidelně monitorována a při výskytu zhoršeného zdravotního stavu či zvýšené bolestivosti budou humánně usmrcena.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Alternativní metody, jako například využití tkáňových kultur buněk a střevních organoidů, jsou v rámci tohoto projektu široce využívány. Data získáváme také in silico analýzou dostupných knihoven expresních profilů získaných kolorektálních nádorů lidských pacientů.

Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

Experimenty jsou dlouhodobě plánovány a metody předem vyzkoušeny na malém množství zvířat. V pokusech použijeme vždy nejmenší statisticky významné množství zvířat. Experimenty budou pečlivě připraveny, což zamezí nutnosti jejich opakování. Příprava in vitro kultur z odebraných tkání pokusných zvířat také umožní snížení celkového počtu pokusných zvířat.

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.

Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.

Pro účely tohoto projektu byla jako modelový organismus vybrána myš a to z toho důvodu, že se jedná o nejčastěji používaný savčí model, který je z genetického i fyziologického hlediska blízky člověku a tudíž poznatky získané studiem myši jsou potenciálně aplikovatelné i v lidské medicíně. Zvířata budou chována ve speciálně upraveném zvěřinci v chovných klecích, kde mají dostatek prostoru, jídla i pití, a které jsou pravidelně čištěny. Případné manipulace se zvířaty za účelem vyvolání zánětů či nádorů ve střevě budou probíhat co nejkratší dobu, abychom minimalizovali nepohodlí způsobené těmito manipulacemi. U metod způsobujících větší nepohodlí či bolest, bude použita krátká celková anestezie.