

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ	
Název projektu pokusů	
c-Myb a jeho transkripční program ve fyziologických a patologických osteogenních procesech	
Doba trvání projektu pokusů	1/2019-12/2021
Klíčová slova - maximálně 5	c.Myb, osteosarkom, metastázy
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
☒	základní výzkum
☐	translační nebo aplikovaný výzkum
☐	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
☐	zachování druhů
☐	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení
Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
Náš předchozí výzkum ukázal, že c-Myb se podílí na regulaci metastatického rozsevu u některých typů nádorových onemocnění (karcinom mléčné žlázy, karcinom kolorekta). Metastázy jsou příčinou 90% úmrtí na rakovinu a představují tak největší problém klinické onkologie. Osteosarkomy jsou nejčastějším maligním nádorem kostní tkáně a patří mezi agresivní nádory vytvářející často sekundární ložiska v plicích. Více než 70% pacientů s osteosarkomem a plicními metastázami umírá do 5-ti let od diagnózy. I přes velkou snahu však dosud nebyl identifikován žádný molekulární marker, který by dokázal předpovědět riziko tvorby metastáz. Cílem tohoto projektu je posouzení významu proteinu c-Myb v regulaci diseminace buněk osteosarkomu s využitím myších modelů.	
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)	
Metastázy představují jeden z největších problémů klinické onkologie. Očekáváme, že implementace tohoto projektu objasní význam proteinu c-Myb a jím řízené intracelulární/parakrinní/autokrinní signalizace pro tvorbu plicních metastáz osteosarkomů a přispěje tak k identifikaci pacientů s vysokým rizikem rozvoje metastatické formy nemoci. Zároveň výsledky tohoto projektu přispějí k rozvoji terapeutických strategií pro cílené zásahy u rizikových skupin pacientek.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Myši kmene BALB/c (6-8 týdnů, obě pohlaví): 40 Myši kmene NOD/SCID (6-8 týdnů, obě pohlaví): 40 Myši kmene C3H/He (6-8 týdnů, obě pohlaví): 40	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Bolest bude tlumena analgetiky, navrhovaná míra závažnosti je střední, zvířata budou usmrcena předávkováním anestetikem a jejich orgány analyzovány na přítomnost metastáz a imunohistochemicky na expresi proteinu c-Myb. Kadavery budou uloženy do mrazícího zařízení označeného VŽP na pavilonu Z a dále smluvně odváženy specializovanou firmou.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Přestože existuje řada metodických postupů <i>in vitro</i>, které simulují jednotlivé fáze metastatického rozsevu, proces metastazování jako celek nelze uspokojivě a spolehlivě sledovat bez využití pokusných zvířat. Pro případné klinické aplikace je nezbytné výsledky získané experimenty s buněčnými liniemi <i>in vitro</i> ověřit na preklinickém modelu, v tomto případě na laboratorních myších.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Budou použity minimální nezbytné počty zvířat, tak aby získaná data měla statistickou relevanci. Naše zkušenosti s podobným typem pokusů a experimentálních přístupů (Knopfova et al., Mol Cancer, 2012; Knopfová et al., Oncogene 2017, etc.) garantuje použití vhodných modelů, žádné nebo jen minimální optimalizace postupů a tedy minimalizaci počtu použitých 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.	
Laboratorní myš je standardně používaný experimentální model pro danou problematiku. Pro použití myší buněčné linie v imunokompetentních myších je nutné zajistit myší kmen, z něž byly buňky původně odvozeny. Myši BALB/c představují v kombinaci s liniemi K12 a K7M2 syngenní model osteosarkomu. Pro použití linie Dunn/LM8 je nutné zvolit syngenní kmen C3H/He, pro lidské osteosarkomové linie je nutno využít imudeficientní myší kmen NOD/SCID. Zvířata budou navykána na uchopení rukou. Bude s nimi pracovat jeden člověk, který bude používat pomůcky nezpůsobující zvířeti strach či utrpení. Budou chována ve stálých skupinách s neomezeným přístupem k vodě a krmivu. Případná bolest bude tlumena analgetiky.	