

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 23/2020

Název projektu pokusů

Analýza dopadů plektinové deficiencie na patologie střevního epitelu

Doba trvání projektu pokusů 5 let t.j. do 12/02/2025

Klíčová slova - *maximálně 5* Plektin, kolorektální karcinom, kolitida

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

x	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)

Cílem studia je analyzovat úlohu plektinu a IF při regeneraci a různých typech indukované kolitidy (včetně akutního průběhu, akutního průběhu s hojící periodou a chronickou kolitidu) a vývoji kolorektálního karcinomu (indukovaný a spontánní model) na myším modelu, který je deficientní pro gen plektinu. Zároveň budeme definovat příspěvek střevních bakterií (podávání antibiotik) a mechanické zátěže střevního epitelu (tekutá dieta) k pozorovaným fenotypům.

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)

Porozumění významu plektinu ve střevním epitelu může vést k rozkrytí mechanismů ulcerózní kolitidy a kolorektálního karcinomu a objasnit rizika u pacientů trpících bulózní epidermolýzou v důsledku mutací v genu kódujícím plektin.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Pro určení specifické funkce plektinu v jednotlivých buněčných typech jater budou použity následující myši kmeny: kontrolní kmen C57BL/6, kondicionální knock-out inaktivovaným genem plektin ve střevním epitelu (Plec/villin-Cre), inducibilní kondicionální knock-out s inaktivovaným genem plektin ve střevním epitelu (Plec/villin-CreERT2) a knock-out s inaktivovaným genem pro plektinovou izoformu 1a (Plec1a KO) ve stáří 14-200 dnů. Očekáváme, že maximální celkový počet zvířat použitých celou dobu trvání projektu pokusů nepřekročí 1200.

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

Vzhledem k dávkování aktivních látek, předpokládané době trvání a zvolenému typu sedace je pro většinu navrhovaných pokusů je navrhována střední míra závažnosti. Po ukončení pokusu budou zvířata sedována Zoletilem-Rometarem pomocí injekce i.m. do m. quadriceps (50µg Zolazepamínu, 50 µg Tiletaminu a 4.1 µg Xylazinu na 1g myši) pro vykrvení a následnou cervikální dislokaci usmrcena a post mortem budou odebrány vnitřní orgány. Likvidace zvířat bude provedena asanační službou, se kterou má pracoviště smlouvu.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Pokud existuje alternativní metoda nezahrnující použití zvířat, bude použit tento přístup. Při plánování tohoto projektu pokusů byly pro vyhledávání možných alternativ využity následující zdroje: vědecké publikace, databáze 3R (<http://www.nc3rs.org.uk/category.asp?catID=3>), a ALTWEB (<http://altweb.jhsph.edu/resources/searchalt/index.html>). Pro případ, že by se objevily nové alternativní metody, bude vyhledávání pokračovat také v průběhu projektu pokusu. Pro omezení experimentů na myších budou využity alternativní metody jako buněčné kultury, tkáňové kultury a in vitro modely.

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

Minimální kohorty zvířat pro získání statisticky průkazných výsledků z plánovaných pokusů jsou zajištěny naprostým využitím všech odebraných vzorků z jednoho zvířete, odebíráním i orgánů, které mohou být později využity k retrospektivní analýze. Zároveň počítáme i s využitím in vitro experimentů, které zajistí omezení počtu experimentů a 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.

Utrpení, bolest a stres myši budou vždy omezeny na minimum. Myši budou chovány v optimálních podmínkách, které jsou stanoveny současnými regulacemi EU a místními zákony a vyhláškami. Myši budou pravidelně kontrolovány a ošetřovány proškolenými ošetřovateli. V případě zjevného utrpení, stresu nebo projevu nemoci přesahující deklarovanou závažnost pokusu budou pokusná zvířata okamžitě usmrcena odpovídající metodou (tedy cervikální dislokace podle Nařízení z roku 2010/63/EU Evropského parlamentu a Rady pro ochranu zvířat použitých pro vědecké účely) a následně

budou analyzována. Odběr krve a aplikace látek gastrickou sondou bude prováděn jenom zkušenými výzkumnými pracovníky.