

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 89/2018

Název projektu pokusů

Vývoj experimentálního modelu předčasné senescence

Doba trvání projektu pokusů do 31. 12. 2021

Klíčová slova - *maximálně 5* Buněčný stres, senescence, stárnutí, senolytika

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 tohoto projektu je příprava experimentálního myšního modelu předčasné či zrychlené senescence (stárnutí) organismu vhodného i) pro studium molekulárních mechanismů senescence a vlivu akumulace senescentních buněk v organismu a ii) návrhu a testování senolytických látek.

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)

Bude vytvořen myšší model pro předčasné stárnutí a výzkum negativních účinků senescentních buněk v organismu. Na něm budou moci být studovány mechanismy vzniku chorob spojených se stárnutím a úlohu senescentních buněk v těchto procesech. Dále umožní identifikovat a charakterizovat a dále testovat látky, které senescentní buňky nebo alespoň jejich negativní účinky mohou eliminovat.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

K experimentům budou použity C57BL/6 myši, samci i samice. Tyto myšší modely jsou standardní pro *in vivo* testování experimentální protinádorové terapie. Pro přípravu senescentního modelu založeného na aplikaci senescentních preadipocytů budou použity imbrední myši, jimž budou transplantovány syngenní senescentní preadipocyty. K experimentům budou použity myši s hmotností odpovídající věku $\pm 20\%$. Syngenní vztah mezi hostitelem a senescentní buňkou umožní sledovat parametry senescence za geneticky a imunologicky definovaných podmínek a následnou senolytickou léčbu. Tyto experimenty nelze tudíž nahradit alternativními metodami. V průběhu jednoho experimentu je počítáno s jednou kontrolní skupinou a maximálně 3 experimentálními. V každé experimentální skupině bude použito 8 - 10 myší (tento počet je nezbytný z důvodu požadavku na statistickou průkaznost experimentů). Na projekt bude použito max. 240 myší na rok.

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

Aplikace látek a postupů, které indukují buněčnou senescenci a předčasné stárnutí, může vést ke středním až závažným účinkům. Zbytečnému utrpení zvířat bude zabráněno častou kontrolou. Jednotlivá agens budou používána v dávkách, které nebudou významně toxické, případně zvířata budou utracena dříve, než dojde k utrpení zvířat. Po skončení pokusu budou zvířata usmrcena cervikální dislokací nebo CO₂. Likvidace kadáverů 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.

Experimentům *in vivo* na myších budou předcházet experimenty *in vitro*. Pro komplexní posouzení dopadů účinků senescentních buněk na organismus a na vyvolání předčasného stárnutí a modulačních agens založených na eliminaci škodlivých účinků senescentních buněk jsou nutné experimenty na zvířatech včetně myší.

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

Počet zvířat bude omezen čerpáním informací z literatury, provedením experimentů *in vitro* na tkáňových kulturách a bude minimalizován pro možnost statistického vyhodnocení experimentu. V průběhu pokusů bude sledováno co nejvíce parametrů zároveň. Uvedený počet zvířat je maximální a lze předpokládat menší množství použitých zvířat.

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

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

Laboratorní kmeny myší jsou nejvhodnějším druhem pro získání dat o účincích senescentních buněk a pro vývoj modelu předčasného stárnutí v relativně krátkém čase. Na tomto zvířecím modelu krátce žijícího savce je možno získat data, která po ověření na dalších modelech budou relevantní návrhy klinických studií. Kmen C57BL/6 byl zvolen vzhledem k tomu, že je dobře geneticky a imunologicky definován. Základem zamezení zbytečného utrpení zvířat bude, že experiment je navržen tak, aby zvířata nebyla zbytečně vystavena vysokým toxickým dávkám. V případě, se vyskytnou závažné toxicity, budou experimenty okamžitě ukončeny a zvířata utracena.