

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 63/2019

upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Studium tvorby a rozvoje kolorektálních lézí

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

60

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

Střevní epitel, rektální instilace, kolorektální karcinom, signální dráha Wnt, Apc

Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností

☒ základní výzkum

☒ translační a aplikovaný výzkum

☐ kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)

☐ legislativní účely jiné zkoušení účinnosti a tolerance

☐ a běžná výroba zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie

☐ běžná výroba

☐ ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat

☐ zachování druhů

☐ vyšší vzdělávání

☐ odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí

☐ trestní řízení a jiné soudní řízení

☐ udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech

Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb

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 vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)

Očekáváme, že pokusy popsané 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.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání

1) Jednorázové podání netoxického množství tamoxifenu orální sondou do žaludku, maximálně 1000 myší, zvířata budou usmrcena v rozmezí 4–12 týdnů po aplikaci. 2) Výplach kolonu 50% EtOH a rektální instilace nereplikativních adenovirů, maximálně 250 myší, zvířata budou usmrcena v rozmezí 4–12 týdnů po aplikaci. 3) Indukce kolitidy podáním 2-3% roztoku DSS, maximálně 100 myší, roztok se zvířatům podává 5 po sobě jdoucích dní. 4) Jednorázové ozáření subletální dávkou 5-6 Gy maximálně 100 myší, zvířata budou usmrcena v rozmezí 4-8 týdnů po ozáření. 6) Xenotransplantace nádorových buněk imunodeficientním myším, maximálně 100 myší, myši budou usmrceny v rozmezí 6-12 týdnů po aplikaci. 7) Intravenózní aplikace buněk, maximálně 100 myší, myši budou usmrceny v rozmezí 2-6 týdnů po aplikaci. 8) Odběr krve z ocasní cévy či čelistní cévy, maximálně 100 myší.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků

Orální gaváž je nebolestivá, pokusná zvířata ji velmi dobře snášejí i při opakovaném použití. Intrarektální podání látek tupou plastovou kanylou při krátké anestezii je šetrné a nezpůsobuje následnou bolest. Vyvolání zánětu či nádorů ve střevech může zhoršit fyziologickou funkci tkáně, nicméně zvířata budou usmrcena dřív,

než dojde k větším patologickým změnám ve tkáni, které by působily chronické utrpení. Růst lidského nádoru v podkoží imunodeficientních myši 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 subletální dávkou vede u některých zvířat k chronickým zdravotním problémům, taková zvířata budou ihned usmrcena.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu

Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	1750		750	1000	
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					

Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena

Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití	0
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu	0
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu	0

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte

K opětovnému použití zvířat v tomto pokusu nedochází. Po skončení pokusu budou zvířata usmrcena cervikální dislokací nebo CO₂. Likvidace kadáverů bude provedena asanační službou, se kterou má pracoviště smlouvu.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu

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, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).

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 - uveďte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu

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, které způsobují větší nepohodlí či bolest, bude použita krátká celková anestezie.

Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií

V průběhu projektu budeme používat pouze zvířata druhu *Mus musculus* a to zejména zvířata kmenů C57BL/6, které nesou námi zkoumané varianty genů, a NSG, které jsou imunodeficientní a jsou schopné přijmout cizorodé buňky. Myš jako modelový organismus vybrána byla zvolena proto, že se jedná o nejčastěji používaný savčí model, který je z genetického i fyziologického hlediska blízký člověku a tudíž poznatky získané studiem myši jsou potenciálně aplikovatelné i v lidské medicíně.

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nespecifikovaného savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech