

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Role tubulínového transportu mitochondrií v procesu transferu z nádorového stromatu do nádorových buněk s poškozeným respiračním řetězcem.

Doba trvání projektu pokusů v měsících	48	
Klíčová slova	Mitochondrie	
Míro	RHOT	
nádor	mezibuněčný transport	

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Onkologie [PB1]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Cílem je objasnění mechanismu transportu mitochondrií mezi buňkami nádoru a nádorovým stromatem se zaměřením na funkci Míro proteinů v tomto procesu.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Přenos nepoškozených mitochondrií může vést k obnovení proliferace a následné tumorigenicity rakovinných buněk s poškozenou mitochondriální DNA, například v důsledku protirakovinné léčby. Pochopení molekulárního mechanismu přenosu mitochondrií bude možné v budoucnu využít v translačním výzkumu protinádorových látek cílených na funkci mitochondrií a umožní tak zlepšení terapeutických přístupů při léčbě nádorových onemocnění.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Injekční (i.p.) aplikace tamoxifenu, která bude provedena pětikrát s odstupem 24 hodin od předchozí dávky. Injekční aplikace suspenze rakovinných buněk (s.c.) – jednorázově. Inhalační anestezie za účelem monitoringu růstu nádorů – opakovaně (2x týdně po dobu maximálně 5 týdnů).

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata, a doba trvání těchto účinků

Použitá látka (tamoxifen) je v indikovaných dávkách netoxická a zvířata ji dobře snášejí. Aplikace nádorových buněk s.c. je standardní postup, subkutánní nádory jsou všeobecně dobře snášeny a v porovnání s ortotopickým nádorem představují pro zvíře jenom mírnou zátěž. Zvířata nemají sníženou pohyblivost a budou usmrcena dříve než nádor dosáhne 5 % velikosti těla (volume/weight). Očekáváme, že zvířata budou prožívat krátkodobou bolest během i.p. nebo s.c. injekce (odpovídá mírné závažnosti navrženého projektu pokusů). V případě subkutánních nádorů může docházet vyjimečně k nekrotizování nádorů dříve než dosáhnou objemu 1cm³, tato zvířata budou pečlivě sledována a v případě zhoršení stavu předčasně usmrcena.

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

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
	Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
myš laboratorní (Mus musculus) [A1]	0	1000	0	0

0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0

Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat		
	Opětovné použití	Navrácení do chovu, do přírodního stanoviště	Do zájmového chovu
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty

Pokus bude ukončen usmrcením zvířat, nezbytným pro odběr tkání. Usmrcení bude provedeno metodami vhodnými pro použitá pokusná zvířata dle stávající legislativy.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat

Za účelem studia role Miro proteinů v transferu mitochondrií do nádorových buněk s poškozenou mitochondriální DNA je nezbytné použít zvířecí model, který plně zajišťuje komplexní podmínky nádorového mikroprostředí. Účast Miro proteinů v procesu mezibuněčného transferu mitochondrií byla předběžně potvrzena na in vitro modelech kokultury buněk s poškozeným respiračním řetězcem a mezenchymálních kmenových buněk (MSC), které jsou součástí nádorové tkáně. Vzhledem k tomu, že in vitro kokultury nemohou postihnout komplexní situaci v prostředí nádorového stromatu, je nezbytné použití pokusných zvířat, které nemůže být nahrazeno alternativními metodami.

Omezení používání zvířat

Navrhované experimenty jsou založeny na solidních předběžných datech získaných z in vitro a in vivo experimentů, tj. experimenty nebudou prováděné bezdůvodně. V rámci pokusů ověřujeme pouze takové mechanismy transportu mitochondrií, pro které existuje dostatečná evidence ve vědecké literatuře s cílem omezit počet nutných experimentů (použitých zvířat) na minimální možný. Bude použito minimální množství zvířat nutné pro validní statistické vyhodnocení plánovaných experimentů. Po usmrcení zvířat bude nádorová tkáň a orgány využita pro další nezávislé experimenty čímž také dojde k omezení počtu použitých zvířat.

Šetrné zacházení se zvířaty

V pokusech v rámci tohoto projektu podstoupí zvířata maximálně mírnou zátěž (i.p., injekce tamoxifenu, s.c. injekce buněk – standardní způsob aplikace látek a buněk u laboratorních myší). Zdravotní stav zvířat (ztráta váhy, snížená hybnost, apatické nebo jinak nezvyklé chování) bude pravidelně sledován a bude o ně pečováno v souladu s platnou legislativou na ochranu zvířat. V případě zhoršení stavu budou zvířata usmrcena dříve než je předpokládané ukončení experimentu.

Použité druhy zvířat - vysvětlení

Budou využití dospělci *Mus musculus*. Jde o zavedený laboratorní model (vč. potřebných genetických manipulací) a pokusy navrhované v rámci tohoto projektu navazují na výsledky získané na tomtéž modelovém organismu.