

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 14/2020

Název projektu pokusů

Chov myši se zárodečnou mutací v jedné genu *Apc* pro studium střevních nádorů

Doba trvání projektu pokusů Do 31. 12. 2024

Klíčová slova - *maximálně 5* Střevo, nádory, *Apc*, *Msx1*, *Onecut*

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)

Projekt pokusů je zaměřen na studium vzniku a časného vývoje střevních nádorů. Zaměřujeme se především na charakterizaci buněk ektopických krypt, které se vyskytují v hyperplastickém epitelu již od 4. dne po transformaci buněk a jejichž přítomnost má vliv na výslednou morfolonii vznikajícího nádoru. Dále se zaměřujeme na roli genu *Onecut2* ve zdravém a nádorovém střevním epitelu, kdy zvýšená exprese byla objevena u některých buněk střevních nádorů u myši i u člověka. Vztah růstu nádoru k zánětu či jinému poškození tkáně 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 pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)

Kolorektální karcinom je jedním z nejčastějších nádorových onemocnění v rozvinutých zemích a mortalita dosahuje okolo 50%. Získané lidské vzorky jsou velmi heterogenní. Genetický myší model vyvíjející střevní nádory i model kolitidy a následného vývoje kolorektálních nádorů dobře slouží k ověření dat získaných na úrovni *in vitro* a *in silico* z lidských nádorů. Fenotyp myši je relativně homogenní a umožňuje získat statisticky významné data při použití malé testovací skupiny zvířat. Získaná data přispějí k porozumění mechanismu vzniku a růstu nádorů, jejich morfologie a jejich možné diagnostiky a léčby již v časném stádiu nemoci, kdy je větší šance na plné uzdravení pacienta.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

K pokusům budou použiti dospělí jedinci *Mus musculus* s genetickým pozadím C57Bl6. Předpokládáme, že počet jedinců použitých na pokusy nepřesáhne 250 jedinců za rok. Použití budou dospělí jedinci ve věku 6-30 týdnů.

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

Navrhovaná míra závažnosti je střední. Aplikace látek orální gavage, intraperitoneální či intravenózní injekcí tenkou jehlou jsou metody pro zvířata šetrné a nezpůsobují výraznou bolest. Vyvolání zánětu či nádorů ve střevech zhorší fyziologickou funkci tkáně, nicméně zvířata budou usmrcena dříve, než dojde k větším patologickým změnám ve tkáni, které by působily utrpení. Ozáření myši subletální dávkou představuje vysokou zátěž pro organismus, většina myši však nevykazuje zhoršený zdravotní stav ani chronickou bolestivost a funkce tkáně se zcela obnoví po 5 dnech. Zvířata budou pravidelně monitorována a při výskytu zhoršeného zdravotního stavu či zvýšené bolestivosti budou humánně usmrcena.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Alternativní metody, jako například využití tkáňových kultur buněk a střevních organoidů, jsou v rámci tohoto projektu široce využívány. Data získáváme také analýzou dostupných knihoven expresních profilů získaných kolorektálních nádorů lidských pacientů. Poznatky získané v rámci experimentů *in vitro* či *in silico* musí být ověřeny v komplexním prostředí tkáně a živého organismu, kdy na vývoj nádoru má vliv i imunitní systém jedince. Tyto pokusy nelze zcela nahradit.

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

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 organoidů z odebraných tkání pokusných zvířat také umožní snížení celkového počtu pokusných zvířat.

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlíte volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.

Vysvětlíte obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmů způsobené zvířatům na minimum.

Myš je výhodný modelový organismus z toho důvodu, 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. Myši mají navíc poměrně krátký generační cyklus a velké množství mláďat v chovu, což napomáhá přenosu sledovaných mutací. Zvířata jsou chována v akreditovaném zařízení, které zajišťuje veškerou nezbytnou péči a monitoring zvířat. Manipulace se zvířaty za účelem vyvolání zánětů či nádorů ve střevě probíhají co nejkratší dobu, abychom minimalizovali nepohodlí způsobené těmito manipulacemi.