

NEWSLETTER ΕΕΒΕΖΕ

Ελληνική Εταιρεία Βιοϊατρικής Έρευνας & Ζώων Εργαστηρίου

Τεύχος 19, Ιούλιος 2017



Σε αυτό το τεύχος:

Προμετωπίδα

Επιστημονικά θέματα

Εκδηλώσεις

Περιοδικά για Ζώα
Εργαστηρίου

Αγαπητοί φίλοι και μέλη της Ε.Ε.Β.Ε.Ζ.Ε.

Σε συνέχεια της επιτυχούς διοργάνωσης του 2nd LAS EU Functions Course ανανεώνουμε το ραντεβού μας για την πραγματοποίηση του τρίτου σεμιναρίου στο ΕΕΠΜΣ στις 2-12 Οκτωβρίου του 2017. Για περισσότερες πληροφορίες μπορείτε να επισκεφθείτε την ιστοσελίδα της Εταιρείας.



Παρατηρήσεις, επισημάνσεις και κείμενα μπορείτε να τα στέλνετε στην ηλεκτρονική διεύθυνση Paulveterin@yahoo.com, για δημοσίευση στα επόμενα Newsletter της εταιρείας.

Για όσους από τους αναγνώστες ενδιαφέρονται να γίνουν μέλη της ΕΕΒΕΖΕ, η εγγραφή είναι δυνατή μετά τη συμπλήρωση της σχετικής αίτησης που υπάρχει στο τέλος του Newsletter. Είναι απαραίτητη η αποστολή βιογραφικού σημειώματος καθώς και η πρόταση της υποψηφιότητας από τρία μέλη της εταιρείας. Το κόστος εγγραφής είναι 20 € και η ετήσια συνδρομή για το 2017 παραμένει στα 20€.

**Μελέτη της κολίτιδας και του
επαγόμενου από κολίτιδα καρκίνου
του παχέος εντέρου σε ζώα
εργαστηρίου.**

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι η τρίτη πιο συχνή περίπτωση κακοήθειας και η τέταρτη πιο συχνή αιτία θανάτου από καρκίνο παγκοσμίως, παρά τις σημαντικές εξελίξεις στην ανίχνευση και τη χειρουργική ή χημειοθεραπευτική αντιμετώπιση του. Είναι αποτέλεσμα της χρόνιας συσσώρευσης μεταλλάξεων και μπορεί να σχετίζεται με γενετικά αίτια, ενώ και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο. Επιπλέον, η παρουσία χρόνιας φλεγμονής, όπως είναι οι ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου (κολίτιδα και νόσος του Crohn's) αποτελούν ιδιαίτερα επιβαρυντικό παράγοντα στην ανάπτυξη όγκων.

Πλέον υπάρχουν πειραματικά πρότυπα καρκινογένεσης του εντέρου σε μύες, τα οποία μας επιτρέπουν τόσο τη μελέτη των μοριακών μηχανισμών που ρυθμίζουν την καρκινογένεση, όσο και την πραγματοποίηση προ-κλινικών ελέγχων της δράσης νέων θεραπευτικών ουσιών. Ιδιαίτερα χρήσιμα σε αυτή την περίπτωση είναι τα επαγόμενα από καρκινογόνες ουσίες πρότυπα. Το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο πρότυπο του καρκίνου του παχέος εντέρου είναι το AOM/DSS, το οποίο προσομοιάζει σε ικανοποιητικό βαθμό την καρκινογένεση που σχετίζεται με την προϋπάρχουσα φλεγμονή στο έντερο.

Το πρότυπο αυτό βασίζεται στη χρήση των χημικών ουσιών: αζοξυμεθανίου (Azoxymethane – AOM) και άλατος του θειοδεξτρανικού νατρίου (Dextran Sodium Sulfate – DSS). Το AOM είναι ένας καρκινογόνος χημικός παράγοντας, ο οποίος προκαλεί αλκυλίωση των βάσεων του DNA. Το AOM χορηγείται στα ζώα εργαστηρίου ενδοπεριτοναϊκά και στη συνέχεια μεταφέρεται μέσω της κυκλοφορίας στο ήπαρ, όπου υδροξυλιώνεται σε μεθυλαζόξυμεθανόλη (methylazoxymethanol – MAM). Η MAM έπειτα μεταφέρεται μέσω της χολής στο έντερο, όπου η μικροχλωρίδα του εντέρου τη μεταβολίζει περαιτέρω στο καρκινογόνο μεθυλδιαζόνιο (methyldiazonium). Η αλληλουχία των παραπάνω σταδίων ενεργοποίησης του AOM και ο ρόλος της μικροχλωρίδας του εντέρου αποτελούν την πιο πιθανή εξήγηση της εντοπισμένης καρκινογόνου δράσης του συγκεκριμένου παράγοντα στο έντερο. Επαναλαμβανόμενες ενδοπεριτοναϊκές εγχύσεις με το AOM οδηγούν σε ανάπτυξη καρκίνου που προσομοιάζει αυτόν του ανθρώπου όσον αφορά στις μεταλλάξεις και τα σηματοδοτικά μονοπάτια που επηρεάζονται, αλλά συνήθως οι όγκοι που δημιουργούνται δεν εμφανίζουν διηθητικότητα ή μεταστάσεις.

Για την προσομοίωση της επαγόμενης από φλεγμονή καρκινογένεσης το AOM χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με τον χημικό παράγοντα DSS. Το DSS παρέχεται στα ζώα εργαστηρίου διαλυμένο στο πόσιμο νερό και είναι ιδιαίτερα τοξικό για τα επιθηλιακά κύτταρα του παχέος εντέρου, οδηγώντας στην εμφάνιση κολίτιδας με συμπτώματα αιματηρής

διάρροιας. Η επαναλαμβανόμενη χορήγηση του DSS ανά τακτά χρονικά διαστήματα οδηγεί στην εμφάνιση χρόνιας φλεγμονής, παρόμοιας με αυτή του ανθρώπου, η οποία χαρακτηρίζεται από περιόδους έξαρσης και ύφεσης. Η αυξημένη χρόνια φλεγμονή ενισχύει την καρκινογένεση σε αυτό το μοντέλο και στο τέλος του πρωτοκόλλου (60-80 μέρες) έχουν εμφανιστεί σωληνοειδή αδενώματα ή μετρίως διαφοροποιημένα σωληνοειδή αδενοκαρκινώματα.

Παράγοντες που επηρεάζουν το πρότυπο αυτό είναι το γενετικό υπόβαθρο των μυών, οι διαφορές στη μικροχλωρίδα του εντέρου μεταξύ των διαφορετικών εγκαταστάσεων, καθώς και πιθανές διαφορές στις παρτίδες του AOM. Ειδικότερα, ζώα με διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο παρουσιάζουν διαφορετική ευαισθησία στο DSS, και η δοσολογία του πρέπει να διαφοροποιείται αναλόγως και με βάση πιλοτικά πειράματα. Το βασικό πρωτόκολλο που χρησιμοποιείται αποτελείται από μια αρχική ενδοπεριτοναϊκή ένεση με AOM (10mg/Kg), η οποία ακολουθείται μετά από 5 μέρες από χορήγηση του DSS στο πόσιμο νερό (1-3%) για 5 μέρες και 16 μέρες με φυσιολογικό νερό. Ο κύκλος αυτός της χορήγησης του DSS επαναλαμβάνεται 1-4 φορές (συνήθως 2, αλλά εξαρτάται από την εγκατάσταση και το γενετικό υπόβαθρο των ζώων) και 10 μέρες μετά την τελευταία χορήγηση DSS τα ζώα θυσιάζονται ώστε να αξιολογηθεί η καρκινογένεση.

Παρακολούθηση της πορείας και ανάλυση στο τέλος του πρωτοκόλλου

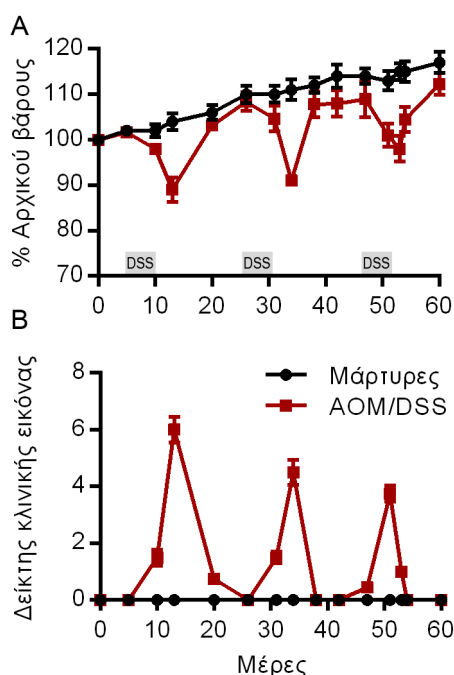
Η αξιολόγηση της πορείας του πρωτοκόλλου μπορεί να επιτευχθεί με

διάφορους μη επεμβατικούς τρόπους, έτσι ώστε να ελέγχεται συνεχώς τόσο η δραμτικότητα του, και άρα η ανάγκη παρέμβασης και ευθανασίας των ζώων αν αυτά ξεπεράσουν τα επιτρεπόμενα όρια προσδιορισμού του τελικού σημείου, όσο και η πορεία της νόσου. Ειδικότερα όταν συγκρίνονται ομάδες ζώων, η διαρκής αυτή παρακολούθηση μπορεί να παρέχει σημαντικά στοιχεία για το μηχανισμό δράσης της εκάστοτε παρέμβασης (γενετική τροποποίηση ή θεραπευτική χορήγηση).

Η αξιολόγηση της πορείας της ασθένειας μπορεί να γίνει με δυο τρόπους, τον προσδιορισμό του κλινικού δείκτη και την ενδοσκοπική αξιολόγηση των ζώων.

- Για τον προσδιορισμό του κλινικού δείκτη λαμβάνονται υπ' όψη το βάρος των ζώων, η σύσταση και η παρουσία αίματος στα κόπρανα. Η αυξομείωση του βάρους των ζώων αποτελεί τον πιο χαρακτηριστικό δείκτη της πορείας της χρόνιας φλεγμονής, καθώς η καταστροφή του εντερικού επιθηλίου και η φλεγμονή που δημιουργείται κατά τη χορήγηση του DSS αντικατοπτρίζεται σε ανάλογη απώλεια βάρους από τα ζώα (Εικόνα 1Α). Η απώλεια αυτή του βάρους μπορεί να αξιολογηθεί (0: 0%, 1: 1-5%, 2: 5-10%, 3: >10%) και συνοδεύεται από αλλαγές στη σύσταση των κοπράνων, οι οποίες επίσης αξιολογούνται (0: φυσιολογική, 1: μαλακά, σχηματισμένα, 2: μαλακά, μη σχηματισμένα, 3: διάρροια). Αντίστοιχα, μπορεί να αξιολογηθεί και η παρουσία αίματος στα κόπρανα, όπου ιδιαίτερα χρήσιμη είναι η δοκιμασία γουϊακόλης (FOBT test) (0: αρνητικό FOBT τεστ, 1: θετικό

FOBT τεστ, 2: μακροσκοπικά ορατά ίχνη αίματος, 3: αιμορραγία). Από το άθροισμα των παραπάνω παραγόντων προκύπτει ο δείκτης της κλινικής εικόνας της πορείας της ασθένειας κατά τη διάρκεια του πρωτοκόλλου (Εικόνα 1B).



Εικόνα 1. Απώλεια βάρους (A) και δείκτης κλινικής εικόνας (B) κατά τη διάρκεια του AOM/DSS πρωτοκόλλου.

- Η εξέλιξη ενδοσκοπικών μεθόδων για τρωκτικά έχει βοηθήσει πολύ στη λεπτομερή αξιολόγηση της πορείας των προτύπων χρόνιας φλεγμονής και καρκινογένεσης του εντέρου με τη χρήση μη επεμβατικών τρόπων. Σε αυτή την περίπτωση, σε συγκεκριμένα χρονικά σημεία τα ζώα αναισθητοποιούνται και πραγματοποιείται ενδοσκοπική αξιολόγηση τόσο της φλεγμονής όσο και του καρκίνου. Στην περίπτωση της φλεγμονής αναλύονται η πάχυνση του παχέος εντέρου (0: διαφανές, 1: μέτρια πάχυνση, 2: σημαντική πάχυνση, 3: αδιαφανές), οι αλλαγές

στην αγγείωσή του (0: φυσιολογική, 1: μέτριες αλλαγές, 2: σημαντικές αλλαγές, 3: αιμορραγία), η παρουσία ινικής (0: φυσιολογική, 1: λίγη, 2: σημαντική, 3: άφθονη), η κοκκώδης σύσταση της επιφάνειας του βλεννογόνου (0: φυσιολογική, 1: μέτρια, 2: σημαντική, 3: άφθονη) και η σύσταση των κοπράνων (0: φυσιολογική, 1: σχηματισμένα, 2: μη σχηματισμένα, 3: υδαρή). Στην περίπτωση του καρκίνου, πραγματοποιείται απαρίθμηση των όγκων και αξιολόγηση του μεγέθους τους (1: πολύ μικρός αλλά διακριτός όγκος, 2: όγκος που καλύπτει το 1/8 της διατομής του παχέος εντέρου, 3: όγκος που καλύπτει το 1/4 της περιφέρειας του παχέος εντέρου, 4: όγκος που καλύπτει ως το 1/2 της περιφέρειας του παχέος εντέρου, 5: όγκος που καλύπτει πάνω από το 1/2 της περιφέρειας του παχέος εντέρου (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Ενδοσκοπική παρατήρηση όγκων παχέους εντέρου διαφόρων μεγεθών κατά τη διάρκεια του AOM/DSS πρωτοκόλλου.

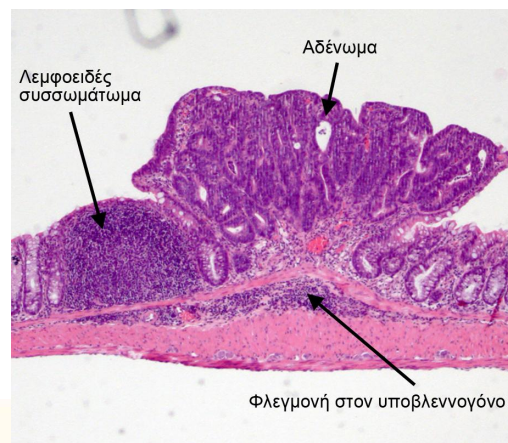
Για την αξιολόγηση στο τέλος του πρωτοκόλλου πραγματοποιείται ευθανασία του ζώου, αφαιρείται το τμήμα του παχέος εντέρου και μετράται το μήκος αυτού. Το μήκος του παχέος εντέρου είναι αντιστρόφως ανάλογο της έκτασης της φλεγμονής. Στη συνέχεια το παχύ έντερο διανοίγεται εγκάρσια και

μετρώνται οι μακροσκοπικά εμφανείς όγκοι, ενώ ακολουθεί η μονιμοποίηση του ιστού για ιστολογική ανάλυση (Εικόνα 3). Επίσης, μπορεί να γίνει λήψη αίματος για την αξιολόγηση κλινικών παραμέτρων, όπως ο αιματοκρίτης.



Εικόνα 3. Μακροσκοπική εικόνα του παχέος εντέρου στο τέλος του AOM/DSS πρωτοκόλλου.

Η ιστολογική αξιολόγηση των δειγμάτων περιλαμβάνει τον υπολογισμό του δείκτη της κολίτιδας και τη μέτρηση του μεγέθους των όγκων. Η συνδυασμένη αξιολόγηση του αριθμού και του μεγέθους των όγκων μπορεί να μας δώσει σημαντικές πληροφορίες για την εκκίνηση και την πρόοδο της καρκινογένεσης. Για τον υπολογισμό του δείκτη της κολίτιδας προσμετρούνται η παρουσία φλεγμονής (0: καμία, 1: αυξημένη παρουσία φλεγμονωδών κυττάρων στο βλεννογόνο, 2: συσσωματώματα κυττάρων στον υποβλεννογόνο, 3: φλεγμονή που διαπερνά τη μυϊκή στοιβάδα του εντέρου), η παρουσία ελκών (0: απουσία ελκών, 1: 1-2 έλκη, 2: 3-4 έλκη, 3: πάνω από 4 έλκη), η βλάβη των κρυπτών (0: ανέπαφες κρύπτες, 1: απώλεια του 1/3 της βάσης της κρύπτης, 2: απώλεια των 2/3 της βάσης της κρύπτης, 3: παρουσία μόνο επιφανειακού επιθηλίου) και το ποσοστό συμμετοχής (1: 1-25%, 2: 26-50%, 3: 51-75%, 4: 76-100%) Στην εικόνα 4 παρουσιάζεται παράδειγμα αδενώματος, που συνοδεύεται από φλεγμονή στο παχύ έντερο μετά την ολοκλήρωση του AOM/DSS πρωτοκόλλου.



Εικόνα 4. Αδένωμα, που συνοδεύεται από φλεγμονή στο παχύ έντερο μετά την ολοκλήρωση του AOM/DSS πρωτοκόλλου.

Βασιλική Κολιάρακη,

Ερευνήτρια Γ΄

(Ε.ΚΕ.Β.Ε. Αλέξανδρος Φλέμινγκ)

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ



**British Society of
Toxicological Pathology**

Ακολουθεί ημερολόγιο επιστημονικών εκδηλώσεων που της Βρετανικής Εταιρείας Τοξικολογικής Παθολογίας:

Στις 5 με 7 Δεκεμβρίου του 2017 θα πραγματοποιηθεί στο Πανεπιστήμιο του Κέιμπριτζ στο Ηνωμένο Βασίλειο σεμινάριο με θέμα το ενδοκρινικό σύστημα.

Για περισσότερες πληροφορίες επικοινωνήστε στο Email: bstpoffice@aol.com ή επισκεφθείτε την ιστοσελίδα www.bstp.org.uk



FONDAZIONE GUIDO BERNARDINI
BETTER EDUCATION FOR BETTER SCIENCE

Το Ίδρυμα Fondazione Guido Bernardini διοργανώνει εκπαιδευτικές δραστηριότητες που αφορούν στην επιστήμη των ζώων εργαστηρίου.

Για περισσότερες πληροφορίες περιηγηθείτε στην ιστοσελίδα: https://www.fondazioneguidobernardini.org/en/training_initiatives/events.aspx?IDEventType=5

ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΠΟΥ ΑΦΟΡΟΥΝ ΣΤΗΝ ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science www.scandlas.org

Comparative Medicine www.aalas.org

Journal of the American Association of Laboratory Animal Science www.aalas.org

Experimental Animals (Journal of the Japanese Association for Laboratory Animal Science)

http://www.soc.nii.ac.jp/jalas/english/en_journal.html

Laboratory Animals <http://la.rsmjournals.com>

Lab Animal Europe (Δωρεάν εγγραφή) <http://www.labanimaleurope.eu/>

ALN Magazine και ALN World (Δωρεάν εγγραφή) <http://www.alnmag.com>

Επιμέλεια Σύνταξης:

Λελόβας Παύλος

Τσιγκοτζίδου Αναστασία

Βασίλειος Ντάφης

ΠΡΟΣ ΤΗΝ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ

ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ &

ΖΩΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

ΑΙΤΗΣΗ ΕΓΓΡΑΦΗΣ ΝΕΟΥ ΜΕΛΟΥΣ

Όνομα:.....

Επώνυμο:.....

Ιδιότητα:.....

Διεύθυνση εργασίας:

Διεύθυνση οικίας:.....

Τηλέφωνο επικοινωνίας:

E-mail:

Fax :

Περιγράψτε την ενασχόλησή σας με την πειραματική βιοϊατρική έρευνα :

.....
.....
.....
.....
.....

Παρακαλώ αναφέρετε 3 μέλη της ΕΕΒΕΖΕ που σας προτείνουν ως νέο μέλος:

1.....

2.....

3.....

Επιθυμώ να εγγραφώ μέλος στην Ελληνική Εταιρεία Βιοϊατρικής Έρευνας και Ζώων Εργαστηρίου.

Ημερομηνία

Ο/Η
Αιτών/ούσα

(*) Η αίτηση πρέπει να συνοδεύεται από βιογραφικό σημείωμα και να αποσταλεί στην ηλεκτρονική διεύθυνση secretariat@hsblas.gr