



Σε αυτό το τεύχος:

Προμετωπίδα

Επιστημονικά θέματα

Επιστημονικές εκδηλώσεις

Περιοδικά για Ζώα Εργαστηρίου

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

Ενημερώνουμε ότι στις 23/10/2019 διοργανώνεται από την Ε.Ε.Β.Ε.Ζ.Ε. ομιλία της Bella Williams (Head of Engagement, UAR) με τίτλο “Understanding Animal Research: how people see our science and how we talk to them about it” στην Αίθουσα Μικροσκοπιών Εργαστηρίου Ανατομικής, Ιστολογίας και Εμβρυολογίας του Τμήματος Κτηνιατρικής (Πανεπιστημιούπολη Α.Π.Θ.).

Επιπλέον, στις 7-8/12/2019 διοργανώνεται από την Ε.Ε.Β.Ε.Ζ.Ε. στο Εργαστήριο Έρευνας Παθήσεων Μυοσκελετικού Συστήματος ΕΚΠΑ του Νοσοκομείου ΚΑΤ, επιμορφωτικό Σεμινάριο με τίτλο «Εισαγωγή στην Τεχνολογία Ζώων Εργαστηρίου», στα πλαίσια των Επιμορφωτικών Σεμιναρίων για την εφαρμογή της Οδηγίας 2010/63/ΕΕ και του Π.Δ. 56/2013. Για περισσότερες πληροφορίες ακολουθήστε το σύνδεσμο <http://hsblas.gr/tech/>.

ΕΕΒΕΖΕ Ελληνική Εταιρεία Βιοϊατρικής Έρευνας & Ζώων Εργαστηρίου

**Understanding Animal Research:
how people see our science and
how we talk to them about it**


Bella Williams, Head of Engagement, UAR

Τετάρτη, 23 Οκτωβρίου 2019, 5 - 7 μ.μ.

Αίθουσα Μικροσκοπιών Εργαστηρίου
Ανατομικής, Ιστολογίας και Εμβρυολογίας,
Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστημιούπολη ΑΠΘ

Πληροφορίες: 2310999941 atsinfo@vet.auth.gr

Διοργάνωση:

<http://www.understandinganimalresearch.org.uk> <http://hsblas.gr/>

ΕΕΒΕΖΕ

Επιμορφωτικά σεμινάρια
για την εφαρμογή της Οδηγίας 2010/63/ΕΕ & του ΠΔ 56/2013

**Εισαγωγή στην Τεχνολογία
Ζώων Εργαστηρίου**

Βασικές θεματικές ενότητες - Λειτουργίες Α, Β, Γ και Δ
Πρακτική - Λειτουργία Γ

7-8 Δεκεμβρίου 2019

Εργαστήριο Έρευνας Παθήσεων Μυοσκελετικού Συστήματος ΕΚΠΑ,
Νοσοκομείο ΚΑΤ, Κηφισιά

Πληροφορίες και δηλώσεις συμμετοχής: <http://hsblas.gr/tech>

Διοργάνωση:
Ελληνική Εταιρεία Βιοϊατρικής Έρευνας & Ζώων Εργαστηρίου



Για όσους από τους αναγνώστες ενδιαφέρονται να γίνουν μέλη της ΕΕΒΕΖΕ, η εγγραφή είναι δυνατή μετά τη συμπλήρωση της σχετικής αίτησης που υπάρχει στην ιστοσελίδα της ΕΕΒΕΖΕ, <http://hsblas.gr/>. Είναι απαραίτητη η αποστολή βιογραφικού σημειώματος καθώς και η πρόταση της υποψηφιότητας από δύο μέλη της εταιρείας. Το κόστος εγγραφής είναι 20€ και η ετήσια συνδρομή για το 2019 παραμένει στα 20€.

**ΚΟΛΟΝΟΣΚΟΠΗΣΗ ΜΥΩΝ ΩΣ
ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΣΕ ΖΩΙΚΑ
ΠΡΟΤΥΠΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΚΑΙ
ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ**

Η ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, η οποία περιλαμβάνει δύο κλινικές μορφές, την ελκώδη κολίτιδα και τη νόσο του Crohn, αποτελεί ένα νόσημα με συνεχώς αυξανόμενες επιπτώσεις σε παγκόσμια κλίμακα. Ο καρκίνος του παχέος εντέρου, επιπλέον, αποτελεί την τρίτη σε συχνότητα εμφάνισης και θνησιμότητας μορφή κακοήθειας, παγκοσμίως. Σε ερευνητικό επίπεδο, έχουν αναπτυχθεί πολυάριθμα πρότυπα σε μύες εργαστηρίου που αφορούν σε φλεγμονώδη νόσο και καρκίνο του εντέρου.

Στον τομέα της ιατρικής, η κολονοσκόπηση αποτελεί μια από τις βασικές μεθόδους για την διάγνωση και παρακολούθηση φλεγμονωδών και δυσπλαστικών αλλοιώσεων του εντέρου. Στο παρελθόν ήταν αδύνατη η εφαρμογή της ενδοσκόπησης στα ζωικά πρότυπα τρωκτικών, κυρίως λόγω της μικρής διαμέτρου του παχέος εντέρου. Έτσι, η παρακολούθηση της πορείας της νόσου στους μύες πραγματοποιούνταν τόσο μέσω της αξιολόγησης έμμεσων παραγόντων, όπως η απώλεια σωματικού βάρους, η πρόσληψη νερού και τροφής και η παρουσία αίματος στα κόπρανα τους όσο και μέσω της ιστοπαθολογικής εξέτασης μετά από ευθανασία των ζώων. Εδώ και περίπου δύο δεκαετίες, η χρήση της ενδοσκοπικής μεθόδου σε τρωκτικά

έχει συμβάλλει σημαντικά στην άμεση και πιο αντικειμενική εκτίμηση της σοβαρότητας της εντερικής φλεγμονής και της εξέλιξης των όγκων μέσω συνεχόμενων παρατηρήσεων ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Επιπλέον, έχει συνεισφέρει και στην μείωση του αριθμού των ζώων που χρησιμοποιούνται στα πρωτόκολλα, εκτός από ελάχιστες περιπτώσεις, στις οποίες η ιστοπαθολογική εξέταση κρίνεται απαραίτητη.

Ζωικά πρότυπα φλεγμονής και καρκινογένεσης του εντέρου, κατάλληλα για ενδοσκοπική παρακολούθηση

Η ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου χαρακτηρίζεται από ποικίλα συμπτώματα, όπως είναι η διάρροια και το κοιλιακό άλγος με πιθανές επιπλοκές την εμφάνιση ίνωσης και στένωσης του εντερικού αυλού. Η παρουσία χρόνιας φλεγμονής σε συνδυασμό με γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης όγκων στο παχύ έντερο. Τα ζωικά πρότυπα έχουν βοηθήσει ουσιαστικά στη μελέτη του μηχανισμού παθογένειας των νόσων αυτών, καθώς και στην εφαρμογή προκλινικών δοκιμών για την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών ουσιών.

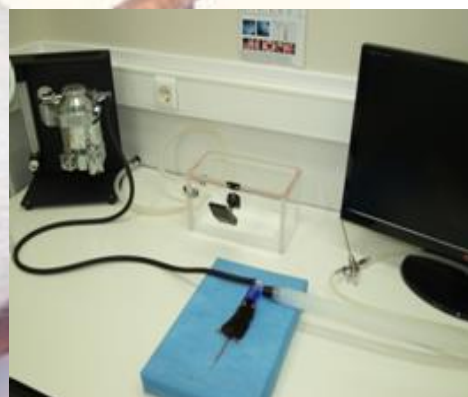
Τα πρότυπα φλεγμονής και καρκινογένεσης του εντέρου που έχουν μελετηθεί, κατά καιρούς, διακρίνονται στα γενετικά τροποποιημένα, καθώς και σε αυτά, όπου μετά από χορήγηση συγκεκριμένων χημικών ουσιών, προκαλείται σταδιακή εμφάνιση και εξέλιξη της νόσου (χημικώς επαγόμενα). Ειδικά στην περίπτωση του καρκίνου, έχει περιγραφεί και ζωικό πρότυπο, κατά το

οποίο λαμβάνει χώρα ορθοτοπική εμφύτευση καρκινικών κυττάρων στο εντερικό τοίχωμα μυών εργαστηρίου. Ωστόσο, οι πιθανές επιπλοκές της χειρουργικής διαδικασίας, όπως ο αυξημένος κίνδυνος τραυματισμού και θνησιμότητας των ζώων, καθιστούν το συγκεκριμένο πρότυπο λιγότερο διαδεδομένο για τη μελέτη πιθανών αντικαρκινικών θεραπειών.

Από τα ζωικά πρότυπα φλεγμονής που αναφέρθηκαν, τα χημικώς επαγόμενα είναι κατάλληλα για παρακολούθηση και αξιολόγηση με χρήση κολonosκοπίου. Ένα παράδειγμα είναι το πρότυπο με χορήγηση του 2,4,6-τρινιτροβενζολοσουλφονικού οξέος (2,4,6-trinitro-benzene sulfonic acid, TNBS), διαλυμένου σε αιθανόλη, το οποίο εγχέεται ενδοορθικά, με αποτέλεσμα την εμφάνιση εντερικής φλεγμονής μέσω ανοσολογικής απόκρισης των βοηθητικών T-λεμφοκυττάρων. Ένα ακόμα πρότυπο ανάπτυξης φλεγμονής που προσομοιάζει αυτό του TNBS λαμβάνει χώρα με την ενδοορθική χορήγηση οξαζολόνης (oxazolone) σε διάλυμα αιθανόλης σε μύες. Ένα τρίτο πρότυπο κολίτιδας επάγεται με τη χορήγηση άλατος του θειοδεξτρανικού νατρίου (dextran sulfate sodium, DSS), διαλυμένου σε πόσιμο νερό, και χαρακτηρίζεται από φλεγμονή και θάνατο των επιθηλιακών κυττάρων του παχέος εντέρου. Η αξιολόγηση των προτύπων, όσον αφορά στην οξεία φάση της φλεγμονής, πραγματοποιείται μέσα σε 1-2 εβδομάδες, ενώ για τη χρόνια φάση απαιτείται διάστημα συνήθως μεγαλύτερο του ενός μήνα.

Ανάμεσα στα διάφορα ζωικά πρότυπα καρκίνου του παχέος εντέρου, το επαγόμενο από την τοξική καρκινογόνο ουσία, 1,2-διμεθυλοϋδραζίνη (1,2-dimethylhydrazine, DMH) ή τον

ενδιάμεσο μεταβολίτη της, αζοξυμεθάνιο (azoxymethane, AOM), παρουσιάζει καταλληλότητα για ενδοσκοπική παρακολούθηση. Επαναλαμβανόμενες ενδοπεριτοναϊκές εγχύσεις του AOM σε μύες έχουν ως αποτέλεσμα την ογκογένεση, μέσω αλκυλίωσης των βάσεων του DNA, μέσα σε διάστημα 30 εβδομάδων. Τόσο το DMH όσο και το AOM μπορούν να χορηγηθούν, επίσης, σε συνδυασμό με τον φλεγμονώδη παράγοντα DSS. Στην περίπτωση αυτή, επάγεται η δημιουργία όγκων από προϋπάρχουσα φλεγμονή του εντέρου εντός περίπου 10 εβδομάδων.



Εικόνα 1: Αναισθητοποίηση του ζώου με εισπνεόμενη αναισθησία για ενδοσκοπική παρακολούθηση.

Κολonosκόπηση μυών εργαστηρίου

Η κολonosκόπηση παρέχει τη δυνατότητα συνεχούς αξιολόγησης της φλεγμονής και της ανάπτυξης των όγκων με μη επεμβατικό τρόπο στα ζωικά πρότυπα που προαναφέρθηκαν. Η διαδικασία εκτελείται υπό συνθήκες γενικής αναισθησίας του ζώου, ώστε να προκαλείται ο ελάχιστος δυνατός πόνος, σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία. Για τη διεξαγωγή της κολonosκόπησης με άκαμπτο ενδοσκόπιο, το ζώο

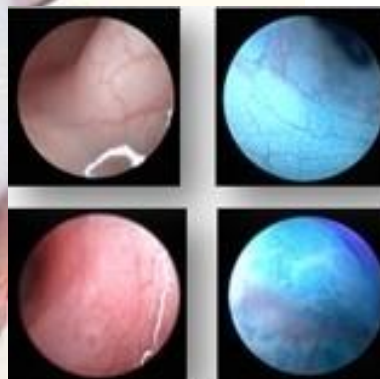
τοποθετείται σε πρηνή θέση (**Εικόνα 1**) και στη συνέχεια, εισάγεται το ενδοσκόπιο δια μέσου του πρωκτού και προωθείται αργά κατά μήκος του παχέος εντέρου σε βάθος έως περίπου 4cm (μέχρι το σημείο καμπής του εντέρου, στο εγκάρσιο κόλον). Η χρήση εύκαμπτου κολονοσκοπίου, επιτρέπει την πρόσβαση σε μεγαλύτερο βάθος. Η κάμερα που υπάρχει προσαρμοσμένη στο ενδοσκοπικό σύστημα δίνει τη δυνατότητα βιντεοσκόπησης και λήψης φωτογραφιών, κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, για την μετέπειτα εκτίμηση και ανάλυση της εξέλιξης της νόσου (**Εικόνα 2**). Επιπλέον, τα κολονοσκόπια διαθέτουν, συνήθως, κανάλια που είναι κατάλληλα για την εισαγωγή διαφόρων εργαλείων, όπως λαβίδες βιοψίας για συλλογή δειγμάτων, καθώς και βελόνες κατάλληλου μήκους για ενέσεις κυττάρων ή χημικών ουσιών.



Εικόνα 2: Βιντεοσκόπηση κατά τη διάρκεια κολονοσκόπησης με χρήση άκαμπτου ενδοσκοπίου.

Σε πολλές περιπτώσεις, για την καλύτερη παρατήρηση και αξιολόγηση του εντερικού αυλού, καθώς και για τον εντοπισμό προνεοπλασματικών αλλοιώσεων, θεωρείται αναγκαία η διεξαγωγή χρωμοενδοσκόπησης με τη

χρήση-έγχυση διαφόρων χρωστικών ουσιών, όπως είναι το κυανό του μεθυλενίου (methylene blue) και η ινδική καρμίνη (indigo carmine). Συγκεκριμένα, όσον αφορά στο κυανό του μεθυλενίου, εγχέεται διάλυμα της εν λόγω χρωστικής ουσίας εντός του εντερικού αυλού (συγκέντρωσης περίπου 1%) και ακολουθεί αναμονή τριών λεπτών με στόχο τη χρώση του βλεννογόνου. Στη συνέχεια, πραγματοποιείται έκπλυση με νερό για την απομάκρυνση τυχόν υπολειμμάτων της χρωστικής και ενδοσκόπηση, όπου οι υπερπλαστικές ή δυσπλαστικές περιοχές εμφανίζονται με σκούρο μπλε χρώμα και αυξημένο πάχος του επιθηλίου (**Εικόνα 3**).



Εικόνα 3: Χρωμοενδοσκόπηση με κυανό του μεθυλενίου. Επάνω, δύο εικόνες υγιούς εντερικού βλεννογόνου (με απλή ενδοσκόπηση αριστερά και με χρωμοενδοσκόπηση δεξιά). Κάτω, δύο εικόνες εντερικής φλεγμονής (με απλή ενδοσκόπηση αριστερά και με χρωμοενδοσκόπηση δεξιά).

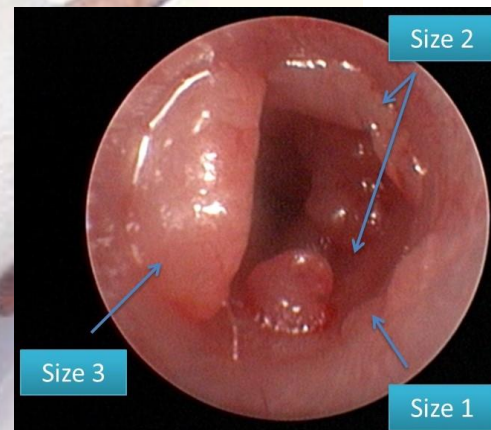
Ανάμεσα στις νεότερες τεχνολογίες που έχουν αναπτυχθεί για την *in vivo* ανίχνευση προκαρκινικών αλλοιώσεων του εντερικού βλεννογόνου συγκαταλέγονται η μέθοδος απεικόνισης στενής ζώνης (narrow band imaging, NBI) και η συνεστιακή ενδομικροσκοπία με

λείζερ (confocal laser endomicroscopy, CLE). Στην πρώτη περίπτωση, με κατάλληλα οπτικά φίλτρα επιτυγχάνεται ενδελεχής απεικόνιση του τριχοειδικού δικτύου του βλεννογόνου, όπως τα τριχοειδή αγγεία των επιφανειακών στρωμάτων και τα αιμοφόρα αγγεία στα βαθύτερα στρώματα του. Όσον αφορά στη συνεστιακή ενδομικροσκοπία, είναι εφικτή η ανάλυση υποκυτταρικών και μοριακών αλλαγών του εντέρου με τη χρήση πληθώρας φθορίζουσών ουσιών.

Για την εκτίμηση της εντερικής φλεγμονής, έχουν δημοσιευθεί και χρησιμοποιούνται διάφορα συστήματα αξιολόγησης που λαμβάνουν υπόψη 11, συνολικά, παραμέτρους. Από τα πιο διαδεδομένα είναι το σύστημα βαθμολόγησης MEICS (murine endoscopic index of colitis severity) ή MCEI (mouse colitis endoscopy index), σύμφωνα με το οποίο αξιολογούνται 5 παράμετροι: η πάχυνση του βλεννογόνου (0=διαφανής βλεννογόνος, 1=μέτρια πάχυνση, 2=αρκετή πάχυνση, 3=αδιαφανής βλεννογόνος), η αλλαγή στο αγγειακό πρότυπο (0= φυσιολογικό, 1=μέτρια αλλαγή, 2=αρκετή αλλαγή, 3=αιμορραγία), η παρουσία ινικής (0=απουσία, 1=λίγη, 2=αρκετή, 3=έντονη), η κοκκώδης όψη στην επιφάνεια του βλεννογόνου (0=απουσία, 1=λίγη, 2=αρκετή, 3=έντονη) και η σύσταση των κοπράνων (0=φυσιολογικά με στερεή σύσταση, 1=σχηματισμένα, 2=μη σχηματισμένα, 3=υδαρή σύσταση).

Στην περίπτωση αξιολόγησης της καρκινογένεσης, πραγματοποιείται συνήθως αρίθμηση των όγκων και βαθμολόγηση του μεγέθους τους σε σχέση με τη διάμετρο του παχέος εντέρου (1=οριακά ανιχνεύσιμος όγκος, 2=όγκος που καλύπτει το 1/8 της διαμέτρου του παχέος εντέρου, 3=όγκος

που καλύπτει το 1/4 της διαμέτρου του παχέος εντέρου, 4=όγκος που καλύπτει ως το 1/2 της διαμέτρου του παχέος εντέρου, 5=όγκος που καλύπτει πάνω από το 1/2 της διαμέτρου του παχέος εντέρου) (Εικόνα 4). Έτσι, προκύπτει το φορτίο του όγκου που αποτελεί το γινόμενο του αριθμού των όγκων επί το αντίστοιχο μέγεθος τους. Ένας άλλος τρόπος για την ποσοτική εκτίμηση του όγκου είναι η τοποθέτηση ενός αντικειμένου γνωστού μεγέθους (εύκαμπτη μεταλλική ράβδος) στην γειτονική περιοχή του εκάστοτε όγκου, με σκοπό τη χρήση του ως μονάδα αναφοράς για τη μέτρηση του μεγέθους.



Εικόνα 4: Βαθμολόγηση του μεγέθους των όγκων σε σχέση με την διάμετρο του παχέος εντέρου.

Η ενδοσκόπηση ολοκληρώνεται με την αξιολόγηση-βαθμολόγηση των αλλοιώσεων και την καταγραφή τους, όπως περιγράφεται παραπάνω. Η μέθοδος διαρκεί συνήθως λίγα λεπτά, ανάλογα με την εμπειρία του προσωπικού που την πραγματοποιεί. Οι επιπλοκές (όπως η τρώση του εντέρου) είναι ιδιαίτερα σπάνιες και συνήθως σχετίζονται με την έλλειψη επαρκούς εμπειρίας.

Συμπερασματικά γίνεται αντιληπτό ότι η κολονοσκόπηση μυών εργαστηρίου είναι μια από τις σημαντικές μεθόδους αξιολόγησης προτύπων φλεγμονής και καρκίνου του εντέρου. Ταυτόχρονα, μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική μείωση των ζώων που χρησιμοποιούνται σε ένα πρωτόκολλο, αντικαθιστώντας μεθόδους όπου απαιτείται ευθανασία σε πρώιμα στάδια της ασθένειας. Επιπρόσθετα, παρέχει τη δυνατότητα παρακολούθησης της εξέλιξης της νόσου στο ίδιο ζώο με την πάροδο του χρόνου. Τέλος, με τη λήψη εικόνων υψηλής ανάλυσης κατά την ενδοσκόπηση καθίσταται εφικτός ο εντοπισμός πιθανών βλαβών που είναι αδύνατον να ανιχνευθούν με άλλες *in vivo* μορφές απεικόνισης.

Μελίνα Δραγόλια

Βιολόγος, MSc

Εγκαταστάσεις Ζώων Εργαστηρίου
Ε.ΚΕ.Β.Ε. «Αλέξανδρος Φλέμιγκ»



ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ



**BRITISH SOCIETY OF
TOXICOLOGICAL
PATHOLOGY**

Ακολουθεί ημερολόγιο επιστημονικών εκδηλώσεων που διοργανώνονται από τη Βρετανική Εταιρεία Τοξικολογικής Παθολογίας:

34th Annual Scientific Meeting (& AGM) held jointly with the BTS, 19/11/2019-20/11/2019, Gateshead, Ηνωμένο Βασίλειο. Για περισσότερες πληροφορίες επισκεφθείτε την ιστοσελίδα www.bstp.org.uk ή επικοινωνήστε στο: e-mail: bstpoffice@aol.com.



Στις 12-13/12/2019 θα πραγματοποιηθεί το SGV Meeting 2019 στη Ζυρίχη, Ελβετία. Για περισσότερες πληροφορίες χρησιμοποιείστε την ιστοσελίδα: <https://naturalsciences.ch/organisations/sgv/117027-sgv-meeting-2019>.

**ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΠΟΥ ΑΦΟΡΟΥΝ ΣΤΗΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ**

Lab Animal Europe (Δωρεάν εγγραφή)

<http://www.labanimaleurope.eu/>

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://wwwsoc.nii.ac.jp/jalas/english/en_journal.html

Laboratory Animals

<http://la.rsmjournals.com>



Επιμέλεια Σύνταξης:

Βασίλειος Ντάφης

Αναστασία Τσιγκοτζίδου