

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra obecné zootechniky a etologie



Kmeny laboratorních myší, nejčastěji užívané v experimentech, a důvody jejich využívání

Bakalářská práce

Autor práce: Roman Požárek

Vedoucí práce: doc. Ing. Lukáš Jebavý, CSc.

2012

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Kmeny laboratorních myší, nejčastěji využívané v experimentech a důvody jejich používání vypracoval samostatně a použil jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii.

V Praze dne: 10. 04. 2012

Roman Požárek

Poděkování

Rád bych poděkoval svému vedoucímu práce doc. Ing. Lukáši Jebavému, Csc za vřelý přístup a cenné rady k mé bakalářské práci.

Souhrn:

Tato bakalářská práce pojednává o sedmi nejvíce používaných laboratorních myších, které se využívají pro pokusy. V úvodu práce je stručně popsána historie a vznik laboratorních myší. Dále jsou analyzovány dvě základní skupiny myší, což jsou outbrední a inbrední populace. Každá skupina je charakterizována a je popsán vznik jejich kmenů. Následně jsou vyzdvihnuty nejpoužívanější kmeny každé skupiny. U outbrední populace jsou to myší kmeny CD-1, Swiss a NMRI. K nejpoužívanějším myším kmenům inbrední populace patří DBA, C57BL, C3H a BALB/c kmeny. U každého myšího kmene jsou uvedeny jejich vlastnosti a vypsány nejčastější experimenty, při kterých jsou použity. Každý uvedený kmen, ať už inbrední nebo outbrední, má své specifické vlastnosti, které se více či méně liší od ostatních kmenů. Odlišnosti mohou být jak fenotypové tak genotypové. Například se může jednat o citlivost k určité chorobě, degeneraci orgánu či jiné anatomické či fyziologické zvláštnosti. Tyto odlišnosti se stávají hlavními znaky výběru, pro které oblasti výzkumu se kmen bude využívat. Ze zjištěných údajů se vyvodilo, že jsou myši využívány v širokém spektru studií, avšak nejvíce se využívají v lékařských studiích. Může jít jak o zkoušení nových léků, vakcín tak i reakce na různé cizorodé látky, choroby či nádory.

Klíčová slova:

laboratorní myši, inbrední populace, outbrední populace, specifické vlastnosti, lékařské studie

Summary:

This bachelor thesis deals with the seven most commonly used laboratory mice that are used for experiments. At the beginning the thesis briefly describes the history and the emergence of laboratory mice. It also analyzes two basic groups of mice, which are outbred and inbred populations. Each group is characterized and the emergence of strains is described. Subsequently the most common strains in each group are highlighted. In outbred populations, these are CD-1, Swiss and NMRI mouse strains. The most commonly used inbred strains of mice population are DBA, C57BL, C3H and BALB / c strains. For each mouse strain their characteristics are shown and the most common experiments in which they are used are listed. Each strain, whether inbred or outbred, has its own specific characteristics, which are more or less different from other strains. The differences can be phenotypic or genotypic. For example, it may be susceptibility to a disease, degeneration of an organ or other anatomical or physiological traits. These differences have become the main selection criteria for the area of research where the strain will be used. It has been deduced from the established data that mice are used in a wide range of studies, but most are used in medical studies. There may be concerned with the testing of new drugs, vaccines and the response to various foreign substances, diseases or tumors.

Keywords:

laboratory mice, inbred populations, outbred populations, specific characteristics, medical studies

Obsah

Úvod	1
Cíl práce	1
Hlavní část	2
Historie a vznik laboratorních myší	2
Outbrední kmeny	3
CD-1 myši	4
Swiss myši	10
NMRI myši	14
Inbrední kmeny	18
Kmen DBA	20
Kmen C57BL	26
Kmen C3H	29
Kmen BALB/c	35
Závěr	41
Seznam použité literatury	43
Literární zdroje	43
Internetové zdroje	52

Úvod

Práce se zabývá využíváním laboratorních myší při vědeckých experimentech. Je známo, že ze všech laboratorních zvířat jsou právě myši k laboratorním pokusům nejvíce používány. A právě tento fakt mě donutil zamyslet se nad tímto živočišným druhem. V této práci proto studuji myši pro jejich schopnosti a vlastnosti, kvůli nimž jsou používány při pokusech. Abych mohl posuzovat jednotlivé kmeny myší, musím začít od začátku jejich vzniku. V práci proto uvedu kdy, kdo a z jakého důvodu začal šlechtit jednotlivé myší kmeny, popřípadě jaký má z toho lidstvo užitek. Posléze myši rozdělují na hlavní skupiny, charakterizují je a popisují jejich vznik a důvody použití. Ke každé skupině jsou následně přiřazeny jejich nejznámější a zároveň nepoužívanější kmeny. K jednotlivým kmenům jsou uvedeny experimenty, na které jsou nejčastěji použity. Každý kmen se od ostatních genotypově a fenotypově liší. Mají jiné vlastnosti a mohou mít různé fyziologické či anatomické anomálie. Díky těmto poruchám se však stávají vhodnými kandidáty pro daný experiment. V závěru práce jsou získané informace porovnávány, vyhodnoceny a je uvedeno, v jakém vědeckém odvětví jsou laboratorní myši nejčastěji používány.

Cíl práce

Cílem práce je zjistit, jaké kmeny laboratorních myší se nejvíce používají při experimentech a zhodnotit důvody a potřeby k jejich využívání, dále v jakém oboru se nejvíce laboratorní myši využívají, co nám pokusy přinášejí a proč se zrovna tento živočišný druh k této činnosti používá.

Hlavní část

Historie a vznik laboratorních myší

Jedním z hlavních zastupitelů rozvoje medicíny ve 20. století byla, bez jakýchkoliv pochybností, laboratorní myš. Díky tomu, že se na ní dala testovat léčiva, pomohla tak k záchraně a uzdravení bezpočtu lidských životů. Jednou z hlavních výhod je její malá velikost, dobrý reprodukční potenciál, nenáročnost v chovu a jednoduchá manipulace. Když k tomu ještě přidáme obrovskou rozmanitost linií, které se relativně snadno získávají, není pochyb o tom, proč se tento malý živočišný druh, který byl zpočátku pro lidi pouze jen škůdcem, stal tak široce využívaným po celém světě (Macholán, 1997). Brown dodává, že i když navenek myš vypadá velmi odlišně od člověka, její vývoj, fyziologie a biochemie je pozoruhodně podobná lidské. Myš má rozsáhlou genetickou výbavu, to jí umožňuje měnit své geny a pomocí toho lze určit důsledky onemocnění. Díky těmto důvodům se myš stala nejdůležitějším organismem pro modelování a studium genetiky lidských chorob.

Staats (1966) uvádí, že jednotlivé rozdíly mezi kmeny laboratorních myší se využívají v mnoha oblastech a experimentech. Mezi tyto rozdíly patří náchylnost na onemocnění, povaha onemocnění působením daným patogenem, doba přežití infikovaných subjektů, velikost vrhu, počet vrhů, mateřské péče, citlivost, výroba různých hormonů, reakce na implantaci nebo vyjmutí endokrinních orgánů, tolerance na chlad, růst výkonnosti na různé stravovací vzorce, schopnost produkce protilátek, krevní složka, hodnoty krvinek a enzymů v různých orgánech. Dle Bogue a Grubb (2004) je laboratorní myš jednou z nejlepších a nejpoužívanějších voleb pro mnoho studií v medicíně a biologii. Spolehlivé fenotypové údaje jsou nezbytné pro plné využití genetických informací vycházející ze snahy o zjištění pořadí lidského a myšího genomu. Tyto údaje umožňují lidem nalézat vhodné kmeny pro své studie. Například fyziologické vyšetření, léčiva, toxikologické studie, mutageneze, modelování lidských nemocí, QTL analýzy a identifikace nových genů a odhalení vlivů prostředí na genotyp.

Podle Macholána (1997) patří mezi hlavní zakladatele šlechtění laboratorních myší Clarence Cook Little, který studoval dědičnost zbarvení srsti na Zemědělské škole v Harvardu. Za dva roky výzkumu se mu podařilo vytvořit první inbrední kmen DBA. Staats (1966) upozorňuje

na to, že kmen byl vytvořen pářením bratra se sestrou po 20 generací. Macholán (1997) uvádí, že tento kmen nesl recesivní alely pro znaky „dilution“ (d), „brown“ (b) a „non-agouti“ (a). Na kříženci DBA s potomkem jedné z albinotických inbredních linií byl poprvé prokázán dědičný základ rakoviny. Inbrední linie byly označeny písmeny A, B, C, D atd. To se stalo základem pojmenování dnešních kmenů (např. C3H, BALB/c atd.).

Staats (1996) píše, že sám Little měl zájem o studium nádorových onemocnění, ale chápal problém zdokumentování těchto stavů. Další problém bylo, že se nádory objevují poměrně pozdě v životě zvířete a jsou velmi ovlivňovány životním prostředím. Výzkum by se však mohl usnadnit tím, že by se odstranila velká genetická rozmanitost.

Jak uvádí Macholán (1997), opravdové docenění laboratorních myší bylo ve 20. století a to díky rozsáhlým možnostem v lékařském výzkumu. Zjistilo se, že nádorové buňky, které se transplantují do inbredních myší, nejsou organismem odmítnuty, ale dále se vyvíjí a množí. V těchto myších se dají dále pozorovat a zkoumat. Výhodou je, že inbrední myši jsou přesně definované a geneticky dobře kontrolovaným objektem. To vedlo k dalšímu šlechtění laboratorních myší s nejrůznějšími vlastnostmi a genetickou strukturou pro jednotlivé pokusy. Vysoké využití v laboratorních experimentech nám potvrzuje i fakt, že v roce 1978 byly ve Velké Británii ze všech laboratorních zvířat přes 60% právě myši. Laboratorní myši se tak postupem času staly hlavními postavami v oboru lékařství či v oborech biologického zaměření a jejich počet a rozmanitost rok od roku stoupá po celém světě.

Je třeba dodat, že se dnes v laboratořích nechovají pouze inbrední kmeny myší. Ale taky tzv. outbrední linie myší, která je z většiny zastoupena myšmi „Swiss albinos“. Ty pocházejí ze skupiny 2 samců a 7 samic. Ty byli od roku 1926 mezi sebou pářeni a z nich se později vyšlechtilo i další inbrední kmeny jako například SWR, SJL, BSVR atd.

Outbrední kmeny

Outbrední populace vznikají pomocí nepříbuzenské plemenitby. Bienertová Vašků a kolektiv uvádí, že každý takto vzniklý jedinec je geneticky jedinečný a liší se od ostatních jedinců. Outbrední populace mohou mít některé společné znaky, ale nejsou geneticky přesně definované. Outbrední jedinci z jedné kolonie mohou být geneticky rozdílní, na druhou stranu

outbrední jedinci z odlišných kolonií (i jiných kmenů) mohou být geneticky navzájem více podobní. Výhodou outbredních populací je vysoká reprodukční produktivita, což se odráží i v nižší ceně a snadné dostupnosti.

Jak Jebavý a kolektiv (2011) uvádí „Nepříbuzenská plemenitba je nejčastěji používanou metodou plemenitby v chovech laboratorních zvířat. Umožňuje s relativně nízkými náklady vyprodukovat velká množství zvířat, neklade příliš vysoké nároky na odbornost personálu a evidenci v chovu a při jejím správném uplatňování je možno dlouhodobě uchovat žádanou míru variability i dobrou plodnost produkovaných zvířat. Získávaná zvířata jsou vhodná pro většinu experimentů v laboratorní praxi. Aby nedocházelo k rychlejšímu nárůstu homozygotnosti určitých znaků, je nutno, aby jedinci vybíraní pro páření neměli minimálně po 7 až 8 generací společné předky“.

CD-1 myši



Zdroj: www.criver.com

CD-1 myši patří mezi kmeny laboratorních outbredních myší, na kterých se nejčastěji provádějí experimenty. CD-1 myši se používají na různé typy experimentů. Jednou z možností studií jsou například zánětlivé reakce. Newsome et al. (2011) provedli klinické studie s biologickými modifikátory zaměřené na specifické zánětlivé zprostředkovatele spojené s těžkou sepsí, které ukázaly žádnou nebo pouze omezenou dobu přežití. Zánětlivé reakce jsou závislé na vrozené imunitě jedince. Bylo zjištěno, že pokud se před infekcí podají rozpustné beta-glukany, polymery glukózy v buněčné stěně, stimuluje se obranyschopnost imunitního systému jedince (jak u lidí, tak u zvířat). Proto bylo potřebné zjistit, jaké bude mít účinky podání intravenózně pgg-glukanu (poly-(1,6)- β -D-glukopyranosyl-(1,3)- β -D-glukanu glukopyranose) po nástupu polymikrobiální infekce cecal ligace a punkce (CLP). K této studii byly použity outbrední myši CD-1, které byly dále rozdělené na samce a samice. Byly jim podávány pgg-glukany o dávce 10 mg/kg, nebo kontrolní polysacharid, dextran. A to za jednu hodinu po nástupu CLP. Po dalších šesti hodinách byly odebrány krevní vzorky. Z těch se zjistilo, že samice myši mnohem lépe využívají pgg-glukany, které se v samicích dokážou udržet až 10 dní od podání. U samců byl nejlepší výsledek jen 24 hodin. Pgg-glukan snižuje u samic IL-6 a IL-10 a také

bakterijní zátěže v játrech. Chceme-li zlepšit účinek pgg-glukanu, má se podávat na dané místo zánětu, než jej aplikovat nitrožilně. Při této léčbě se nemusí preventivně podávat beta-glukan.

Často jsou CD-1 myši použity pro zkoumání různých onemocnění a jejich vývoj. V pokusu kde Ho et al. (1999) zjišťovali vývoj inzulin-dependentní diabetes mellitus (IDDM), se do CD-1 myši injekčně aplikoval alloxan (50 mg/kg in vivo), z důvodů vyvolání IDDM. Ukázalo se, že 15 minut po podání alloxanu vznikla ve slinivce reaktivní forma kyslíku (ROS), která se podílí na destrukci beta-buněk pankreatu a rozvíjí IDDM. Za 30 minut po aplikaci alloxanu se v pankreatu zaktivoval NFkB (zjištěno díky elektroforetickému testu mobility). Předpokládá se, že NFkB v ROS iniciuje pořadí událostí vedoucích k buněčné smrti. Regulátorem NFkB je antioxidant GSH. Suplementace N-acetylcysteinu (NAC) podávaná 500 mg/kg, předchůdce GSH, potlačuje alloxan vyvolávající aktivitu NFkB a snižuje hyperglykémii (diabetes). Glykémie zde byla sledována po dobu 14 dnů. Po aktivaci NFkB a objevení ROS nastává sled událostí vedoucích ke vzniku IDDM. Inhibice NFkB a aktivace NAC vede k oslabení závažnosti IDDM. Tento výzkum tak pomůže k pochopení vzniku IDDM a může vést i k prevenci proti této nemoci.

Shibley a Smith (2002) zkoumali buněčné mechanismy spojené s rozvojem temporální epilepsie (TLE). Konkrétně se zkoumal vývoj spontánních záchvatů, současně se vznikem axonu v gyrus dentatus na CD-1 myši, po injekčním podání pilokarpinu. Pilokarpin u tohoto kmene vyvolává záchvaty a status epilepticus (SE). Objevili se i jedinci, u kterých se nevytvořil SE po podání pilokarpinu. Po několik dní, co byl aplikován pilokarpin, nebyla zpozorovaná žádná odlišnost v chování, později se objevily spontánně tonicko-klonické záchvaty u většiny myší, které přežili pilokarpinem vyvolanou SE. Za 4-8 týdnů byla zpozorována robustná mechová vlákna vklíčená do vnitřní molekulární vrstvy a buněčná ztráta se projevila i na hypocampu. To se projevilo jen u myší, které zažili SE. U myší, které nezažili SE, nebylo zpozorováno žádné klíčení mechového vlákna ani spontánní záchvaty. Tato studie dokazuje, že pilokarpin vyvolává spontánní záchvaty a klíčení mechových vláken v CD-1 myši. Model pilokarpin nabízí užitečný nástroj pro studium TLE.

Kmen CD-1 se dá použít na studium působení určitých preparátů, které se používají v lidské společnosti. Těmito látkami mohou být například drogy a jiné návykové látky. Hlavním cílem

výzkumu Valjent et al. (2004) bylo identifikovat molekulární mechanismy při dlouhodobých změnách chování vyvolané drogami. Kokain a delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) aktivují extracelulární signálně-regulovanou kinázu (ERK) ve striatu. Blokované ERK dráhy zabraňují ve vytvoření podmíněně preferovaných míst na tyto drogy. Nicméně není známo, zda aktivace ERK ve striatu je specifická pro tyto dvě drogy a/nebo oblast mozku. V tomto pokusu se CD-1 myším akutně podávaly drogy, které jsou často zneužívány lidmi. Byl to kokain, morfin, nikotin, THC nebo jiné psychoaktivní látky včetně kofeinu, skopolaminu, antidepresiv a antipsychotik. Studoval se výskyt fosfo-ERK imunoreaktivních neuronů v mozku myši. Každá použitá droga vytvářela zřetelně regionální vzor pro aktivaci ERK. U všech návykových látek vzrostla ERK fosforylace v nukleus accumbens, laterálním jaderním lůžku terminalis stria, centrální amygdale a v hluboké vrstvě prefrontální kůry a to díky dopaminovým receptorům D1. I když některé nenávykové látky v určitých oblastech mírně aktivovaly ERK, nikdy nevyvolaly silnou aktivaci. Antidepresiva a kofein aktivovaly ERK v hipokampu a kůře mozkové. Antipsychotika mírně aktivovaly ERK na hřbetním stratu a na povrchu prefrontální mozkové kůry. Klozapin neměl žádný vliv na striatum, ale více ovlivňoval mozkovou kůru a amygdalu. Výsledky nastínily podmnožinu struktur, v nichž aktivace ERK může specificky přispět k dlouhodobým účinkům drog. Dále navrhuji mapování aktivace ERK v mozku jako způsob, jak identifikovat potenciální lokality pro působení psychoaktivních látek.

CD-1 myším mohou být podávány různé látky a sledovány jejich hodnoty. Na plodech samic CD-1 myši, Alworth et al. (2002) zkoumali účinky diethylstilbestrolu (DES) (0,1 mg/kg/den) a insekticidu methoxychloru (MXC) (10 mg/kg/den), dále pak jejich tisíci násobně vyšší dávky, tedy 100 mg/kg/den DES a 10000 mg/kg/den MXS. Tyto látky byly podávány samicím ve 12. – 18. dnu těhotenství. Samice dostávající dávku 0,1 mg DES měly výrazně silnější dělohu než samice dostávající 100 mg DES. Samice prenatálně vystavené dávce do 10 mg/kg MXC měly výrazně silnější dělohu než samice dostávající 10000 mg/kg MXC. Samice, které byly vystaveny dávce DES, měly hmotnost jater výrazně vyšší, než samice nedostávající nic. Sekvenční data a analýzy nám ukazují nárůst 18S rDNA a 45S rDNA pre-metylace v děloze, ovlivněné nízkými či vysokými dávkami DES. Bylo zjištěno, že látka (DES), v závislosti na dávce, ovlivňuje expozici plodu či děložní reakce na estradiol. Dále byla nalezena dávková reakce na vztah, při prenatální expozici, DES na hmotnost jater či ribozomální DNA hypermethylation.

Newbold et al. (2002) popisují klinické studie na pokusných zvířatech, na kterých sledovali asociace na prenatální působení diethylstibestrolu (DES). Následně se sledoval i vývoj abnormalit v reprodukčním traktu, včetně špatných reprodukčních výsledků a neoplazie. Ve většině případů se pokusy soustředily na působení DES, který vyvolal epiteliální léze, zejména vaginální adenózu a adenokarcinom, dále bylo zjištěno, že dalším cílem DES jsou hladké děložní svalové buňky. Tato zpráva charakterizuje děložní leiomyom, který se vyskytuje u CD-1 myši po působení DES prenatálně 9. až 16. den těhotenství nebo během 1. až 5. neonatálního dne. Tyto zjištěné děložní leiomyomy mají typické histomorfologické a některé imunohistochemické vlastnosti, které se spontánně vyskytují v hladké svalovině dělohy při nádorech u myši B6C3F1, popsané již dříve. Tyto nádory jsou podobné děložní leiomyomům (myomům), které jsou často pozorované u žen před menopauzou.

Popřípadě byly zjišťovány rozdíly mezi pohlavími v reakcích na zkoumané látky. Ve své studii McDermott et al. (1994) porovnávali metabolismus striatálního dopaminu mezi samci a samicemi u CD-1 myši. Ty byly léčeny 2 dny estrogeny nebo vozidlovými oleji. Během toho se měřili hodnoty bazální a draslíko-stimulujícího dopaminu a kyseliny 3, 4-dihydroxyphenylacetic (DOPAC). Jak bazální tak i draslíko-stimulující dopamin byl výrazně vyšší a DOPAC byl naopak výrazně méně uvolněn u samců než u samic, stejně tak byl i nižší striatální obsah tkáně dopaminu. U samic léčené estrogenem výrazně vzrostl bazální a draslíko-stimulující dopamin, ve srovnání se samicemi léčenými oleji. Tyto oleje neměly žádný vliv na obsah dopaminu v tkáni. U samců však estrogeny neovlivnily uvolnění či koncentraci striatálního dopaminu. Z toho lze usuzovat, že jsou zde jasné pohlavní rozdíly v obsahu a koncentraci striatálního dopaminu při stejném hormonálním stavu. U samic se zjistilo, že estrogen má značný vliv na látkovou výměnu striatálního dopaminu (působení hlavně ke zvýšení syntézy neuronálního dopaminu) a uvolňují se bez zvýšeného vyčerpání dopaminu. Zjištěné výsledky mají velice důležitý význam při pozorování pohlavních rozdílů u klinických pohybových poruch, jako je Parkinsonova nemoc.

Jedním z nejčastějších experimentů, na které jsou myši používány, je studium nádorů. Mohou se na nich se zkoumat karcinogenní účinky různých látek a jejich působení v těle myši. Newbold a Liehr (2000) zjišťovali karcinogenní potenciál katechol estrogenů. K experimentu se použil model, u kterého již dříve bylo nalezeno děložní adenokarcinom po neonatální

vystavení diethylstibestrolu. K pokusu byly použity 1-5 dny stará mláďata CD-1 outbredních myší, ale pouze samice. Myši byly léčeny 2- a 4-hydroxyestradiolem, 17 β -estradiolem nebo 17 α -ethinylestradiolem o dávce 2 mg na kus a den. Mláďata byla usmrcena ve 12. nebo v 18. měsíci života. U myší, které byly léčeny 17 β -estradiolem nebo 17 α -ethinylestradiolem byl výskyt děložních nádorů okolo 7 nebo 43 %. Myši dostávající 2-hydroxyestradiol měly výskyt nádorů 12%. Nejvyšší výskyt děložních adenokarcinomů (66 %) měly ty myši, které dostávaly 4-hydroxyestradiol. Jak 2- tak i 4-hydroxylové katecholáty byly estrogenní a zvyšovali živou hmotnost těchto mláďat. Také to ukazuje, že 2- i 4-hydroxyestradiol jsou karcinogenními metabolity. Vysoký výskyt nádorů po podání 4-hydroxyestradiolu podporuje předpokládanou roli tohoto metabolitu v hormonálně souvisejících nádorech.

V dřívějších studiích se zjistilo, že složka obilné stravy inositol hexaphosphate (InsP6) potlačuje azoxymethany, které v experimentech vyvolávají rakovinu tlustého střeva (LIC) u potkanů Fischer 344. Nyní tento pokus prováděli Shamsuddin et al. (1989) i u CD-1 myší, které dostaly injekci s 1, 2-dimethylhydrazinem (DMH). LIC byla vyvolána DMH (podávané 13 x týdně 15mg/kg) v 1 % směsi, při přidání 1 % InsP6 se vykazuje snížení výskytu LIC díky InsP6 léčbě. Údaje tělesné hmotnosti nezaznamenaly žádné zjevné toxické účinky po dlouhodobém podávání InsP6. Při pokusech na dvou druzích pokusných zvířat se jeví InsP6 jako protinádorová a je třeba ji zvážit jako preventivní opatření proti rakovině tlustého střeva.

Kromě látek vyvolávající nádory, je kmen CD-1 využíván k nalezení ochrany proti nádorům. Saleem et al. (2004) hledali náhrady za chemoprevenci, která by zasahovala víc procesů při vzniku rakoviny a tím by se stala výkonnější v procesu léčení, zkoušeli látku Lupeol triterpenon. Lupeol je jednou z hlavních složek ovocných rostlin, jako je olivovník, mangovník, fíkovník či léčivých bylin, které se používají při léčbě kožních alimENTS. U lupeolu je známo, že má široké léčivé účinky, například je silně antioxidační, antimutagenní, protizánětlivý a antiartritický. Proto se v této studii zkoumalo, jestli má i protinádorové účinky na kůži myší. Lupeol se aplikoval na kůži CD-1 myší, před 12-O-tetradecynoyl-phorbol-13-acetátem (TPA) vyvolávající tradiční znaky kožního nádoru. Bylo zjištěno, že po lokální aplikaci lupeolu (1-2 mg/myš) 30 minut před TPA (3,2 nmol/myš), na myší kůži bylo v závislosti na čase a dávce zjištěna zábrana ve zvýšení TPA. U zvířat, kterým byl podán lupeol, se výrazně snížil výskyt nádorů, čímž se snížila tělesná zátěž a došlo ke značnému zpoždění latence u nádorů. Po skončení experimentu za 28 týdnů, 100% zvířat ve skupině,

kterým bylo podáváno TPA, mělo 7 až 8 nádorů/myš. U myši které byly léčeny lupeolem před zahájení aplikace TPA, bylo pouze u 53% myši nalezeno 1 až 3 nádory. Tyto výsledky poprvé prokázaly, že lupeol podporuje CD-1 myši proti nádoru a inhibuje stejně dobře i nové biomarkery podporující nádory. Proto bylo navrženo, aby lupeol, jako atraktivní protinádorující podporující činitel, byl dál využit i u jiných než u kožních nádorů.

Bomser et al. (1999) studovali protinádorové aktivity polyfenolické frakce ze semen hroznů (GPS), která byla zkoumána na pokožce kůže CD-1 myši. Byla zkoumána schopnost této frakce na inhibici 12-Otetradecanoylphorbol-13-acetátu (TPA), který podporuje vyvolání tumoru a dále podporuje činnost dvou markerů, ornithinu dekarboxylázy (ODC) a myeloperoxidázy (MPO), nacházejících se v kůži myši. Předběžné ošetření myši kůže 5, 10, 20 a 30 mg GPS, v závislosti na dávce, vedlo ke snížení TPA-vyvolávající epidermální ODC aktivitu o 23, 37, 48 a 70%. Pokud byla kůže předběžně ošetřena dávkou 1, 5, 10 a 20 mg GSP, vedlo to k výraznému snížení aktivity MPO o 43, 39, 54 a o 73%. Dvoutýdenní léčba myši kůže 5, 10 a 20 mg GSP 20 minut před aplikací TPA, vyústilo k 30, 40 a k 60 % snížení výskytu kožních nádorů. Konečný počet nádoru v myších, při léčbě 5, 10 a 20 mg GPS, se snížil o 63, 53 a o 94%. To dokazuje, že GSP má podporující protinádorové účinky při použití na pokožku CD-1 myši, před podání TPA. Inhibice nádorů při podání GSP je z části způsobena potlačením TPA, přetušuje se tak epidermální aktivita ODC a MPO. Proto by se měl GSP dál používat při hledání prevence proti rakovině.

Při experimentu, kdy Afaq et al. (2005) hledali nové látky s protinádorovými účinky, které by zasahovaly více než jednu kritickou část v karcinogenením procesu, použili extrakt z granátového jablka (PFE). Tento extrakt má silné antioxidační a protizánětlivé vlastnosti. Z granátového jablka se extrahuje aceton, který na základě analýzy obsahuje antokyany, hydrolyzovatelnou ellagitannins a třísloviny. PFE lokálně aplikovali na CD-1 myš, před podáním 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetátu (TPA), vyvolávací tradiční i nové znaky podporující kožní nádor. Bylo zjištěno, že po podání lokální aplikace PFE na kůži myši 30 minut před podáním TPA (3,2 nmole/myš) se výrazně omezil TPA v závislosti na čase. Dále se zjistilo, že lokální aplikace PFE na kůži CD-1 myši vyústila ke snížení TPA podporující kožní nádory. Zvířata, která dostala PFE, měla procentuálně ve srovnání s ostatními jedinci bez aplikace PFE podstatně nižší výskyt nádoru a i sníženou tělesnou zátěž. Ve skupině, kde bylo pouze aplikováno TPA, mělo 100% myši nádor v 16. týdnu testu. Ve skupině myši,

kterým bylo podáno PFE, mělo nádor pouze 30 % jedinců. Podáním PFE před TPA také vedlo k poskytnutí ochrany před vznikem nádorů, anebo k 9 - 14 týdenní zpoždění latence. Výsledky této studie jasně ukázaly na podporující účinky vůči nádoru u CD-1 myši. Díky tomu, že PFE má vlastnost bránit klasickým i novým biomarkerům TPA, zabraňuje tak v nádorové podpoře, lze ji použít v chemoprevenci u další z řady nádorových modelů. Proto je zcela oprávněné dále pracovat na studiu zabývajícím se definicí aktivních látek v PFE, které mají protinádorové účinky.

Swiss myši



Zdroj: www.dynamiccashflow.com

Laboratorní kmen Swiss je další z outbredních myších využívaných ve studiích. U těchto myší se často objevují nádory. Dle Prejean et al. (1973) byl spontánní výskyt nádorů, ve výši 26%, zaznamenán u 254 Swiss myší (101 samců a 153 samic). Tyto myši byly používány, bez ošetřování, při sérii experimentů na karcinogeneze v 18 měsících. Nejvíce nádorů bylo nalezeno v plicním systému, více však u samic než u samců. Nádory nalezené v močové soustavě měli pouze samci. Dále byly zjištěny nádory integumentu, v reprodukčních, retikuloendoteliálních a lymfatických orgánech.

Proto jsou Swiss myši značně využívány ve studiích ohledně vzniku a průběhu nádorových reakcí, a pomáhají nám zjistit, jaké látky tyto reakce vyvolávají. Azuine a Bhide (1992) v experimentu hodnotili antikarcinogenní účinky kurkumy na benzo[a]pyrenu (BP), který vyvolává žaludeční neoplazie a na 7,12-dimethylbenz[a]antracen (DMBA), který u samic Swiss myší vyvolává kožní nádory. Kurkuma (2 nebo 5 %) ve stravě výrazně utlumila BP, ale tento účinek je závislý na času a dávce. 2 % kurkuma ve stravě výrazně dále potlačila DMBA. Tyto výsledky tak dokazují, že kurkuma má ochranný účinek proti BP, vyvolávající v žaludku nádory a proti DMBA, vyvolávající kožní nádory u myší.

Ertürk et al. (1970) podali 50 myším samicím kmene Swiss, 5 týdnů starých, N-[4 - (5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamid v dávce 0,094 % hmotnostní stravy. Doba podávání této látky byla 46 týdnů a poté následovalo sedm týdnů kontrola stravy. Třicet tři testovaných myší přežil 40 týdnů nebo i déle s následným výskytem nádorů: močového měchýře (31 myší z 33), leukémii (23/33), plicní (6/33) a 1 děložní nádor.

Ve své studii Bull et al. (2004) samicím myši ICR-Swiss ústně podávali dávky akrylamidu v rozmezí 12,5 až 50 mg/kg. Jedna dávka jim byla podána jednou za 3 dny po dobu dvou týdnů (celkové dávky 75, 150 a 300 mg/kg). O dva týdny později byla některým zvířatům podána 2,5 mg TPA/myš třikrát týdně. Vývoj nádorů v kůži byl zpozorován o týden později, nádor v plicích až za rok. Akrylamid byl nalezen v zahájení dlaždicových buněk adenomu a karcinomu v kůži, zároveň zvyšuje tvorbu adenomů a karcinomů v plicích. Rozvoj kožních nádorů byl závislý na podpoře 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetátu (TPA), zatímco u plicních nádorů nebyl. Tyto údaje nám pomáhají rozšířit informace o působení akrylamidu v kůži a v plicích ICR-Swiss myší.

Osswald et al. (2005) studovali transplacentární karcinogenitu patulinu. Na tento výzkum bylo použito dvanáct březích Swiss myší. Každá z myší obdržela, v podobě žaludeční intubace, dvakrát denně dávku 2 mg patulinu/kg. Tato dávka ji byla podávána ve 14. až 19. dnu těhotenství, což představuje celkovou dávku 24 mg/kg. Potomci těchto myší neprokázaly žádné důkazy o působení patulinu, ale během novorozeneckého období (2-6 dnů po porodu) jedenáct z 52 samic a osm ze 43 samců, léčených po narození patulinem, zemřeli. Všichni takto uhynulí jedinci měli příznaky toxicity, zatímco v kontrolní skupině, do šesti týdnů po porodu, k žádnému úhynu nedošlo.

Anorganický arsen (As) je pro lidi karcinogenní, nebylo však jednoznačně prokázáno karcinogenní vlastnosti u hlodavců. Proto se v tomto experimentu Waalkes et al. (2002) zabývali účinky injekčně opakovaně podávaného sodíku arzeničnanu. Zkoumaly se nádorové reakce na samcích a samicích Swiss myších. Skupiny, o počtu 25 jedinců, dostávaly sodíkový arzeničnan (0,5 mg/kg) nebo fyziologický roztok (kontrolní skupina) jednou týdně po dobu 20 týdnů, celkem byly pozorovány 96 týdnů, do doby, kdy studie skončila. U samic vyvolal arzeničnan výrazný nárůst výskytu a závažnosti cystické hyperplazie dělohy. Arzeničnan také vyvolal vzácný adenokarcinom dělohy a zvýšení jaterních proliferativních lézí (ložiskové

změny + neoplazie), ale pouze u samic. Značné kožní změny (výskyt hyperkeratotických lézí) a renální léze (závažné nefropatie) se také vyskytly u arzeničnanem léčených samic. Opakované použití arzeničnanu, i když ne úplně karcinogenního, je spojeno s proliferativním, preneoplastickým poraněním dělohy, varlat a jater. Estrogen léčba byla spojena s proliferativními lézemi, nádory dělohy a samičích jater a v jiných studiích i varlat. To podporuje hypotézu, že by mohl arzeničnan jednat prostřednictvím estrogenního působení.

Conybeare (2002) zkoumal karcinogenní účinky krmiva. K pokusu se použili krmiva PRD nebo 41b (upravená), ty byly podávány buď ad libitum nebo v 75% spotřeby ad lib. Krmiva byla testována na skupině 80 myši, obou pohlaví, kmene Swiss. Zvířata byla krmena od 4 týdnů věku. Myši byly pozorovány a váženy každý den do konce experimentu. Pokud myš umřela, byla provedena její celková pitva. Experiment byl ukončen po 18 měsících. U obou pohlaví, nehlédě na typ krmiva, byla dietní krmiva spojena s mírně lepšími výsledky přežití a velmi výrazným snížením výskytu všech typů nádorů. Myši krmeny 41b měly, v porovnání s PRD stravou, vyšší výskyt nádorů. Tyto výsledky můžou být použity při dalších laboratorních testech na karcinogenitu.

Karcinogenní látky se do myšího těla nemusejí dostávat pouze potravou či injekčním podáním. Pomocí trasplantace lze do myši vpravit i samotný karcinom. Costa a Holland (1962) zkoumali celkové složení těla myši nesoucí Krebs-2 karcinom, který jim byl podkožně transplantován. Byl zkoumán průběh nádorového bujení v několika časových intervalech. K tomuto experimentu byl použit dospělý samec Swiss myši o průměrné hmotnosti 38 mg. V pokusu utrpěl výraznou ztrátu tuky při růstu nádoru Krebs-2. Změna tukového množství probíhala ve třech etapách. První fáze: ztráta asi 50 % tuku zvířete, došlo k ní do 7. dne po transplantaci, než nádor dosáhl značné velikosti. Druhá fáze: fáze rovnovážného stavu, nedošlo k žádnému odbourávání tuku i přesto, že nádor rostl. Toto období trvalo od 7. do 28. dne. Třetí fáze konečná (před smrtí), díky nádoru přišlo zvířete o značné množství tuku.

Je i možné do Swiss kmene přenést virus, jenž se u něj dříve nevyskytoval. Díky tomu nemá myš vůči tomuto viru žádnou obranyschopnost a lze u ní pozorovat celkový průběh onemocnění, jenž nám může pomoci při boji proti virovým onemocněním. Todaro et al. (1973) izolovali virus typu C-RNA, tento virus se rychle replikuje v buňkách člověka nebo v dalších primátech. Virus byl získán z lidských buněk rabdomyosarkom (RD), ten byl posléze transplantován do

imunosuprimovaných NIH Swiss myši, v tomto myším kmenu nebyl C virus dosud izolován. Nová izolace nepopsaného endogenního typu C viru v NIH Swiss myších nebo jeho rekombinaci, nám může přinést nové informace o C viru. Také můžeme zkoušet tyto myši léčit Antithymocytin sérem. Získané údaje pomohou při boji proti C-RNA viru u lidí.

Dále nám Swiss myši mohou poskytovat údaje o anatomických a fyziologických činnostech, při různých typech poranění a jejich případné regeneraci. Jak uvádějí Grounds a McGeachie (1989), svalová replikace prekursoru v Swiss myši, ve které regenerace svalů je mimořádně intenzivní, se srovnávala s regenerací BALB/c myši. Přední sval tibialis byl u 23 samců a 15 samic Swiss SJL/J myši poškozen a následně byl v různých dobách po poranění myším vstřikován tritiated thymidin. Vzorky byly odebrány 10 dní po zranění a dále byly analyzovány počty jader myotube pomocí autoradiografie. Regenerace svalu byla výraznější u samců než u samic myši Swiss a regenerace větší než v BALB/c myši. Autoradiografické analýzy ukázaly, že sval začal replikaci prekursorů za 24 hodin u Swiss myši, o 6 hodin dříve než u BALB/c myši, u kterých se prekursory začaly replikovat až za 30 hodin. Svalové replikace prekursorů byla u Swiss myších samic více aktivní za 96 hodin po zranění, ve srovnání se samci Swiss a BALB/c myši, i když počty buněk pro replikaci prekursorů byly podobné. Není známo, proč je rozdíl v nástupu replikace svalových prekursorů a zda může sám zodpovídat za kompletní regeneraci svalů u Swiss myši. Podobné studie byly provedeny u 11 samčích a 10 samičích hybridů (SJL/J x BALB/c) myši, ty díky analýzám myotube jader ukázaly, že svalové prekursory neuměly syntetizovat DNA dřív než za 30 hodin po zranění. Regenerace se tak víc podobala BALB/c myši než Swiss.

Swiss myši se zapojují do experimentů, kde se zjišťuje vliv podávaných látek na jednotlivé orgány v těle. Souvislost mezi leptinem a zánětem jater byla studována Balasubramaniya et al. (2003). Cílem tohoto pokusu bylo zhodnotit vliv leptinu na peroxidaci lipidů tkáně a antioxidační stav u experimentální hepatotoxicity. Podávání etanolu (6,32 g/kg živé hmotnosti) čtyř-týdenním zdravým myším, po dobu 45 dnů, mělo za následek významné zvýšení hladiny tkáňové thiobarbituric kyseliny reaktivní látek (TBARS), konjugovaných dienu (CD) a snížení činnosti superoxidismutázy (SOD), katalázy (CAT), redukce glutathionu (GSH) a glutathionu příbuzné enzymy, jako je glutathionperoxidázy (GPX) a glutathion s-transferázy (GST), ve srovnání kontrolními myši. Následně na experimentálně vyvolané hepatotoxicitě (po dobu 30 dnů) byl obden aplikován leptin (230 mg/kg živé hmotnosti), po

dobu 15 dnů a souběžně podáván s denní dávkou alkoholu. Kontrolní podávání leptinu a alkoholu myším výrazně snížilo jejich tělesnou váhu, ale na druhou stranu výrazně zvýšilo hodnoty TBARS a CD v játrech a ledvinách, dále snížilo množství enzymatických a non-enzymových antioxidantů ve srovnání s myšmi, které nebyly kontrolovaně léčeny a nedostávaly žádný alkohol. Předpokládá se, že zvýšením hladiny leptinu se zvýší oxidační stres a sníží antioxidační obrana, což vede k zánětu jater, který je dále rozšířen na alkoholické onemocnění jater.

NMRI myši

Jak Festing (1998) udává, jsou NMRI myši albíni. Původně vznikly z non-inbredních Swiss myší v roce 1937. Byly známy jako kmen myší NIH/PI. Tento kmen využívalo na své pokusy Americké námořnictvo (US navy) a posléze byl vyšlechtěn kmen NMRI (ze začátku však nebyl tkáňově kompatibilní).



Zdroj: www.taconic.com

Charakteristika: Nízké upřednostňování sladce chutnajících látek (sacharidu, sacharózy, dulcinu a acesulfamu), vysoká hladina kyseliny glutamové dekarboxylázy v mozku, krátký čas spánku u samic po podání hexabarbitolové anestezie, krátký čas spánku po podání pentobarbitonyní anestezie, dobrá primární imunitní odpověď na bakteriofágy, dobrá reprodukční schopnost v kolonii (1,5 mlád'at/samička/týden a velikost vrhu 7,3).

Myši NMRI se používají v mnoha odvětvích vědy, jednou z možností je studium učení v závislosti na kmenu či předchozích zkušenostech. Vicens et al. (1992) vyhodnocovali vliv učení vodního bludiště u dvou kmenů myší (NMRI a C57BL) v raném věku (2 měsíců) pomocí dlouhodobé studie. Myši s nebo bez předchozích příprav byly testovány ve věku 6 měsíců a poté v 10 měsících. Výsledky ukázaly, že zkoušené NMRI myši fungovaly lépe než ostatní testovací skupiny, jak v testování, tak na přezkoušení. Což dokazuje, že dřívější trénink měl lepší vliv na NMRI než na C57BL myši. Z toho lze usuzovat, že účinky raného vzdělávání ve vodním bludišti mohou být ovlivněny vlastnostmi kmene myší. To může pomoci pro studie hodnotící vliv farmakologických a behaviorálních manipulací.

Dále se NMRI myši používají při zkoumání stárnutí a pohybové aktivity v průběhu věku. Jak uvedli ve svém experimentu Lamberty a Gower (2003), u samic myší NMRI, ve věku 3, 6, 9 a 12 měsíců, kdy porovnávali spontánní chování, učení a paměť. Aktivita v otevřené oblasti a spontánní střídání se snižuje s věkem, statisticky významná hranice pro skupinu je v 9. až 12. měsíci (tento pokus se konal v Y-bludišti). Prostorové učení, studováno ve vodním bludišti typu Morris, bylo ve věku 3 a 12 měsíců silně narušeno. Změny pohybové aktivity, schopnost plavání nebo rychlost neprokázaly, že by odpovídaly za tyto deficity. Údaje naznačují, že nástup stárnutí u myší NMRI začíná v 9. a hlavně ve 12. měsíci života. NMRI se taky díky těmto vlastnostem stávají vhodným životaschopným modelem pro studium kognitivních poruch ve stáří.

Kmen myší NMRI se používají na zjišťování různých nebezpečností látek. Zjišťuje se látková toxicita či jiné negativní vlastnosti. Mohtashamipur et al. (1987) popisují ve svém pokusu osm široce používaných halogenových benzenů, brom-benzen (BB), chlorbenzen (CB), tři izomery dichlor-benzen (DCB) a tři izomery dichlorbenzen (TBC), které byly testovány na akutní toxicitu (LD50) a na klastogenitu. K pokusu byly vybrány 8 týdenní NMRI myši, kterým byly dávky podávány intraperitoneálně. Každá směs byla podávána ve dvou stejných dávkách po 24 hodinách. Zjistilo se, že všechny testované halogen benzeny jsou alespoň částečně klastogenní. Nejvyšší klastogenní činnost byla vyvolaná u m-DCB a BB, naopak nejmenší u TCB izomerů.

Kmen NMRI je také používán jako model pro studium lidských onemocnění. Z dřívějších záznamů je známo, že snížení fenotypově hnědého tuku v bílé tukové tkáni (WAT) může přispívat k obezitě a diabetu 2. typu u lidí. Kyselina retinová a karboxylová forma vitamínu A vyvolává u hlodavců snížení tělesné hmotnosti a tím i obezity a zvyšuje rozpad proteinů v hnědé tukové tkáni a kosterní svalovině. V této studii Mercader et al. (2006) zkoumali možnost přestavby účinku all-trans kyseliny retinové (ATRA) v depech WAT. Změny ve vyjádření genů souvisejících s termogenezí, oxidací mastných kyselin a úrovně fosforylovace retinoblastomu bílkoviny byly analyzovány společně s biometrickými a krevními parametry v depech WAT u samce dospělé myši NMRI, do kterého byla vpravena injekce ATRA. Ztráta tělesného tuku po ošetření ATRA nebyla provázena zvýšením cirkulujících neesterifikovaných mastných kyselin a ketolátek, ale byla doprovázena zvýšenou rektální teplotou. Úroveň fosforylovaných retinoblastomů bílkovin v depech WAT byla po léčbě

ATRA zvýšena. Velikost tukových buněk byla snížena a počty hnědých tukových buněk v tříselné WAT byla u myši léčených ATRA naopak zvýšena. Výsledky ukazují, že ATRA podporuje hnědou tukovou tkáň a jeho vlastnosti ve WAT. Pochopení mechanismů a efektorů zapojených do přetváření WAT, může přispět k novým metodám prevence a léčbě obezity a diabetu 2. typu.

NMRI myši jsou vystavovány i různým anatomickým problémům, které jsou záměrně vytvářeny. Glück et al. (2002) v experimentu použili Corxsackievirus B3 (CVB3), který vyvolává myokarditidy v NMRI myši a díky tomu představují dostatečný model pro studium patogeneze chronického srdečního onemocnění. Během akutní fáze myokarditidy nastává mnoho cytokiních modelů. Předpokládá se, že cytokiny hrají důležitou roli v kardiomyopatii. V této studii byly zkoumány cytokiny mRNA a RNA-CVB3 kinetika s důrazem na pozdní fáze myokarditidu, pomocí reverzní transkriptázy-polymerázové řetězové reakce (RT-PCR), v místě hybridizace (ISH) a imunohistochemie (IHC). Zřetelné histopatologické změny v průběhu srdeční choroby se vyznačují zvýšenou fibrózou, trvalou buněčnou infiltrací a degenerativní nekrózou myocytů. Přetrvávání virových genomů v myokardu infikovaných myši bylo potvrzeno v PCR, ISH a v PCR-enzymu související s immunoabsorbentní metodou (ELISA). Výsledky ukazují, že největší virové množství RNA v buňkách myokardu je 7. den po infekci. Z experimentu tedy vyplývá, že přetrvávající virové RNA je spojena s trvale vysokou úrovní cytokinové mRNA. Ty můžou výrazně spět k patologickým změnám a poškození pojivové tkáně v chronické fázi myokarditidy.

Kmen NMRI je také nedílnou součástí v boji proti parazitickým onemocnění, kdy se na nich zkoušejí různé typy protilátek. Knapp a Heesemann (1991) uvádějí, že byla vytvořena monoklonální protilátka proti smrtícímu RH kmenu *Toxoplasma gondii*, který se vytvořil v těle myši. Byly zkoumány rozdílné vlivy protilátek na zhoubné tachyzoites a avirulentní kmeny *T. gondii*, pěstované jako trvalé kultury makrofágických buněk. Na zjištění zhoubnosti zkoumaných kmenů *Toxoplasmy* bylo zapotřebí vstříknout různé počty tachyzoites do NMRI myši a pozorovat, jaké zvíře bude mít příznaky infekce, či jestli neumře. Monoklonální protilátky indentifikovaly 23-kDa antigen, který byl nalezen u myši napadených smrtícími kmeny BK a RH. Tento antigen nebyl však zjištěn u méně virulentních myších kmenů. Díky Western blotu (imunoblot), imunofluorescence a imunoelectronickému mikroskopu byli schopni lokalizovat 23-kDa antigen v membránovém prostoru. Z výsledků usoudili, že se

podle 23-kDa antigenu dá zjistit jedovatost (nebezpečnost) kmenu. To lze používat při klasifikaci jedovatosti *T. gondii* kmenů.

Dále jak uvádí Agger et al. (2009) byly skupiny myši (NMRI) infikovány 6 a 25 metacercariaemi motolice *Echinostoma Caproni* do trávicího traktu. Pro měření specifických protilátek v séru (IgM, IgG a IgA) byl použit Enzym spojovací immunosorbentní vzorek (ELISA). U infikovaných myši byly zaznamenány výrazné hodnoty IgM za 14 dní, IgG a IgA za 28 dní po infekci. Na začátku infekce byla průměrná hodnota IgM vyšší u séra se 6 metacercariaemi než u 25 metacercariaemi. U opožděné infekce měly středně vysokou úroveň hladiny IgA myši dostávající vyšší dávky infekce. Dále se zkoumal výskyt protilátek v tkáni tenkého střeva. IgM a v menší míře i IgG měli nejvyšší průměrnou hladinu v zadní části tenkého střeva, kde byli umístěni parazité. IgA mělo průměrnou hodnotu po celé délce tkáně tenkého střeva. Vysoká hladina specifických IgA byla zjištěna v lumenu tenkého střeva 28 dní po infekci, a to hlavně v přední části, kde se nacházelo pouze několik parazitů. Ve střevním lumenu nebyly v ten den nalezeny žádné specifické IgM nebo IgG látky. Z výsledků je patrné umístění *E. Caproni* a model pro odstranění z těla hostitele.

Jako předchozí outberdní kmeny, je i kmen NMRI využíván při nádorových studiích. Jak uvádí Fischer et al. (1987) je NMRI populace myši, která se běžně používá ve studiích kožní rakoviny. V experimentu byly porovnávány účinky inhibitorů metabolismu a to kyseliny arachidonové a 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetátu (TPA). Tím se měly vyvolat události, jako jsou podpora nádoru, syntéza DNA in vivo a in vitro, indukce ornitinu dekarboxylázy, a syntéza prostaglandinu (PG) E₂. Dávkové rozmezí 50 až 200 mg indometacinu způsobilo u NMRI myši, na dávce závislou, inhibici podpory. K významnému obratu u této inhibice bylo dosaženo při současném použití 10 mg PGF α ale ne PGE₂. Studie ukázaly, že syntéza DNA nízkých dávek indometacinu a flurbiprofenu potlačilo stimulace TPA u NMRI myši. Bylo zjištěno, že indometacinon zabraňuje TPA vyvolávat ornitin dekarboxylázovou činnost a také velmi účinně potlačuje TPA vyvolávat syntézu PGE₂.

Dle Furstenberger et al. (1985), změny na kůži myši NMRI vyvolené phorbol esterem 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetátem v “první etapě nádorové akce“, jsou pomalu vratné za 10 až 12 týdnů. Nádorová reakce byla pozorována v průběhu zahájení podpory experimentu in vivo a není závislá na tom, zda k I. etapě nádorové akce dojde před nebo až po zahájení

podpory experimentu. Vzhledem k tomu, že časový interval mezi léčbou s podporovatelem a následným zahájením, může trvat až po dobu 6 týdnů, zdá se být nepravděpodobné, že by zvýšení zahájení podporovatele, bylo vyvolané buněčnou syntézou DNA. Tento výsledek může být v rozporu s dvoustupňovým modelem podpory nádoru, protože to znamená, že kůže zahájí vznik nových buněk, které nejsou nezbytné pro vyvolání buněčné změny, ale zároveň jsou nezbytné pro první etapu podpory (vzniku) kožního nádoru.

Dvoustupňový model rakoviny, který zahrnuje klonální růst přechodných buněk, získává v posledních letech čím dál větší pozornost. Ten byl vytvořen, aby odpovídal výskytu a rozšíření nádorových dat tak, aby zahrnovaly poznatky uvedené k zahájení podpory karcinogenityckých experimentů. Myši kůže je vnímavá k těmto pokusům a podporují tak tento model, papilomy představují přechodné buňky a karcinomy představují maligní buňky. V tomto pokusu Kopp-Schneider a Portier (1994) uplatňují údaje dvoustupňového modelu týkající se papilom a tvorby karcinomu od zahájení podpory na kůži NMRI myši až po jeho ukončení. Ukázalo se, že tento model nebyl kompatibilní s údaji, pokud by všechny papilomy byly považovány za premagliní léze. Proto musel být model upraven tak, aby umožnil vzniku heterogenní populaci papilomů. V takovém případě lze předpokládat, že nemaligní a nevyléčitelně benigní papilomy se morfologicky liší a oba typy papilomů v detekčním limitu obsahují různé množství aktivně se dělících buněk. Model předpovídá větší nárůst počtu papilomů, než bylo skutečně pozorováno na konci pokusu.

Inbrední kmeny

Jak uvádí Bienertová Vašků a kolektiv, je inbrední kmen výsledkem dvaceti a více páření bratra se sestrou. Rodiče jsou zástupcem dvou inbredních kmenů lišících se v několika lokusech, proto je první F1 generace heterozygotní ve všech lokusech.

Jebavý a kolektiv (2011) uvádí „Příbuzenská čili vnitřní plemenitba je systém chovu prováděný připouštěním jedinců blíže nebo vzdáleněji příbuzných. V chovech laboratorních zvířat se často používá anglického názvu inbreeding a pro potomka vzájemně příbuzných rodičů názvu inbrední zvíře. Cílem inbreedingu je snížení až odstranění genetické variability a maximální homozygotnost populace. Nebezpečím je zvýraznění nežádoucích recesivních znaků. V důsledku zvyšování homozygotnosti zvířata téže inbrední linie směřují

k homozygotnosti pro stejné znaky. Příbuzenská plemenitba vytváří genetickou jednotnost pouze uvnitř jednotlivých linií, mezi liniemi se naopak zvyšuje genetická odlišnost. Pokud připouštíme inbrední zvířata, z nichž každé pochází z odlišné inbrední linie, jejich potomci už samozřejmě inbreds nejsou a mají naopak všechny vlastnosti hybridů, heterozygotů. Ne všechna laboratorní zvířata jsou vhodná pro příbuzenskou plemenitbu. Některá trpí silně inbrední depresí (např. králík, morče), jiná snadno podléhají vlivům prostředí a vnitřním mutacím, rušícím vliv inbredizace (potkan). Nejvhodnějšími druhy pro příbuzenskou plemenitbu jsou laboratorní myš a křečci (celá laboratorní populace křečků syrských má původ v jedné rodině)“.

Ve své práci Beck et al. (2000) označují myš jako hlavní organismus pro volbu modelování lidských chorob. Bylo již popsáno více než 450 inbredních myších kmenů, poskytují nám tak velké množství různého genotypu pro genetické a další studie. Díky tomu, že stále vznikají a zanikají nové kmeny, je nutné pravidelně zjišťovat, jaké kmeny jsou k dispozici a jaké mají vlastnosti. Ty zjistíme na základě dostupných údajů z DNA polymorfismu mikrosatelitů a dalších značek.

Za 20 generací příbuzenské plemenitby, je každá myš homozygotní průměrně v 98,6 % lokusech. Mnoho kmenů bylo šlechtěno více než 150 generací a jsou v podstatě homozygotní ve všech lokusech. Každý inbrední kmen je také isogenní (geneticky shodný), protože všichni mají společného předka. První inbrední kmen myši byl v roce 1909 DBA, ostatní inbrední kmeny byly vytvořeny v průběhu příštích deseti let.

Inbrední kmeny jsou již dlouho používány pro genetické a imunologické studie (např. výzkum imunologické tolerance, rozvoj monoklonálních protilátek, studium omezení významných histokompatibilního komplexu (MHC), rozvoj metodiky zpětného křížení a další). Mnoho inbredních kmenů je chováno pro své specifické fenotypy. Například kmen SAM má urychlené stárnutí, C57BL/6 má větší prepozice na alkohol a omamné látky, další kmeny se využívají pro studium trasgenních a embryonálních kmenů (ES) buněčné technologie. Nebo BALB/C a C3H myši mají vyšší citlivost na mutageny. Při navrhování experimentů se musí dbát na fenotypové rozdíly mezi inbredními kmeny. Kmeny se mohou od sebe lišit ve fenotypových charakteristikách, které nemusejí být důležité při studiu, ale mohou nepřímo ovlivnit výsledky pokusů. Například C3H myši mají genetický defekt, který vede

k degeneraci sítnice, což vede v rané dospělosti k oslepnutí. To může ovlivnit analýzy v chování. Proto je důležité mít komplexní údaje o vlastnostech a přizpůsobit k tomu studium. Znalost genealogie inbredního kmene je rozhodující pro navrhování experimentů, které vyžadují nesouvisející kmeny. Mnoho běžně používaných inbredních linií, které byly teprve nedávno oddělené, bývá používáno v genetických studiích, bez ohledu na to, zda se jedná o optimální kombinace.

Velká část výzkumu rakoviny je podle Staats (1966) postavena na inbredních kmenech myší. Většina inbredních kmenů byla vyvinuta pro použití ve výzkumu rakoviny, k potvrzení nebo vyvrácení existence genetických faktorů, které ovlivňují výskyt rakoviny a dědičnost různých druhů rakoviny. Byly vybírány jedinci, kteří byli choulostiví vůči nádorům, nebo naopak měli velkou odolnost. Informace o těchto výzkumech se začaly objevovat ve vědecké literatuře a byly uznávány pro své přednosti v lékařském výzkumu. Začaly se vytvářet nové kmeny, které byly více homozygotní, a ty nám napomáhají k lepší přesnosti a opakovatelnosti při experimentech.

Kmeny inbredních myší byly dřív chovány na málo místech, nyní jsou však široce dostupné z center národních a regionálních zásob. Ve Spojených státech jsou velké kolonie na National Institut of Health, Marylandu, Oak Ridge National Laboratory a na Oak Ridge Tennessee. Anglie, Francie, Německo, Japonsko, Rusko, Maďarsko a Skotsko mají alespoň jedno centrum, kde se ve velkém množství chovají inbrední myši pro vědeckou společnost. Mnoho jiných zemí plánuje založení těchto center a to pod záštitou Ministerstva zdravotnictví nebo jako soukromé laboratoře. Další příbuzenská plemenitba a náhodný vznik mutací nám pomocí myší umožňuje studovat léčbu lidských nemocí. Čím více se o biochemických rozdílech mezi kmeny dozvídáme, tím je jejich lepší využití při lékařských výzkumech.

Kmen DBA

Festing (1998) uvádí, že kmen DBA je nejstarší ze všech inbredních myších kmenů, vznikl roku 1909. Bylo z něj vyšlechtěno několik podkmenů, lišících se mezi sebou v několika lokusech. Tyto podkmeny mají vysoký výskyt nádorů mléčné žlázy.

Nejznámější podkmeny:

DBA/LiA



Zdroj: www.jaxmice.jax.org

DBA/1

DBA/2

Výskyt nemocí:

Výskyt nádoru mléčné žlázy u chovných samic je až 90%, samice dosud nezabřezlé mají 61% výskyt. Lymfatická leukemie se objevuje u méně 1% populace. Plicní nádory se vyskytují ve 2 až 27%.

Reprodukce: Mají špatný chovný výkon, průměrná velikost vrhu po odstavu je 4,4 mlád'at.

U kmene DBA se vyskytují potíže se zrakem. Díky jimž se stává vhodným modelem pro studium očních dysfunkcí. John et al. (1998) uvádí, že cílem jejich studie bylo charakterizovat oční abnormality spojené s atrofií duhovky u myši DBA/2J. Dále se zjišťovalo, zda u myši tohoto kmene dochází ke zvýšení nitroočního tlaku (IOP) a zeleného zákalu. Testy se prováděly na myších od 2 do 30 měsíce věku. IOP byl měřen v různém věku myši. Z výsledků byl zjištěn rozvoj rozptylu pigmentu, prosvětlení a atrofie duhovky, přední senechias a zvýšení IOP. IOP bylo většinou zvýšeno v 9. měsíci věku myši. Tyto změny byly následované smrtí gangliových buněk v sítnici, atrofií zrakového nervu a baňkování zrakového nervu. Výskyt a závažnost těchto lézí se zvyšoval s věkem. Atrofie a baňkování zrakového nervu byla přítomna u většiny myši ve věku 22 měsíců. Při progresivnější formě vznikl sekundární zelený zákal s uzavřeným úhlem, který byl pravděpodobně zahájen atrofií duhovky, spojené s tvorbou synechias. Tento myši kmen představuje užitečný model pro hodnocení mechanických tlaků související s úmrtím gangliových buněk a atrofie zrakového nervu. Díky čemuž lze vyhodnocovat neuroprotektivní strategie.

V experimentu Bayer et al. (2001) zkoumali průběh sítnicové dysfunkce pomocí skotopické Elektoretinografie (ERG) a kvantitativní morfologie v očích. K pokusu byl použit podkmen myši DBA/2NNia (DBA), myši s dědičným zeleným zákalem. DBA myši byly srovnávány s C57BL/6J (C57) myšmi. Během pokusu byly zaznamenávány údaje ERG od 5. do 15. měsíce věku a morfologie od 1. do 14. Zároveň byla úroveň skotopické ERG zaznamenávána z obou očí myši v narkóze. Změny v centrální nervové sítnici byly vyhodnoceny pomocí kvantitativní morfometrie. Ve srovnání s C57, měly myši DBA významné snížení a-vlny a b-vlny amplitudy v 7 až 8 měsíci, pokles pokračoval s věkem zvířat. Logistická regresní analýza ukázala snížení korelace a- a b- amplitudy vln mezi ipsilaterální a kontralaterálními vrstvou oka DBA myši, ve věku, kdy se ERG parametry velmi měnily. Z pohledu morfologie nastalo

ztenčení celé DBA myší sítnice již od 4 měsíců věku, ale ztráta gangliových buněk a ztenčení vnější vrstvy plexiformu bylo nalezeno až ve věku 7 až 8 měsíců. Tyto změny probíhaly až do konce třináctiměsíčního sledovaného období. Z výsledků se zjistilo, že progresivní ztenčení vnější vrstvy sítnice myší DBA je spojeno s poklesem a- a b-vln amplitudy ERG, které se vyskytují ve věku od 7 až 8 měsíce dál. Nalezení podobnosti v poslední fázi glaukomatózní retinopatie u lidí naznačují, že toto zvíře je důležitým modelem pro další výzkum zeleného zákalu.

Avšak DBA myši se nepoužívají pouze k očním studiím. Další z kategorií je například sluch. Willot et al. (2003) je používali při hodnocení zobrazení zvukové frekvence sluchových neuronů (tonotopic organizace) ve ventrálním kochleárním jádru (VCN) DBA/2 myši. Tyto myši mají totiž razantně sníženou citlivost na nejvyšší i na nejnižší sluchovou frekvenci, než normální myši.

Také se DBA myši testují na různé stresové reakce a vyhodnocují se jejich výsledky. Při studii učení a paměťových úkolů používali Paylor et al. (1994) myši kmenů DBA/2 a C57BL/6. Pokus byl prováděn na funkčních rozdílech hippocampu. Pro zjištění výsledku, byly samci DBA/2 a C57BL/6 myši testovány na dvou formách podmíněného strachu: kontextovém strachu, závisící na celistvosti hippocampu formace a na sluchové podmínce. Oba kmeny myši reagovali na odpovídající podmínku, kdy se zvuková nárazka spojí se šokem, ale u DBA/2 myši se ukázalo výrazně menší předurčení ke kontextu, ve kterém byl zaznamenán šok. Z výsledků je zjištěno, že model (DBA/2) při zhoršených podmínkách hůře reaguje na různé úkoly, učení a zhoršuje se mu paměť. To souvisí s poruchou funkce vzniku hippocampu.

Kmen DBA se používá ve velkém rozsahu studií. Zkoušejí se v nich různé látky, sloučeniny a hormony, které jsou pak následně podrobeny analýze působení v těle zkoumaného objektu. Goren et al. (2004) zkoumali vliv genetických podkladů na projev inzulinu. Analyzovali glukózové homeostázy ve čtyřech inbredních kmenech myši: C57BL/6, C57BLKS/6, DBA/2 a 129X1. Dále se kvantifikoval obsah mRNA v inzulinových receptorech (IR) a substrátech inzulinu-citlivých tkáních. Myši samice mají obvykle vyšší toleranci ke glukóze než muži. To může být zapříčiněno vyšší citlivostí vůči inzulinu v játrech a v tukové tkáni. Při srovnání myších samic se zjistilo, že zvýšenou citlivost k inzulinu ve svalech mají myši samice kmenů

DBA/2 a 129X1. Po 6 měsících se byla jejich fyziologie relativně beze změny, na rozdíl u druhých dvou kmenů, které se staly méně citlivé na inzulín. Genová exprese inzulínu je projevem meziproduktů inzulíno-citlivé tkáně, která se v závislosti na buněčném obsahu mRNA v IR zvyšuje. Inzulínové receptory substrátu mRNA byly v hojném množství zjištěny v tukové a mozkové tkáni. Z údajů lze vyvozovat, že citlivost tkání na inzulín je závislá na kmeni, pohlaví a věku. To je třeba vzít v úvahu při fenotypové charakteristice transgenních myší.

Látky zkoumané na dospělých myších nemusejí mít vliv jen na ně samotné, ale také na jejich narozená či nenarozená mláďata. Jak uvádí Joneja a Leliever (2004), v pokusu byla do těhotných myší DBA, v 7 až 11 dnu těhotenství, injekčně vpravena buď dávka vinblastinu nebo podophyllinu. Tyto samice byly následně usmrceny v 18. den březosti. Jejich plody byly zkoumány na účinky aplikovaných látek. Bylo zjištěno, že 9. den byly plody nejcitlivější na obě látky. Vinblastin vyvolával vysoký výskyt mrtvých plodů, výrazné zpomalení růstu a několik vážných morfologických vad týkajících se očí, čelisti, končetin a kostry. Z celkového počtu 571 přeživších plodů z jedné série, mělo 52 jedinců vnější anomálie. Na druhé straně podophyllin způsobil vysokou frekvenci vstřebávání a zpomalování růstu. Denní průměrná hmotnost byla 7,5-9 mg/kg na skupinu, 51,4 % ze živých plodů byla zaostalá a vážila méně než 60 % průměrné hmotnosti v poměru se zdravými jedinci. Pouze u 1 z 35 plodů byla v této skupině zjištěna těžká morfologická vada. Účinky vinblastinu byly podobné těm, které byly již dříve popsány u vinkristinu a jiných mitotických inhibitorů. Podophyllin se zdá být poměrně málo účinný při vytváření závažných defektů u myších zárodků, ale na druhou stranu má silné embryocidní účinky a zpomaluje růst zárodků.

Engstrom a Woodbury (2007) se zabírali hraniční křečovou dávkou 50s (CD50s) u jednotlivých křečových drog. Hodnota minimálních a maximálních hranic elektrošokových záchvatů byla stanovena na kmenech myší DBA a C57. Kmen myší DBA měl nižší maximální hranici pro elektrošokové záchvaty (METs) a to o 15%. Křečová dávka u homocysteinu thiolactone (HTL) byla nižší o 23 % a u bicuculline o 69 %. Naopak vyšší křečová dávka byla u pentylenetetrazolu (PTZ) ve třech týdnech věku, v období maximální citlivosti audiogeních záchvatů (AGS). V osmém týdnu, kdy myši nejsou náchylné k AGS, byly zjištěny výrazné rozdíly ve snížení minimální elektrošokové křečové prahu (MEST) o 37 %. Maximální EST se snížil o 19 %. Dále nižší CD50s byl u N-metyl-Daspartátu

(NMDA) o 39 %, kyseliny kainikové (KA) o 19 %, HTL o 32 %, strychninu o 37 %. Zvýšení křečové dávky bylo u nikotinu o 55 %. Ze zjištěných údajů se usuzuje, že NMDA receptory a KA jsou zodpovědné za zvýšenou náchylnost k zahájení záchvatu (MEST). Latentní modely ukazují, že nikotin, strychnin, PTZ a bicuculline mají účinky s vysokou propustností krevně-mozkové bariéry (BBB). Picrotoxin a receptory excitační aminokyselin agonistů mají delší zpoždění, což svědčí o nízké propustnosti BBB. Změnami v latenci související s věkem, lze doložit, že za problém pronikání drog přes BBB není zodpovědný rozdíl v zaznamenané CD50s mezi kmeny.

Často je kmen DBA využíván i k radiobiologickým studiím. Jak při nádorových studiích, kdy Suit et al. (1967) popisují experiment, kdy byla DBA myš využívána pro radiobiologická studia. Byl jí ozařován prsní karcinom průměrné velikosti 8 mm. Ozáření mělo stejnou nádorovou odpověď v anoxii (při nízké úrovni kyslíku) tak i ve vzdušném prostředí. Pokud však bylo ozáření podáváno v 10 dávkách v intervalu 24 hodin, zvyšovala se reakce ve vzdušném prostředí. Z výsledků bylo zjištěno, že účinnost vysokého tlaku kyslíku zlepšuje výsledky radioterapie.

Kmen DBA se využívá i ve studii vstřebávání, rozpadu a vylučování radioaktivních látek. Gasiewicz et al. (1983) používali kmeny myší C57BL/6J, DBA/2J a B6D2F1/J jako model pro studium mechanismu účinku 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxinu (TCDD). Byla zkoumána distribuce, vylučování a metabolismus této sloučeniny u samců již zmíněných myších kmenů, po intraperitoneální podání radioaktivně značeného TCDD v dávce 10 mikrogramů/kg. Hlavní lokality pro akumulaci 3H-TCDD byly zjištěny v játrech a v tukové tkáni u všech kmenů myší. Více byla sloučenina distribuována v játrech C57BL/6J a B6D2F1/J myší než u DBA/2J. Hlavní cesta eliminace 3H-TCDD z těla, je pomocí výkalů. U kmenů C57BL/6J a B6D2F1/J se takto vyloučilo přibližně 72% dávky, ale u DBA/2J myší to bylo pouze 54%. Poločas kumulativního vylučování radioaktivity ve výkalech byl podobný u všech kmenů. Poločas vylučování radioaktivity v moči byl výrazně vyšší u kmene DBA/2J, v porovnání s druhými dvěma kmeny. Odhadovaný poločas celkového kumulativního vylučování 3H-TCDD spolu s radioaktivitou u zkoumaných kmenů myší, trvá všemi cestami 11, 24,4 nebo 12,4 dnů. Více než 85% celkové radioaktivity bylo vyloučeno v moči, žluči či stolicí a to ve formě metabolitů TCDD.

Chapman a Schiller (2004) zkoumali účinky 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxinu (TCDD) v závislosti na dávce. Při tomto experimentu byly účinky studovány na kmenech myši B6D2F1/J (B6D), C57BL/6J a DBA/2J. U kmenů C57 a DBA byl zaznamenán čtrnáctinásobný rozdíl v úmrtnosti, během 30 denního pokusu s LD50 hodnotami 182 až 2570 mg TCDD/kg tělesné hmotnosti. Během 30 denní studie LD50 hodnot, bylo u všech myších kmenů zaznamenáno postupné snížení tělesné hmotnosti. Maximální hmotnostní ztráty před smrtí byly u C57 24,7%, B6D 34% a u DBA 33,4%. Odpověď na dávku v experimentu mělo za následek srovnání změn v glukózových a lipidových parametrech, pokud byly DBA myši vystaveny až 10 krát vyšší dávce TCDD než C57 myši. Paralelně s LD50 reakcemi se mění metabolismus cukrů a tuku, a to při 10 až 15 násobných rozdílech v rozmezí dávek. To svědčí o společném mechanismu toxicity TCDD na C57 a DBA myši.

Na samcích myších kmenů C57BL/6J a DBA/2J, zkoumali Decad et al. (2004) distribuci a vylučování toxicky znečišťující látky 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran (TCDF). Hmotnost modelů byla mezi 22 až 29 gramy. Látka TCDF byla podána intravenózně v dávce 0,1 $\mu\text{mol/kg}$. Hlavním místem pro hromadění látky byly játra. Myši z kmene C57BL/6J měli ve srovnání s kmenem DBA/2J větší obsah této látky. Poločas rozpadu TCDF v játrech byl přibližně 1,8 dnů u obou kmenů. Po dnu a 7 hodinách byla radioaktivita přerozdělena mezi tukové tkáně zkoumaných myši. Poločas rozpadu TCDF v tukové tkáni myši C57BL/6J trval 1,1 dne. To byla šestinásobně kratší doba než u myši DBA/2J, jejichž doba činila 6,8 dne. Tato odlišnost s největší pravděpodobností souvisí s tím, že myši kmene DBA/2J mají o 36% vyšší tukovou tkáň než ostatní kmeny, a proto může izolovat více TCDF. Více než 80% dávky u C57BL/6J myši bylo vyloučeno výkaly, u DBA/2J to bylo pouze 55%. Poločas rozpadu TCDF v celém těle trval 2 dny u C57BL/6J myši a u DBA/2J 4 dny, což bylo zapříčiněno vyšší dávkou TCDF v tukové tkáni. To u DBA/6J představuje relativně pomalejší clearance a nižší koncentrace TCDF v cílových místech, tím i menší toxické účinky.

Kmen C57BL



Zdroj: www.jaxmice.jax.org

Festing (1998) uvádí, že kmen myši C57BL je pravděpodobně nejrozšířenějším ze všech inbredních kmenů (podkmen C57BL/6 se sám používá ve více než 14 % případech, při kterých je použit inbrední kmen), ale v mnoha ohledech je atypickým kmenem inbredních laboratorních myší. C57BL kmen má dobrý chovný výkon, který se však může měnit v závislosti na podkmenu. Myši C57BL byly často používány jako genetický základ pro velké množství kongenních kmenů zahrnující jak polymorfní, tak mutantní lokusy.

Osm hlavních podkmenů existujících již od roku 1935: C57BL/A, C57BL/GrFa, C57BL/KaLwN, C57BL/6 (nejpoužívanější), C57BL/10, C57BL/10ScSn, C57BL/10Cr, C57BL/Ola.

Podkmen C57BL/6

Tento podkmen má vysokou alkoholovou preferenci. Alkoholová preference je způsobena alespoň dvěma recesivními kvantitativními vlastnostmi lokusu, které jsou pohlavně omezeny. Má vysokou spontánně pohybovou aktivitu a pohybovou činnost. Je odolný vůči audiogenetickým záchvatům. Poskytuje model pro ztrátu čichu. Má vysoké preference pro sladce chutnající látky (např. sacharóza). Odmítá fyziologický roztok ve středních koncentracích.

Kmen C57BL se používá na nejrůznější typy studií. Můžou například sloužit jako model pro působení stárnutí. Ve své práci Rowlatt et al. (1976) z údajů zjistili, že u kolonie myší C57BL, chovaných pro výzkum procesu stárnutí, stáří ovlivňuje hmotnost 13 orgánů v těle myší, od 6 do 30 měsíce života. Patologické nálezy a rentgenové výsledky byly prováděny ve

věku 6, 24 a 30 měsíců. Výskyt věkově specifických nádorů bylo zjištěno ve 24 orgánech ve věku 3 až 36 měsíců.

Avšak nejčastěji se C57BL myši používají na studium působení látek. Například látky působící na specifickou část těla. Herbicid 2,6-dichlorobenzonitrile (dichlobenil) byl již dříve jinými výzkumníky označen jako toxický pro čichové sliznice. Bylo to však po podání intraperitoneální cestou. Cílem Deamer et al. (1994) studie bylo zjistit, zda se objeví podobné výsledky v poškození čichových sliznic, po aplikaci dichlobenilu dermální cestou. K pokusu byli použiti samci z kmene myši C57BL. Myši byly ostříhány a dermálně jim byla podána dávka v podobě acetonu. Velikost dávky byla 0-200 mg/kg, která byla aplikována buď v jedné dávce, nebo po dobu 5 dnů, následujících po sobě. Kromě toho byla provedena analýza čichových žárovek gliový fibrilární proteinové kyseliny (GFAP), s cílem zjistit jeho škody působící na čichovou sliznici. Koncentrace GFAP je ukazatelem ztráty neuronů v centrální nervové soustavě.

Látky zkoušené v C57BL myších mohou mít vliv pouze na určitou funkci těla. Na myších kmenech BALB/c, DBA/2 a C57BL/6 studovali Kiianmaa et al. (1983) účinky naltrexonu na zvýšení pohybové aktivity. To je vyvolané nízkou dávkou etanolu (1,35g/kg ip). Dále byla zkoumána délka ztráty vyrovnávacího reflexu po vysokých dávkách etanolu (3,5 g/kg). Etanol zvýšil pohybovou činnost u DBA a BALB myši, ale ne u C57BL myši. Nejcitlivějším kmenem na naltrexon je BALB (1 mg/kg naltrexonu výrazně omezuje etanol), středně citlivým kmenem jsou myši C57BL (8 mg/kg naltrexonu působí nepřátelsky vůči etanolu), nejméně citlivý na naltrexon je kmen DBA (nevykazuje žádný efekt i při nejvyšší dávce (8 mg/kg) naltrexonu). Naltrexon působí proti behaviorálním účinkům etanolu při nízkých i při vysokých dávkách. Avšak u každého ze tří kmenů jsou účinky jiné. Liší se svými behaviorálními reakcemi na etanol a citlivostí na naltrexon.

Na kmen C57BL se používají i látky, u kterých není předem jasné, jaká bude jejich reakce v organismu. Například Snyder et al. (2004) vystavovali kmeny myši AKR/J a C57BL/6J celoživotnímu působení 100 a 300 ppm benzenu. Během tohot působení byl získáván periferní krevní obraz jednou za dva týdny. Benzen v těle myši C57BL způsobil anémii, lymfocytopenii a neutrofilii. U 13 (33 %) zkoumaných myši C57BL byla zjištěna hyperplazie kostní dřeně, ve čtyřech z těchto myši hyperplazie omezovala granulopoietické prvky.

V kontrolní skupině nebyla v žádné C57BL myši nalezena hypertrofie kostní dřeně. U C57BL myši, na které působil benzen, došlo k výraznému zvýšení výskytu nádorů v krvetvorných orgánech. V šesti případech (15 %) se vyskytnul lymfom brzlíku. Ačkoli dvě kontrolní myši (5 %) umřely s lymfomem, tak ani jeden z těchto nádorů neměl nic společného s brzlíkem. Lymfom brzlíku je u C57BL myši vzácný, ale může být způsoben ionizujícím zářením nebo pomocí chemických karcinogenů.

Kmen C57BL se může použít při experimentech týkajících se diabetes. Inzulin-depresivní diabetes je mnohonásobně vyvolán u vnímavých druhů myši. Nízké dávky streptozotocin léčby, na thymus (brzlíku) závislé, způsobuje autoimunitní destrukce beta-buněk. V této studii Leiter (1982) testoval thymektomizidní a geneticky bezthymové myši na citlivost streptozotocinu. Tymektomie byla provedena u novorozence, nebo u maximálně 3 dny staré C57BL/KSJ myši. Ve věku 8 týdnů, byly thymektomizidní a placebem ovlivněné myši obou pohlaví testovány na citlivost vyvolané diabetes po podání nízkých léčebných dávek streptozotocinu (35 mg/kg tělesné hmotnosti za den, po dobu 6 po sobě jdoucích dnů). Tymektomií se nepodařilo zablokovat náchylnost samců k indukci těžké hyperglykémie. Beta buňky tkáně a zánětlivé buňky (insulitis) pronikaly v souladu s histopatologickými faktory. Obecně platí, že u samice (s nedotčeným brzlíkem a thymektomized) byly na streptozotocin vyvolávající hyperglykémii méně náchylné než samci. Samice byly ve 14. den experimentu vystaveny stejně závažnou insulitis. Z detekce základní insulitis se nedokázalo předvídat vývoj závažnější hyperglykémie, protože většina streptozotocin léčených samic v 35. den experimentu nadále vykazovalo, ve srovnání se samci (více než 400 mg/dl), jen mírnou hyperglykémii (asi 200 mg/dl). V případě existence porušeného brzlíku může streptozotocin vyvolávat hyperglykémii, ta byla dále prokázána i u geneticky bezbrzlíkových C57BL/6J myši. Myši C57BL/6J byly odolné vůči streptozotocin vyvolané insulitis. Tato studie ukazuje, že přítomnost insulitis nemusí mít nutně předzvěstí vzniku závažné hyperglykémie (např. C57BL/KsJ samice), naopak přítomnost těžké hyperglykémie po nízké léčebné dávce streptozotocinu nemusí být nutně diagnostikou pro podkladové insulitis (např. C57BL/6J). Tyto údaje zdůrazňují nutnou opatrnost při výkladu streptozotocin-insulitis studií na citlivost holých myších.

V neposlední řadě je C57BL kmen používán i při výzkumu nádorů. Vaidya et al. (1983) definovali endogenní viry myších nádorů mléčné žlázy (MuMTVs), v jednotlivých myších

kmenech. Absence vnější MuMTV regulativně ovlivňuje výskyt spontánních nádorů mléčné žlázy. K pokusu byly vybrány kmeny myši (BALB/c a C57BL), které mají nízký výskyt nádorů mléčných žláz. Na nich se kontrolovaly endogenní projevy MuMTV v různých stádiích. U žádných z kmenů nebyly zjištěny polypeptidy MuMTV v laktující mléčné žláze (LMG). Nicméně v LMG C57BL bylo zjištěno značné množství RNA MuMTV, na druhou stranu jen velmi málo virové RNA byla detekována u LMG BALB/c. Stanovením RNA MuMTC v LMG hybridů se zpětným křížením myši BALB/c a C57BL zjistilo, že v C57BL myši existují tři nepropojené, nezávisle oddělené genetické lokusy, které jsou zodpovědné za přítomnost středně vysokého množství RNA MuMTV v LMG. Virové RNA v LMG C57BL byly zpracovány a přepraveny do cytoplasmy, kde bylo zjištěno, že cosedimentují s EDTA – citlivé polysomes. Žádné virové proteiny nebyly zjištěny v mimo spouštěcí reakce, které umožňují dokončení syntézy vznikající polypeptidového polysomes z LMG C57BL. Citlivou radioimunoanalýzou se nepodařilo zjistit žádnou MuMTV bílkovinu nacházejících se v těchto tkáních. Z výsledků se usuzuje, že je mRNA MuMTV v LMG C57BL, z neznámých důvodů, blokován na translační úrovni.

Kmen C3H

Jak Festing (1998) uvádí, kmen C3H vznikl roku 1920 křížením albínského Bagg s DBA samcem, vybraného pro vysoký výskyt nádorů mléčné žlázy. Nyní patří k jedněm z nejrozšířenějších myších kmenů. Většina jeho podkmenů má dobrou reprodukci. Nezesílené podkmeny (které jsou v dnešní době poměrně vzácné, neboť “SPF“ zvířata se staly populární) mají vysoký výskyt nádorů mléčné žlázy (obvykle více než 90% myši do jednoho roku), to je způsobeno virem, který se předává z matky na potomky pomocí mléka. Posilováním mladých jedinců nebo přenášením oplozených vajíček do kmene neobsahující virus nádoru mléčné žlázy, se výrazně snižuje výskyt prsních nádorů. Je třeba poznamenat, že všechny “SPF“ kmeny jsou bez tohoto viru.



Zdroj: www.criver.com

Nezesílené podkmeny jsou široce používány při výzkumu rakoviny, z důvodů jejich výskytu nádorů mléčné žlázy. Posílené kmeny jsou univerzální, díky tomu široce používané, snadno dostupné a dobře známé. Kmen by však měl být používán s opatrností ve studiích na chování, protože nese RD

(degenerace sítnice) gen a asi tak po 6 týdnech oslepne. Některé kmenové rozdíly jsou velké a nemohou být určovány pouze na základě mutace, musí být popsána jejich zbytková heterozygotnost nebo genetická kontaminace.

Hlavní uznané podkmeny:

C3H/Bi – nízký výskyt leukémie, 83% výskyt nádoru mléčné žlázy

C3H/Fg – vysoký výskyt lymfatické leukémie (přes 90 %)

C3H/He – nejrozšířenější ze všech, nezesílené podkmeny 90% výskyt nádoru mléčné žlázy do 11 měsíce, posílené podkmeny mají vysoký výskyt hepatomas

C3H/HeJ – široce rozšířen, oslabená imunitní odpověď na endotoxické lipopolysacharidy kvůli nedostatku B-buněk, u tohoto kmene byla přenášena vajíčka do C57BL myši a díky tomu má nižší výskyt nádorů mléčné žlázy (mladé samičky 4 %, chovné samice 55 % a vyšlechtěné samice 74 %)

C3HeB/FeJLe-a/a – bez virů přenášející nádor mléčné žlázy

C3H/He-mg – mahagonová barva srsti

C3H/He-Avy – kongenní linie vznikající zpětným křížením Avy a C3H, vysoký výskyt nádorů mléčné žlázy (100 % v 7-8 měsíci), posílený kmen má 90% výskyt

Jako u jiných myších kmenů, je C3H kmen používán k hodnocení působení látek v těle. Ve studii Caravaggio a Bonting (2006) porovnávali vývojové aspekty cyklu rodopsinu na sítnici. V experimentu byly porovnávány normální myši DBA s myšmi C3H, které mají 50% dědičnou degeneraci sítnice po narození. U obou myši byl rhodopsin zjištěn sedmého dne po narození. Obsah rhodopsinu v DBA myši prudce vzrostl 8. až 23. den, poté si držel stejnou hodnotu. U C3H myši, byl obsah rhodopsinu podobný jako u DBA až do 11. dne. Jeho maximum nastalo 12. den a pak se během následujících sedmi dnů snížilo téměř na nulu. Oba dva kmeny měly stejný tvar a maximální hodnotu spektra (500 nm), což naznačuje, že vizuální pigment u myši C3H není odlišný od toho v DBA myši. Obsah rhodopsinu a vnější délka segmentu se ve stejnou dobu velmi pečlivě porovnávaly, po celou dobu zkoumaných let. Šířka vnější jaderné vrstvy se u C3H myši výrazně snížila po 11. dnu. Od 21. dne se skládal pouze z jedné řady jader. Vnější jaderná vrstva dosáhla u obou kmenů maximální šířky v 8. – 9. den, když probíhal rychlý nárůst vnější délky segmentu a vznikl rhodopsin. V ostatních vrstvách sítnice nebyly zaznamenány žádné zřejmé rozdíly ve vývoji. Z výsledků lze vyvodit, že nedostatek rhodopsinu nezpůsobuje degeneraci sítnice u C3H myši. Jako primární defekt je označena vrozená chyba vnitřních segmentů metabolismu. Dále se ukázalo,

že DBA myši mají v mnoha ohledech podobné výsledky jako u normálních potkanů. Naproti tomu měli C3H myši značně odlišné výsledky než u potkanů s dědičnou degenerací sítnice.

Mnohem více je však C3H kmen používán ke studiu různých onemocnění. Jak ve své práci uvádí Shi et al. (2000), lipidy, monocyty a cévní stěny buněk primární složky se podílejí na aterogenezi. Pomocí inbredních myších kmenů C57BL/6J (B6) a C3H/HeJ (C3H), které byly rozsáhle studovány jako modely genetické kontroly stravy vyvolávající aterosklerózu, se zjišťovalo, jaká složka stanovuje genetickou predispozici. K otestování, zda se jedná o potravní reakce, byl vytvořen kmen C3H nesoucí apoE-null alely (apoE^{-/-}). Ačkoli C3H.apoE^{-/-} myši měly vyšší hladinu cholesterolu, vyvinulo se u nich mnohem menší poškození než u B6.apoE^{-/-}. Vzájemná transplantace kostní dřeně mezi kongenitními kmeny, nesoucí stejný H-2 haplotyp, byla provedena s cílem přezkoumat role monocytů. Vnímavost na aterosklerózu nebyla u přijímajících myší změněna, což naznačuje, že nebyly změněny monocytární funkce. Na rozdíl od B6 myší, endoteliální buňky z C3H myší projevovaly malou nebo žádnou indukci. Z řady rekombinačních inbredních kmenů, odvozených od B6 a C3H rodičovských kmenů, lze s určitostí říci, že endotelové buňky, ale ne monocyty nebo plazmatické hladiny lipidů, ovlivňují rozdíly v náchylnosti k ateroskleróze mezi dvěma myšími kmeny.

Barthold et al. (1990) hodnotili citlivost laboratorních myší na *Borrelia burgdorferi*, u vybraných genotypů a věku. C3H/He, SWR, C57BL/6, SJL a BALB/c myši byly naočkovány ve věku 3 dnů. 30 dnů po intraperitoneálním očkování došlo k rozvinutí jednotně těžké polyartritidy. U myší naočkovaných ve 3 týdnech věku se také vyvinula polyartritida, avšak její závažnost byla ovlivněna genotypem. Nejhuře byly postižené C3H/he a SWR myši. Dospělé (12 týdnů) C3H/He myši byly také citlivé, ale artritida nebyla tak vážná jako u ostatních naočkovaných myší ve věku 3 týdnů. Carditis se často vyskytoval u C3H/He, BALB/c a bezsrstých myší, v některých případech i SWR myši. Tato studie ukazuje, že závažnost lymfické boreliózy je závislá na věku a genotypu. Laboratorní myši jsou pro tyto studie potenciálně cenným modelem.

Onemocnění, na které se C3H myši používají, může mít i návaznost na člověka a díky tomu nám pomáhá k nalezení léčby pro lidi. Sundberg et al. (1994) našli onemocnění velmi podobné lidské alopecia areata, v produkční kolonii myši C3H/HeJ, ve kterých nebyl nalezen

žádný důkaz o dysfunkci štítné žlázy nebo infekční etiologii. Alopecie byla rozvinuta difúzně nebo v kruhových plochách na hřbetě. Histologické změny v nezjizvené alopecii byly omezeny na anagen folikulů, které byly obklopené mononukleárními buňkami. Tento infiltrát, převážně tvořen z cytotoxic (CD8+) a pomocníkem T lymfocytů (CD4+), byl spojen s folikulární a chlupovou dystrofií. Infiltrát byl výrazně snížen po injekční aplikaci triamcinolu acetonidu přímo do léze, to mělo za následek opětovný růst chlupů v postižených místech. Sledování rodokmenu postižených myší C3H/HeJ naznačuje, že nezjizvená alopecie může být dědičnou nemocí. Výsledky z chovu normálních hladkosrstých myší s alopecie areata nebo mezi myšmi s alopecie areata naznačují, že se jedná o komplexní polygenní onemocnění převažující u mladších samic. U myších samic se nemoc vyvíjí dříve než u samců (ve 3. - 5. měsíci u samic, u samců v 6. měsíci), stejný počet postižených nastává v 18. měsíci věku. Výskyt alopecia areata v jedné produkční myší kolonii C3H/HeJ byl u samic 0,25% a u samců 0,035%. Šlechtění zvýšilo četnost onemocnění téměř o 20 %. Četnost ve stárnoucí kolonii, selektivně chovanou pro zánětlivě střevní onemocnění, dosáhla 4,7 %. Stejně jako u sexuální distribuce u myší nad 18 měsíci věku. Z toho lze usuzovat, že četnost výskytu nemoci, může mít spojitost se změnami ve stárnutí myší C3H/HeJ. Tato nemocná myš C3H/HeJ se může ukázat jako cenným zvířecím modelem pro studium konkrétních lidských podtypů alopecia areata.

Ve studiích onemocnění se C3H kmen často používá na tvorbu protilátek a zjišťování jejich účinků. Díky nedávným pokrokům ve vývoji zvířecích modelů pro lymskou boreliózu, byly Probert a LeFebvre (1994) poskytnuty prostředky pro identifikaci potenciálních cílů v návrhu na subjednotkovou vakcínu proti tomuto onemocnění. Pro studium několika antigenů *Borrelia burgdorferi*, byl jako model použit kmen myši C3H/HeN, kvůli své schopnosti vyvolat borreliacidní a ochranné protilátky. Byly izolovány geny ospA, ospB, ospC, ospD a 83-kDa a SON 188, ty byly klonovány a vyjádřeny v *Escherichia coli* jako bílkoviny splynulé do C-koncové maltózy-vázající protein. Aktivní imunizace myší s těmito fúzními proteiny vyvolalo vysoké titry protilátek. Protilátky vytvořené na fázi proteinů OspA, OspB, ale ne syntézou bílkovin OspC, OspD a 83-KdA, prokázaly in vitro borreliacidní činnost. Následkem u všech očkovaných myší 10 (7) SON 188 byla vyvolána infekce. Hlavně u myší, kterým byla podána imunogení OspD a 83-KdA. Ne však u všech myších užívající fúzní proteiny OspA, OspB nebo OspC. Tyto výsledky ukazují potenciál OspA, OspB a OspC jako složky subjednotkové vakcíny pro prevenci lymské boreliózy.

Barthold et al. (1994) očkovali po 4. týdnu života myši kmene C3h/HeJ intraperitoneálně 10 (7) neklonující *Borrelia burgdorferi*. Účinky byly zkoumány ve 30., 90., 180. a 360. den. Spirochety byly izolovány z různých tkáních v každém časovém intervalu. Kloubní a srdeční choroby byly ve 30. den přítomny ve všech myších a vymizely po 90 dnech. Ve 180. a 360. dnu měli některé myši mírné, opakující, kloubní a srdeční choroby, a většina z nich měla periferní segmentální periarteritis. Experiment byl opakován s C3H/HeN a Balb/cByJ myšmi, ty byly očkovány intradermálně 10 (4) klonovanými *B. burgdorferi*. Charakteristika infekce a nemoci byla ve 180. a 360. den obdobná jako u prvního pokusu, ale spirochety proteinových izolátů, v obou intervalech, nezobrazovaly žádnou proteinovou změnu v elektroforetických mobilitách. Spirochety izolované v 360. den, byly plně patogenní u dosud neléčných myší. Sérum od infikovaných myší ukázalo první imunoglobuliní M odpověď, za kterou setrvala imunoglobulinová G odpověď, která zahrnovala IgG1, IgG2a, IgG2b a IgG3, s rozšiřující se reaktivitou proti více antigenů v čase. Tyto výsledky naznačují, že u imunokompetentních myší se zachovává trvalá infekce a rozvoj časně akutní choroby kloubů a srdečních lézí, jenž se opakuje nepravidelně.

Jednou z nejhlavnějších věcí, na kterou se C3H kmen používá, je studium nádorů. S tímto kmenem se dá počítat do studie o působení nádorů. Jak uvádí Vaupel et al. (2008), závažné poruchy mikrocirkulace během pokročilých fází růstu nádoru, vede k omezení konvekční a rozptýlené přepravy. Kromě toho dochází k vývoji nehomogenního rozložení přepravních podmínek, což vede k nedostatečnému a nestejnorodému podkladu pro zásobování a nedostatečnému odvodňování. Polarografické měření tkáňových míst kyslíkového napětí (PO₂) pomocí zlatých mikroelektrod ukazují, že velmi nízké hodnoty PO₂ převládají u karcinomů mléčné žlázy C3H myší. Frekvence distribuce PO₂ v těchto tkáních jsou posunuty na nízké hodnoty PO₂ a omezují variabilitu. Průměrná hodnota PO₂ je 7 mm Hg. V různých mikročástech stejného nádoru, je výrazná heterogenní existence. Vzhledem k zvýšení výroby kyseliny mléčné a jejího následného nedostatečného odstranění, vzniká těžká acidóza tkáně doložena ve zhoubných nádorech. Hodnota pH nádoru mléčné žlázy u C3H myší, byla většinou naměřena v rozmezí 6,4 až 7,1. Velmi nízké pH hodnoty (5,8 – 6,3) byly pozorovány ve velkých nádorových vředů. V značně odumřelých oblastech byly dokonce detekovány vyšší hodnoty pH než u arteriální pH.

Dále se na C3H kmeni zkouší karcinogenní reakce různých druhů potravin. Tinsley et al. (1981) použili statistické metody pro stanovení, výskytu spontánních nádorů mléčné žlázy u myši C3H, ten může být spojen s úrovní jednotlivých mastných kyselin v jejich stravě. Jedenáct různých druhů tuků, oleje a devět směsí těchto olejů a tuků byly vybrány tak, aby úroveň devíti hlavních mastných kyselin se v průběhu přiměřeného rozsahu měnila a nebyla navzájem nesouvislá. Výskyt nádorů byl pozorován u myši, které měli ve stravě 10% obsah z těchto různých tuků. Vyšší regrese byla zjištěna u devíti mastných nasycených a čtyř až pěti nenasycených kyselin vyjadřující výskyt nádorů nebo čas na nádor. To však záleží na funkci úrovně potravy z lipidů. Zvýšený výskyt nádorů a snížení času nádoru byl pozorován při zvyšování úrovně linoleátu, které nahradilo osm dalších mastných kyselin v potravě. Přičemž další polynenasycené mastné kyseliny a linolenate měly malý účinek na výskyt nádorů. Čtyři nasycené mastné kyseliny: laurate, myristát, palmitát a stearát byly studovány. Ale pouze poslední ukazuje významný vliv. Zvýšení hladiny stearátu bylo spojeno se snížením výskytu nádorů a delšího času na nádor. Existuje možnost, že obsah kyseliny erukové snižuje výskyt nádorů, zatímco kyselina olejová nepředložila žádný významný vliv.

Často se na C3H kmeni pozoruje vliv rentgenových a jiných paprsků na nádory, nejčastěji nádory mléčné žlázy. Howes (1969) ve svém experimentu uvádí, že myši nesoucí transplantované nádory mléčné žlázy byly ozářeny 250 kVp rentgenových paprsků pomocí jedné nebo dvěma dávkami. Ve druhém případě byla první dávka o síle 1500 radiace daná ve vzduchu. Druhá dávka, jejíž velikost byla proměnlivá, byla dána buď na základě anoxických podmínek, průběhu zvířecího dýchání nebo kyslíku v atmosféře. Analýza byla provedena z hlediska dávky potřebné pro 50% vyléčení. Výsledky byly přestaveny pomocí modelu, ve kterém buňky přežívající první dávku jsou považovány buď za aerobní, nebo za anoxické. Podíl na každém oddělení se mění s časem. Za jednu hodinu po ozáření se hypoxický podíl zvýšil z 12 % na přibližně 100 %. Ale od šesté hodiny po ozáření klesl odhadovaný podíl hypoxie a tak to pokračovalo, dokud za 4 dny nedosáhl na minimální hodnotu ozáření, což byla výrazně nižší hodnota než před ozáření. Z odhadovaných změn v celkovém počtu hypoxických buněk vyplývá, že 48 hodinový rozestup byl pravděpodobně optimální pro získání maximální reakce na tyto nádory.

Terzaghi a Little (1976) prokázali, že reprodukováné X-paprsky vyvolávají, v ustálené buněčné linii fibroblastů myšího embrya, onkogenní transformaci. Buňky, získané

z transformovaných ložisek, po injekční aplikaci do syngenických hostitelů tvoří zhoubné nádory. Exponenciální nárůst počtu transformovaných, životaschopných buněk se objevil v dávkách až do 400 radiace X-záření. Při dávkách do 300 radiace X-paprsků, nedošlo k výrazným změnám v přežívání. Dávky vyšší než 300 radiace byly spojeny s exponenciálním poklesem přežití. Transformační četnost se měnila se změnami v počtu životaschopných buněk vnesených na misku. Tam kde byl asi deseti násobný pokles četnosti transformace, byl počet buněk zvýšen ze 400 na 1000 životaschopných buněk/100 mm Petriho misky. Díky tomuto hustotnímu rozsahu, došlo k změnám v transformační četnosti. Přítomnost smrtelně předozářených buněk byla spojena se zvýšenou transformací v ozářených buňkách, nebo s přerušením transformace v neozářených buněčných kulturách. Amfotericin B (fungizone) zabráňovala ve výskytu transformací, při přidání do kultivačního média v rozmezí 2 až 3 týdnů po zahájení experimentu.

V neposlední řadě jsou tyto C3H myši použity ke studii protinádorových látek. Benedict et al. (1977) si vybrali různá rakovinná chemoterapeutika, zahrnující alkylační látky, antimetabolity, antibiotika nebo přírodní produkty. Tyto prostředky byly studovány pro svoji schopnost produkovat morfologické transformace v buněčné linii C3H/10 ½ clone 8 myši a poškození chromozomů v buněčné linii A (T1)C1-3 křečka, 24 hodin po vystavení každé z těchto látek v různých koncentracích. Ty látky, které byly známé jako in vivo karcinogenní, také produkovaly morfologické transformace a poškozovaly chromozomy. Zatímco tyto studované látky byly prokázány jako in vivo nekarcinogenní, neprodukovaly transformaci ani nevznikaly chromozomální léze. Koncentrace použité pro tyto studie byly obecně podobné těm, které byly dosaženy v plazmě u pacientů léčených těmito léky na zhoubné nádory, stejně jako při nenádorových podmínkách.

Kmen BALB/c



Festing (1998) udává, že je tento kmen dnes velmi rozšířen a patří mezi top 2-3 nejpoužívanějších inbredních kmenů. Kmen je zvláště dobře známý pro svoji produkci plasmacytomas po injekci s minerálním olejem. Ty tvoří základ pro výrobu monoklonálních protilátek. Používá se jako univerzální kmen v mnoha

různých oborech. Dobře se chová a prokazuje dlouhou reprodukční životaschopnost. Normálně má nízký výskyt nádorů mléčné žlázy, ale může být napaden virem nádorů mléčné žlázy tím, že se zkříží s C3H kmenem myši (který tento virus nese), následně se vyskytne vysoký výskyt nádorů mléčné žlázy. Díky údajům z genetických ukazatelů, se tři hlavní podkmeny, které jsou uvedeny níže, rozcházejí především prostřednictvím mutace nebo zbytkovou heterozygotností, nežli genetickou kontaminací. Další studie ukázala, že se liší v důsledku mutace v lokusu Raf1 (řídící projev alfa-getoproteinu), lokusu Qa2 (upravující antigeny na povrchu buněk), lokusu Gdc1 (upravující L-glycerol3-fosfát dehydrogenázy v činnosti v játrech) a v PR1 opakující sekvenci. Čtvrtý podkmen Balb/cwt je uveden proto, že se u něj objevuje vysoký výskyt hermafroditismu.

Čtyři hlavní podkmeny:

- BALB/cHeAn – široce distribuován, mnohem méně agresivní než podkmen BALB/cJ

- BALB/cJ – samci tohoto podkmene jsou velice agresivní, pokud budou dva dospělí samci umístěni spolu, dojde k vzájemnému napadání

- BALB/cRl

- BALB/cWt – má asi 3% výskyt skutečného hermafroditismu

Kmen BALB/c se používá v mnoha vědeckých studiích. Mohou to být například studie zabývající se fyziologickými nedostatky organismu. Barone et al. (1993) zkoumali následky mozkové ischemie u třech různých kmenů myši (BDF, SOD a BALB/c). Různé kmeny, které byly vystaveny ohniskové ischemii do 24 hodin, měli značné rozdíly v náchylnosti. V návaznosti na střední mozkové artérie (MCAO) a ipsilaterálně společné krční tepny (CCAO) dochází u 67 % BALB/c myši do 24 hodin ke smrti. Samy CCAO produkovaly multifokálně hemisférické infarkty u 36 % myši BALB/c, u dalších dvou kmenů se to nestávalo. U všech mozků myši, kterým bylo podáváno placebo, nebylo zjištěno žádné ischemické poškození. Arteriální krevní tlak, krevní plyny a profily krvinek byly poměrně podobné u všech třech kmenů. Nicméně, ve srovnání s ostatními kmeny, studie mozkové anatomie ukázalo neúplný kruh Willis (významné snížení četnosti propojení zadních artérií) u BALB/c myši. Díky těmto anatomickým datům byly myši hodnoceny na základě přechodné komplexní mozkové ischemie, produkované bilaterální CCAO. U BALB/c myši došlo k více než 85% snížení mikrovaskulární prokrvení a EEG energie v průběhu 1 minuty bilaterální CCAO. Údaje nám ukazují na rozdíly mezi myšimi kmeny v jejich citlivosti na mozkovou

ischémii. Ta alespoň částečně souvisí s funkční anatomií cév na úrovni propojených zadních tepen. Zejména je třeba upozornit na potenciální užitečnost BALB/C myši, jako citlivých a reprodukovatelných modelů pro ohniskovou a komplexní ischemii.

Jako u jiných myších kmenů, se i BALB/c kmen používá k nádorovým studiím. Okayasu et al. (2000) zkoumali účinnost DNA dvojitých zlomů (DSB) připojující se na základní buňky myších kmenů, ty nám ukazují velké rozdíly v in vivo radiosenzitivitě a citlivosti nádoru. Buňky z radiosenzitivní, rakovině náchylné, BALB/c myši ukázaly neefektivní ukončení spojení gama paprsků vyvolávající DSB, v porovnání s buňkami ze všech ostatních, běžně používaných kmenů a F1 hybridů C57BL/6 a BALB/c. Opravy BALB/c fenotypu byly, ve srovnání s ostatními kmeny, doprovázeny významnými sníženými projevy na úrovni DNA PKCS bílkovin, stejně jako snížení DNA-PK aktivity. V souvislosti s publikovanými zprávami, tyto údaje naznačují, že přírodní genetické rozdíly v nehomologních končících procesech, mohou mít významný vliv na in vivo radiační reakce u myši.

Nádorové onemocnění není jediným typem onemocnění, které se na BALB/c myším kmenu testuje. Je velmi využíván i u další typů onemocnění. Mohou to jednak být virové onemocnění. Očkování s formalíno-inaktivovaným respiračním syncytiálním virem (RSV-FI) způsobilo nadměrné onemocnění u dětí po následné přirozené infekci RSV. Nedávné studie s BALB/c myšmi naznačují, že T-buňky výrazně zvyšují plicní imunopatologii během infekce RSV. V této studii Waris et al. (1996) studovali vakcínou-indukované zvýšení nemoci u očkováných BALB/c myši intranazálně živé RSV nebo intramuskulárně FI-RSV. Myši byly v 6. týdnu napadány RSV, plicní zánětlivá odpověď se studovala na základě analýzy buněk získané z bronchoalveolární laváže 4. a 8. den po napadení. FI-RSV-imunizované myši měly zvýšený počet všech buněk, granulocytů, eozinofilů a CD4 + buněk. Naopak se snížil počet CD8 + buněk. Zřetelný rozdíl v plicní zánětlivé reakci, u očkováných myši, v RSV mezi FI-RSV a živou RSV naznačuje, že tento model může být použit k vyhodnocení onemocnění a posílení potenciálních kandidátských vakcín RSV a lépe pochopit rozšířené onemocnění.

Pro potřeby studie může být kmen BALB/c i upravován, aby tak došlo k co nejlepším výsledkům. Weissman a Aaronson (2004) uvádí, že vznikla buněčná linie klonové myši BALB/c s epidermálními keratinocyty (BALB/MK). Navzdory jejich aneuploidní povaze, byla linie netumorigenní, byly udrženy in vitro vlastnosti podobné těm v primárních

diploidních keratinocytů. BALB a Kirsten myší viry zhoubných nádorů, jsou akutně transformující retroviry, které vykazují schopnost transformovat fibroblasty a krvetvorné buňky. Virová infekce BALB/MK myší, nebo jeho podlinií, vedlo k rychlému získání epidermálního růstového faktoru (EFG), nezávislé na růstu. Buňky současně ztrácejí citlivost na vápník - vyvolané diferenciaci. Tak se tyto retroviry mohou rychle přenést na epitelální keratinocytární kultury růstu, ty se podobají zhoubným buňkám epidermoidního karcinomu.

Dalším typem onemocnění, na který se používá BALB/c kmen, mohou být různé druhy bakteriálního onemocnění. Často se ve studiích zkoumá jeden typ onemocnění a srovnávají se jeho určité kmeny. Jakou mají virulenci atd. Rusňáková a kol. (2006) ve své práci píše, že očkovali BALB/c myši třemi různými kmeny *Borrelia aféliei*. *Borrelia aféliei* získali z klíštěte *Ixodes ricinus*, komára *Culex* (*Culex*) *pipiens molestus* a z myšice *Apodemus flavicollis*. Pomocí metody ELISA zjistili hladiny protilátek a proteiny zodpovědných za tvorbu protilátek detekovali metodou immunoblotting. Všechny aplikované kmeny *Borrelia aféliei* vytvořily stejnou hladinu protilátek, ale u každého použitého kmene se lišily proteiny zodpovědné za tvorbu protilátek. Proteiny s nejvýznamnější odpovědí byly OspA a OspC. V počáteční fázi převažovala tvorba IgM oproti OspC proteinů. OspA protein vyvolal v pozdní fázi nastoupení proteinu IgG.

Dormans et al. (2004) uvádějí, že jedním z nejzajímavějších aspektů tuberkulózy je, že výsledek *M. tuberculosis* (TBC) je mezi jednotlivci velmi proměnlivý. Možné rozdíly ve virulenci kmenů tuberkulózy nebo jejich genotypech, se začaly zkoumat teprve nedávno. Existují důkazy o multifaktoriální genetické predispozici u člověka, které ovlivňují náchylnost na tuberkulózu. Lepší pochopení rozdílů virulence mezi tuberkulózními genotypy může být důležité při kontrole TBC a vývoji lepších antituberkulózních vakcín. Po injekční aplikaci, intratracheální cestou, některého z 19 různých kmenů TBC, z 11 hlavních genotypových rodin, byly BALB/c myši studovány na dobu přežití, bakteriální zatížení a opožděnou přecitlivělost (DTH). Výsledky ukazují, že u geneticky různých kmenů tuberkulózy byla velmi široká reakce přítomna ve vztahu na virulenci, patologii, bakteriální zatížení a DTH. Závažné patologické reakce korespondují s vysokou úmrtností, vysokým počtem CFU (colony-forming unit) v plicích a vysokou DTH reakcí.

Onemocnění zkoumané na BALB/c kmenu se mohlo i upravit a zkoumat její nové vlastnosti. O'Callaghan a kol. (1988) uvádí: Stabilní transpozon-generované auxotrofické mutace v aroA, purA a purE nebo v aroA a purA, byly společně zavedeny do kmenů *Salmonella typhimurium*, které jsou u myši virulentní. Kmeny přechovávající některý z těchto mutací, byly při testování na BALB/c myši oslabeny. PurE kmeny byly méně oslabené, než aroA nebo purA kmeny. Obě aroA a purA mutace, po intravenózní infekci přetrvávaly několik týdnů v játrech a slezině myši. A to i přesto, že se počty živých buněk, v různých dobách po infekci lišily. V kmenech s aroA mutací, trvala infekce ve vyšší míře než u kmenů s purA, zároveň byly účinné živé očkovací látky podané intravenózně nebo perorálně. Na purA kmeny byla neúčinná perorální vakcína a intravenózní vakcíny působily špatně. U kmenů přechovávající jak aroA tak i purA mutace společně, byly vakcíny podávané orálně nebo nitrožilně neúčinné.

Kromě zkoumání účinků a následků onemocnění, se na BALB/c myších studují i možné vakcíny a protilátky používané proti těmto nemocem. Mechanismy odolnosti proti salmonelám, jsou poskytovány pomocí očkování živými vakcínami. Ty studovali Mastroeni et al. (1993), po umělém přenosu myši-virulentního kmene *Salmonella typhimurium* C5, na vrozeně náchylné BALB/c myši. Tento organismus nedokáže vytvářet subletální infekci v dosud neléčených BALB/c myších. Zvířata očkováná o 2 až 3 měsíce dříve živou vakcínou *S. typhimurium* SL3261 aroA, byla použita jako dárce séra, slezinných buněk a buněk mesenterických lymfatických uzlin pro doposud neléčené jedince, kterým byl orálně vpraven virulentní kmen C5. Současný přenos obou imunitních sér a imunitních buněk bylo nezbytné pro ochranu. Výsledky ukazují, že jak protilátky, tak T buňky jsou nezbytné pro vyvolání odolnosti proti orálnímu podání virulentních salmonel, u vrozeně vnímavých myších. Schopnost vyvolání opsonizujících protilátek, kromě buněčně-zprostředkované imunity, je důležitá pro optimální ochranu vyvolávající očkovací látky proti salmonelle.

Titus et al. (1985) studovali účinek in vivo léčby anti-L3T4 monoklonální protilátkou (mAb) na průběh experimentálně navozené kožní leishmaniózy. K tomuto pokusu byly použity geneticky vnímavé BALB/c myši. Podání anti-L3T4 mAb, vedlo k výraznému léčebnému efektu, což vedlo jak k rozlišení lézí, tak i k dramatickému snížení parazitické zátěže v léčených myších. Tento efekt byl specifický pro anti-L3T4 mAb a souvisel se selektivním vyčerpáním L3T4 + T buněk v lymfoidních tkáních ošetřených myši. Ostatně, jak léčebné

účinky anti-L3T4 mAb na kožní leishmaniózy a současně vyčerpání L3T4 + T buněk v lymfoidních tkáních, byly závislé na použití izotopu anti-L3T4 mAb.

V neposlední řadě jsou BALB/c myši používány pro studium různých látek a sloučenin. Branch et al. (1990) zjišťovali, zda očištěný imunoglobulin G, u pacientů s antifosfolipidovými protilátkami, způsobuje ztrátu plodu u březích myší. Sérum bylo získáváno z netěhotných pářících se samic (skupina 1) a z netěhotných samic s antifosfolipidovými protilátkami, které již v minulosti přišli o plod (skupina 2). Těhotné BALB/c myši dostaly intraperitoneální injekci o dávce 15 mg IgG v 8. den těhotenství. Obvykle myši léčené IgG z antifosfolipidových protilátek, potratily do 48 hodin. Zvířata byla obětována v 9. až 15. den, každé samici byla zkontrolována děloha na přítomnost živých, mrtvých nebo resorpčních plodů. Na rozdíl od myší dostávající kontrolní IgG nebo fyziologický roztok, myši dostávající IgG z antifosfolipidových protilátek, buď potratily anebo nebyly nalezeny žádné živé plody (méně než 0,05). Histologické vyšetření ukázalo deciduální uteroplacentární rozhraní nekrózy v myších léčených IgG, obsahující antifosfolipidové protilátky. Imunofluorescenční studia také ukázala významnou intravaskulárně deciduální IgG a fibrinovou depozici. Došlo se k závěru, že IgG z antifosfolipidových protilátek ze samic, které potratily, způsobují potrat u BALB/c myší. Zdá se, že ztráty plodu jsou zprostředkovány IgG vazbou v mateřských deciduálních cévách.

Závěr

Z údajů, které jsem zkoumal, je zřejmé, že se myši využívají ve velké škále pokusů. Pomáhají nám zjišťovat působení určitých látek, například jedná-li se o karcinogenní nebo škodlivé látky postihující celý nebo jen část organismu, tak i látky podporující a chránící organismus. Aplikace cizorodých látek může vyvolávat nemoci, které by myši za normálních okolností neměly. Protože proti těmto nemocem nemají přirozenou obranyschopnost, stávají se tak ideálním modelem pro studium působení těchto onemocnění v plném rozsahu, bez jakéhokoliv omezení. Tato onemocnění mohou být virového či bakteriálního původu. Může se jednat i o různá parazitologická onemocnění, u kterých se zjišťuje jejich nebezpečnost, popřípadě citlivost na protilátky. Dále jsou testovány na látky, se kterými se především člověk dostává do kontaktu, nebo jsou jím využívány. Stejně tak jsou různé typy kmenů šlechtěny pro svoje anatomické či fyziologické anomálie či poruchy. Může se jednat například o zrakové, rozmnožovací či trávicí ústrojí. Nebo jsou chovány pro svoji citlivost k určitým nákazám, látkám či k daným situacím. Jsou zkoumány i jejich biologické procesy v závislosti na působení daných látek.

Samostatnou kapitolu představují nádorová studia. Myši jsou v tomto oboru hojně využívány a nynější studie si bez nich ani nelze představit. Vytvářejí se nové a nové myší kmeny a podkmeny, které jsou co nejvíce citlivé na určité druhy nádorů, například mléčné žlázy. Stejně tak se i vytvářejí kmeny, které jsou proti těmto nádorům imunní. Zjišťují se látky vyvolávající nádory, reakce myší na tyto látky, působení nádorů na organismus a jeho ovlivňování. Pro navození nádorů jsou myším podávány karcinogenní látky, nebo jsou umístěny do prostředí podporující nádorové reakce či jsou jim nádory vpraveny přímo do těla. Myši s vytvořenými nádory mohou být použity při zjišťování vhodných protilátek, účinnosti chemoterapie či ozařování v boji proti nádorům.

Laboratorní myš je jedním z nejdůležitějších pomocníků pro vědecký výzkum. Stojí v pomyslné první linii a těžko bychom hledali léky, se kterými se tito malí tvorečkové nesetkali. Jsou to stvoření, která umírají a jsou obětována pro blaho lidí. Žádné z používaných myší totiž nezemrou přirozenou cestou, a pokud nezahynou během pokusu, jsou usmrceny hned, jak experiment skončí. Díky myším se však podařilo zachránit miliony lidských životů, porozumět dosud neznámým věcem a zjišťovat nové látky pro další využívání. I přesto, že

jsou myši lidmi tak hojně využívány, jsou často opomíjeny a je zapomínána jejich důležitost. Což je škoda. Vždyť nespočet lidí žije jen díky tomu, že tyto myši musely zemřít.

Seznam použité literatury

Literární zdroje

Afaq, F., Saleem, M., Krueger, Ch. G., Reed, J. D., Mukhtar, H. 2005 Anthocyanin- and hydrolyzable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF- κ B pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. *International Journal of Cancer*. 113 (3). 423-433.

Agger, M. K., Simonsen, P. E., Vennervald, B. J. 1993. The antibody response in serum, intestinal wall and intestinal lumen of NMRI mice infected with *Echinostoma caproni*. *Journal of Helminthology*. 67 (3). 169-178.

Alworh, L. C., Howdeshell, K. L., Ruhlen, R. L., Day, J. K., Lubahn, D. B., Huang, T. H-M., Besch-Williford, C. L., von Saal, F. S. 2002. Uterine Responsiveness to Estradiol and DNA Methylation Are Altered by Fetal Exposure to Diethylstilbestrol and Methoxychlor in CD-1 Mice: Effects of Low versus High Doses. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 183 (1). 10-22.

Azuine, M. A., Bhide, S. V. 1992. Chemopreventive effect of turmeric against stomach and skin tumors induced by chemical carcinogens in Swiss mice. *Nutrition and Cancer*. 17 (1). 77-83.

Balasubramaniyan, V., Sailaja, J. K., Nalini, N. 2003. Role of leptin on alcohol-induced oxidative stress in Swiss mice. *Pharmacological Research*. 47 (3). 211-216.

Barone, F. C., Knudsen, D. J., Nelson, A. H., Feuerstein, G. Z., Willette, R. N. 1993. Mouse Strain Differences in Susceptibility to Cerebral Ischemia Are Related to Cerebral Vascular Anatomy. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 13. 683-692.

Barthold, S. W., Beck, D. S., Hansen, G. M., Terwilliger, G. A., Moody, K. D. 1990. Lyme Borreliosis in Selected Strains and Ages of Laboratory Mice. *The Journal of Infectious Diseases*. 162 (1). 133-138.

Barthold, S. W., de Souza, M. S., Janotka, J. L., Smith, A. L., Persing, D. H. 1993. Chronic Lyme borreliosis in the laboratory mouse. *The American Journal of Pathology*. 143 (3). 959-971.

Bayer, A. U., Neuhardt, T., May, A. C., Martus, P., Maag, K-P., Brodie, S., Lütjen-Drecoll, E., Podos, S. M., Mittag, T. 2001. Retinal Morphology and ERG Response in the DBA/2NNia Mouse Model of Angle-Closure Glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 42 (6). 1258-1265.

Beck, J. A., Lloyd, S., Hafezparast, M., Lennon-Pierce, M., Eppig, J. T., Festing, M. F. W., Fisher, E. M. C. 2000. Genealogies of mouse inbred strains. *Nature Genetics*. 24. 23-25.

Benedict, W. F., Banerjee, A., Gardner, A., Jones, P. A. 1977. Induction of Morphological Transformation in Mouse C3H/10T $\frac{1}{2}$ Clone 8 Cells and Chromosomal Damage in Hamster A(T₁)C1–3 Cells by Cancer Chemotherapeutic Agents. *Cancer Research*. 37.

Bomser, J. A., Singletary, K. W., Wallig, M. A., Smith, M. A. L. 1999. Inhibition of TPA-induced tumor promotion in CD-1 mouse epidermis by a polyphenolic fraction from grape seeds. *Cancer Letters*. 135 (2). 151-157.

Branch, D. W., Dudley, D. J., Mitchell, M. D., Creighton, K. A., Abbott, T. M., Hammond, E. H., Daynes, R. A. 1990. Immunoglobulin G fractions from patients with antiphospholipid antibodies cause fetal death in BALB/c mice: a model for autoimmune fetal loss. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 163 (1). 210-216.

Bull, R. J., Robinson, M., Stober, J. A. 1984. Carcinogenic activity of acrylamide in the skin and lung of Swiss-ICR mice. *Cancer Letters*. 24 (2). 209-212.

Caravaggio, L. L., Bonting, S. L. 1963. The rhodopsin cycle in the developing vertebrate retina: II. Correlative study in normal mice and in mice with hereditary retinal degeneration. *Experimental Eye Research*. 2 (1). 12-19.

Conybeare, G. 1980. Effect of quality and quantity of diet on survival and tumour incidence in outbred Swiss mice. *Food and Cosmetics Toxicology*. 18 (1). 65-75.

Costa, G., Holland, J. F. 1962. Effects of Krebs-2 Carcinoma on the Lipide Metabolism of Male Swiss Mice. *Cancer Research*. 22.

Decad, G. M., Bimbaum, L. S., Matthewx, H. B. 1981. Distribution and excretion of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran in C57BL/6J and DBA/2J mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 59 (3). 564-573.

Deamer, N. J., O'Callaghan, J. P., Genter, M. B. 1994. Olfactory toxicity resulting from dermal application of 2,6-dichlorobenzonitrile (dichlobenil) in the C57Bl mouse. *Neurotoxicology*. 15 (2). 287-294.

Dormans, J., Burger, M., Aguilar, D., Hernandez-Pando, R., Kremer, K., Roholl, P., Arend, S. M., van Soolingen, D. 2004. Correlation of virulence, lung pathology, bacterial load and delayed type hypersensitivity responses after infection with different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes in a BALB/c mouse model. *Clinical & Experimental Immunology*. 137 (3). 460-468.

Engstrom, F. L., Woodbury, D. M. 1988. Seizure Susceptibility in DBA and C57 Mice: The Effects of Various Convulsants. *Epilepsia*. 29 (4). 389-395.

Ertürk, E., Cohen, S. M., Bryan, G. T. 1970. Urinary Bladder Carcinogenicity of *N*-[4-(5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide in Female Swiss Mice. *Cancer Research*. 30.

Fischer, S. M., Fürstenberger, G., Marks, F., Slaga, T. J. 1987. Events Associated with Mouse Skin Tumor Promotion with Respect to Arachidonic Acid Metabolism: A Comparison between SENCAR and NMRI Mice. *Cancer Research*. 47.

Furstenberger, G., Kinzel, V., Schwarz, M., Marks, F. 1985. Partial inversion of the initiation-promotion sequence of multistage tumorigenesis in the skin of NMRI mice. *Science*. 230 (4721). 76-78.

- Gasiewicz, T. A., Geiger, L. E., Rucci, G., Neal, R. A. 1983. Distribution, excretion, and metabolism of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in C57BL/6J, DBA/2J, and B6D2F1/J mice. *Drug Metabolism & Disposition*. 11 (5). 397-403.
- Glück, B., Schmidtke, M., Merkle, I., Stelzner, A., Gerns, D. 2001. Persistent Expression of Cytokines in the Chronic Stage of CVB3-induced Myocarditis in NMRI Mice. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 33 (9). 1615-1626.
- Goren, H. J., Kulkarni, R. N., Kahn, C. R. 2004. Glucose Homeostasis and Tissue Transcript Content of Insulin Signaling Intermediates in Four Inbred Strains of Mice: C57BL/6, C57BLKS/6, DBA/2, and 129X1. *Endocrinology*. 145 (7). 3307-3323.
- Gross, U., Müller, W. A., Knapp, S., Heesemann, J. 1991. Identification of a virulence-associated antigen of *Toxoplasma gondii* by use of a mouse monoclonal antibody. *Infection and Immunity*. 59 (12). 4511-4516.
- Grounds, M. D., McGeachie, J. K. 1989. A comparison of muscle precursor replication in crush-injured skeletal muscle of Swiss and BALBc mice. *Cell and Tissue Research*. 255 (2). 385-391.
- Ho, E., Chen, G., Bray, T. M. 1999. Supplementation of N-acetylcysteine inhibits NFκB activation and protects against alloxan-induced diabetes in CD-1 mice. *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 13 (13). 1845-1854.
- Howes, A. E. 1969. An estimation of changes in the proportions and absolute numbers of hypoxic cells after irradiation of transplanted C₃H mouse mammary tumours. *British Journal of Radiology*. 42 (498). 441-447.
- Chapman, D. E., Schiller, C. M. 1985. Dose-related effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in C57BL/6J and DBA/2J mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 78 (1). 147-157.

Jebavý, L. (eds). 2011. Chov laboratorních zvířat. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. 210 s. ISBN: 978-80-213-2176-2

John, S. W., Smith, R. S., Savinova, O. V., Hawes, N. L., Chang, B., Turnbull, D., Davisson, M., Roderick, T. H., Heckenlively, J. R. 1998. Essential iris atrophy, pigment dispersion, and glaucoma in DBA/2J mice. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 39 (6). 951-962.

Joneja, M. G., Leliever, W. C. 1974. Effects of vinblastine and podophyllin on DBA mouse fetuses. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 27 (2). 408-414.

Kiianmaa, K., Hoffman, P. L., Tabakoff, B. 1983. Antagonism of the behavioral effects of ethanol by naltrexone in BALB/c, C57BL/6, and DBA/2 mice. *Psychopharmacology*. 79 (4). 291-294.

Kopp-Schneider, A., Portier, Ch. J. 1995. Carcinoma formation in NMRI mouse skin painting studies is a process suggesting greater than two stages. *Carcinogenesis*. 16 (1). 53-59.

Lamberty, Y., Gower, A. J. 1990. Age-related changes in spontaneous behavior and learning in NMRI mice from maturity to middle age. *Physiology & Behavior*. 47 (6). 1137-1144.

Leiter, E. H. 1982. Multiple low-dose streptozotocin-induced hyperglycemia and insulinitis in C57BL mice: Influence of inbred background, sex, and thymus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 79 (2). 630-634.

Macholán, M. 1997. Historie laboratorních myší, *Vesmír*. 76 (4). 208.

Mastroeni, P., Villarreal-Ramos, B., Hormaeche, C. E. 1993. Adoptive transfer of immunity to oral challenge with virulent salmonellae in innately susceptible BALB/c mice requires both immune serum and T cells. *Infection and Immunity*. 61 (9). 3981-3984.

McDermott, J. L., Liu, B., Dluzent, D. E. 1994. Sex Differences and Effects of Estrogen on Dopamine and DOPAC Release from the Striatum of Male and Female CD-1 Mice. *Experimental Neurology*. 125 (2). 306-31.

McGeachie, J. K., Grounds, M. D. 1989. A comparison of muscle precursor replication in crush-injured skeletal muscle of Swiss and BALBc mice. *Cell and Tissue Research*. 255 (2). 385-391.

Mercader, J., Ribor, J., Murano, I., Felipe, F., Cinti, S., Bonet, M. L., Palou, A. 2006. Remodeling of White Adipose Tissue after Retinoic Acid Administration in Mice. *Endocrinology*. 147 (11). 5325-5332.

Mohtasharnipur, E., Triebel, R., Straeter, H., Norpoth, K. 1987. The bone marrow clastogenicity of eight halogenated benzenes in male NMRI mice. *Mutagenesis*. 2 (2). 111-113.

Newbold, R. R., Liehr, J. G. 2000. Induction of Uterine Adenocarcinoma in CD-1 Mice by Catechol Estrogens. *Cancer Research*. 60.

Newbold, R. R., Moore, A. B., Dixon, D. 2002. Characterization of Uterine Leiomyomas in CD-1 Mice Following Developmental Exposure to Diethylstilbestrol (DES). *Toxicologic Pathology*. 30 (5). 611-616.

Newsome, C. T., Flores, E., Ayala, A., Gregory, S., Reichner, J. S. 2011. Improved antimicrobial host defense in mice following poly-(1,6)- β -D-glucopyranosyl-(1,3)- β -D-glucopyranose glucan treatment by a gender-dependent immune mechanism. *Clinical and Vaccine*. 18 (12). 2043-2049.

O'Callaghan, D., Maskell, D., Liew, F. Y., Easmon, C. S., Dougan, G. 1988. Characterization of aromatic- and purine-dependent *Salmonella typhimurium*: attention, persistence, and ability to induce protective immunity in BALB/c mice. *Infection and Immunity*. 56 (2). 419-423.

Osswald, H., Frank, H. K., Komitowski, D., Winter, H. 1976. Long-term testing of patulin administered orally to sprague-dawley rats and swiss mice. *Food and Cosmetics Toxicology*. 16 (3). 243-247.

Okayasu, R., Suetomi, K., Yu, Y., Silver, A., Bedford, J. S., Cox, R., Ullrich, R. L. 2000. A Deficiency in DNA Repair and DNA-PKcs Expression in the Radiosensitive BALB/c Mouse. *Cancer Research*. 60.

Paylor, R., Tracy, R., Wehner, J., Rudy, J. W. 1994. DBA/2 and C57BL/6 mice differ in contextual fear but not auditory fear conditioning. *Behavioral Neuroscience*. 108 (4). 810-817.

Prejean, J. D., Peckham, J. C., Casey, A. E., Griswold, D. P., Weisburger, E. K., Weisburger, J. H. 1973. Spontaneous Tumors in Sprague-Dawley Rats and Swiss Mice. *Cancer Research*. 33.

Probert, W. S., LeFebvre, R. B. 1994. Protection of C3H/HeN mice from challenge with *Borrelia burgdorferi* through active immunization with OspA, OspB, or OspC, but not with OspD or the 83-kilodalton antigen. *Infection and Immunity*. 62 (5). 1920-1926.

Rowlatt, C., Chesterman, F. C., Sheriff, M. U. 1976. Lifespan, age changes and tumour incidence in an ageing C57BL mouse colony. *Laboratory Animals*. 10 (4). 419-442.

Saleem, M., Afaq, F., Adhami, V.M., Mukhtar, H. 2004. Lupeol modulates NF- κ B and PI3K/Akt pathways and inhibits skin cancer in CD-1 mice. *Oncogene*. 23. 5203-5214.

Shamsuddin, A. M., Ullah, A., Chakravarthy, A. K. 1989. Inositol and inositol hexaphosphate suppress cell proliferation and tumor formation in CD-1 mice. *Carcinogenesis*. 10 (8). 1461-1463.

Shi, W., Wang, N. J., Shih, D. M., Sun, V. Z., Wang, X., Lusa, A. J. 2000. Integrative Physiology. *Circulation Research*. 86 (10). 1078-1084.

Shibley, H., Smith, B. N. 2002. Pilocarpine-induced status epilepticus results in mossy fiber sprouting and spontaneous seizures in C57BL/6 and CD-1 mice. *Epilepsy Research*. 49 (2). 109-120.

Snyder, C. A., Goldstein, B. D., Sellakumar, A. R., Bromberg, I., Laskin, S. Albert, R. E. 1980. The inhalation toxicology of benzene: Incidence of hematopoietic neoplasms and hematotoxicity in **AKR/J** and **C57BL/6J** mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 54 (2). 323-331.

Staats, J. 1966. The Laboratory mouse. In: Green, E. L. (eds). *Biology of the Laboratory Mouse*. Dover Publications. New York.

Suit, H., Lindberg, R., Suchato, Ch., Ozenne, A. 1967. RADIATION DOSE FRACTIONATION AND HIGH PRESSURE OXYGEN IN RADIOTHERAPY OF THE DBA MOUSE MAMMARY CARCINOMA. *American Journal of Roentgenology*. 99 (4). 895-899.

Suit, H. D., Maeda, M. 1967. Hyperbaric oxygen and radiobiology of a C3H mouse mammary carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*. 39 (4). 639-652.

Sundberg, J. P., Cordy, W. R., King, L. E. 1994. Alopecia Areata in Aging C3H/HeJ Mice. *Journal of Investigative Dermatology*. 102. 847-856.

Terzaghi, M., Little, J. B. 1976. X-radiation-induced Transformation in a C3H Mouse Embryoderived Cell Line. *Cancer Research*. 36.

Tinsley, I. J., Schmitz, J. A., Pierce, D. A. 1981. Influence of Dietary Fatty Acids on the Incidence of Mammary Tumors in the C3H Mouse. *Cancer Research*. 41.

Titus, R. G., Ceredig, R., Cerottini, J. C., Louis, J. A. 1985. Therapeutic effect of anti-L3T4 monoclonal antibody GK1.5 on cutaneous leishmaniasis in genetically-susceptible BALB/c mice. *The Journal of Immunology*. 135 (3). 2108-2114.

Todaro, G. J., Arnstein, P., Parks, W. P., Lennette, E. H., Huebner, R. J. 1973. A Type-C Virus in Human Rhabdomyosarcoma Cells After Inoculation into NIH Swiss Mice Treated

with Antithymocyte Serum. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 70 (3). 859-862.

Vaidya, A. B., Taraschi, N. E., Tancin, S. L., Long, C. A. 1983. Regulation of endogenous murine mammary tumor virus expression in C57BL mouse lactating mammary glands: transcription of functional mRNA with a block at the translational level. *Journal of Virology*. 46 (3). 818-828.

Valjent, E., Pages, Ch., Hervé, D., Girault, J-A., Caboche, J. 2004. Addictive and non-addictive drugs induce distinct and specific patterns of ERK activation in mouse brain. *European Journal of Neuroscience*. 19 (7). 1826-1836.

Vaupel, P. W., Frinak, S., Bicher, H. I. 2008. Heterogeneous Oxygen Partial Pressure and pH Distribution in C3H Mouse Mammary Adenocarcinoma. *Cancer Research*. 41.

Vicens, P., Bernal, M. C., Carrasco, M. C., Redolat, R. 1999. Previous Training in the Water Maze: Differential Effects in NMRI and C57BL Mice. *Physiology & Behavior*. 67 (2). 197-203.

Waalkes, M. P., Keefer, L. K., Diwan, B. A. 2000. Induction of Proliferative Lesions of the Uterus, Testes, and Liver in Swiss Mice Given Repeated Injections of Sodium Arsenate: Possible Estrogenic Mode of Action. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 166 (1). 24-35.

Waris, M. E., Tsou, C., Erdman, D. D., Zaki, S. R., Anderson, L. J. 1996. Respiratory syncytial virus infection in BALB/c mice previously immunized with formalin-inactivated virus induces enhanced pulmonary inflammatory response with a predominant Th2-like cytokine pattern. *Journal of Virology*. 70 (5). 2852-2860.

Weissman, B. E., Aaronson, S. A. 1983. BALB and kirsten murine sarcoma viruses alter growth and differentiation of EGF-dependent BALB/c mouse epidermal keratinocyte lines. *Cell*. 32 (2). 599-606.

Willot, J. F., Demuth, R. M., Lu, S-M., Van Bergem, P. 1982. Abnormal tonotopic organization in the ventral cochlear nucleus of the hearing-impaired DBA/2 mouse. Neuroscience Letters. 34 (1). 13-17.

Internetové zdroje

Bienertová Vašků, J. Kolektiv pracovníků Ústavu patologické fyziologie LF M.U. Praktikum z patologické fyziologie [online]. [cit. 2011-12-28]. Dostupné z <http://is.muni.cz/do/1499/el/estud/lf/ps06/3050988/Praktikum_z_patologicke_fyziologie.pdf>.

Brown, S. Mice changing medicine [online]. [cit. 2011-12-27]. Dostupné z <<http://www.har.mrc.ac.uk/mice-changing-medicine>>.

Festing, M. F. W. Inbred Strains of Mice: BALB [online]. 9. duben 1998 [cit. 2011.12-28]. Dostupné z <<http://www.informatics.jax.org/external/festing/mouse/docs/BALB.shtml>>.

Festing, M. F. W. Inbred Strains of Mice: C3H [online]. 9. dubna 1998 [cit. 2011-10-24]. Dostupné z <<http://www.informatics.jax.org/external/festing/mouse/docs/C3H.shtml>>.

Festing, M. F. W. Inbred Strains of Mice: C57BL [online]. 9. dubna 1998 [cit. 2011-10-19]. Dostupné z <<http://www.informatics.jax.org/external/festing/mouse/docs/C57BL.shtml>>.

Festing, M. F. W. Inbred Strains of Mice: DBA [online]. 9. dubna 1998 [cit. 2011-11-19]. Dostupné z <<http://www.informatics.jax.org/external/festing/mouse/docs/DBA.shtml>>.

Festing, M. F. W. Inbred Strains of Mice: NMRI [online]. 9. dubna 1998 [cit. 2011-12-15]. Dostupné z <<http://www.informatics.jax.org/external/festing/mouse/docs/NMRI.shtml>>.

Rusňáková, H., Žáková, A., Vostal K. Vyšetření sér myší BALB/c na přítomnost antiborreliových protilátek metodami ELISA a immunoblotting po imunizaci různými kmeny patogenní *Borrelia afélii* [online]. 2006 [cit. 2011-12-15]. Dostupné z <<http://www.muni.cz/research/publications/638958/>>.

