

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Role fibroblastů ve vývoji myši mléčné žlázy	
Doba trvání projektu pokusů	2020/červen – 2025/květen
Klíčová slova - maximálně 5	Estrální cyklus, fibroblast, mléčná žláza, ovariektomie, signalizace
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
☒	základní výzkum
☐	translační nebo aplikovaný výzkum
☐	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
☐	zachování druhů
☐	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení
Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
Cílem projektu je pochopení mechanismů, které regulují morfogenezi mléčné žlázy. Specificky budou v rámci této studie studovány interakce mezi buňkami mléčného epitelu a stromatu, především fibroblastů, v myši mléčné žláze, role mechanických sil generovaných buňkami v morfogenezi mléčné žlázy a jejich regulace během estrálního cyklu. Nezbytným východním materiálem pro tuto studii jsou primární buňky myši mléčné žlázy, tj. buňky nezměněné kultivací in vitro, a nenahraditelným testem pro ověření naší hypotézy je analýza chování studovaných buněk v jejich normálním prostředí a ověření role testovaných signálních drah ve vývoji myši mléčné žlázy in vivo. Poznání mechanismů regulujících vývoj mléčné žlázy je nezbytným předpokladem pro pochopení mechanismů vzniku nádorů prsu.	
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)	
Tento projekt pokusů objasní mechanismy regulující vývoj mléčné žlázy, jejichž deregulace může vést ke vzniku nádorů prsu. Tím přispěje k odhalení signálních drah, které jsou asociovány s rakovinou prsu, a k navržení vhodných kandidátních molekul pro vývoj nových léčebných postupů. Jelikož stejné mechanismy interakce mezi stromatem a epitelem, jako ty studované v mléčné žláze, jsou často využívány i v jiných typech tkání/orgánů, napomůže tato studie i odhalení univerzálních mechanismů normálního vývoje a kancerogeneze.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Studie bude využívat myši kmenů ICR, <i>Colla2-CreERT</i>, <i>Fsp-Cre</i>, <i>EKAREV</i>, <i>ETV4-GFP</i>, <i>ETV5-RFP</i>, <i>Rosa26mT/mG</i>, <i>R26R-Brainbow2.1</i>, <i>R26R-DTA</i>, <i>Fgf1fl/fl</i>, <i>Fgf2fl/fl</i>, <i>Myh9fl/fl</i>, <i>Myh10fl/fl</i>, <i>K5-CreERT2</i>, <i>K8-CreERT2</i>, <i>K14-CreERT</i>, <i>K5-rtTA</i>, <i>K8-rtTA</i>, <i>K14-rtTA</i> a jejich hybridy vzniklé křížením rodičovských párů/triád. V projektu bude použito do 6000 myši.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Navrhovaná klasifikace závažnosti pokusů je střední: V důsledku pokusu pravděpodobně pocítí pokusná zvířata krátkodobou středně intenzivní bolest nebo dlouhodobou mírnou bolest, utrpení či strach nebo dojde ke středně závažnému zhoršení celkového stavu pokusných zvířat. Opětovné použití zvířat není plánováno, zvířata budou použita jednorázově. Po skončení pokusu budou experimentální zvířata usmrcena cervikální dislokací. Kadavery budou umístěny do kaširovaného mrazicího boxu pro VŽP.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Větvící morfogeneze epitelu mléčné žlázy probíhá v komplexním prostředí stromatu, které zahrnuje mnoho buněčných typů, signálních molekul a extracelulární matrix. Částečně možno toto prostředí simulovat v 3D buněčných kulturách, které byly použity v předchozích experimentech na ověření studované hypotézy. Protože se však dosud nepodařilo plně simulovat komplexní tkáňové prostředí mléčné žlázy v in vitro podmínkách, zůstává pokus na zvířeti hlavním testem hypotézy a nelze jej nahradit alternativním postupem. Mléčná žláza je specifická pro savce, proto pro studium jejího vývoje nelze použít žádnou vývojově nižší formu laboratorních živočichů, než jsou myši.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Effektivního využití co nejmenšího počtu pokusných zvířat bude dosaženo důkladným plánováním pokusů a maximalizací využití tkání pokusných zvířat. Budou použity minimální nezbytné počty zvířat s ohledem na nutnost správného statistického vyhodnocení získaných výsledků.	
Setné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.	
Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.	
V průběhu pokusů budou zohledňována hlediska humánního zacházení s pokusnými zvířaty, zejména s ohledem na umožnění jejich adaptace, klidné zacházení, tichý přístup, návyk na uchopení rukou, používání pomůcek, které nezpůsobí zvířeti strach, bolest a utrpení. Pokusná zvířata budou pravidelně a pozorně monitorována a při příznacích bolesti či utrpení budou zvířata ošetřena či v závažných případech usmrcena (eutanázie cervikální dislokací), aby se zabránilo bolesti a utrpení pokusného zvířete.	