

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ	
Název projektu pokusů	
Mechanismy regulující větvičí morfogenezi mléčné žlázy	
Doba trvání projektu pokusů	08/2018 – 31. 7. 2023
Klíčová slova - maximálně 5	Fibroblast, fibroblastový růstový faktor, mléčná žláza, rakovina prsu, signalizace
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
<input checked="" type="checkbox"/>	základní výzkum
<input type="checkbox"/>	translační nebo aplikovaný výzkum
<input type="checkbox"/>	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
<input type="checkbox"/>	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
<input type="checkbox"/>	zachování druhů
<input type="checkbox"/>	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
<input type="checkbox"/>	trestní řízení a jiné soudní řízení
Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
<p>Signální dráhy, které regulují vývoj mléčné žlázy, jsou využívány nádorovými buňkami během kancerogeneze prsu. Proto je poznání mechanismů regulujících vývoj mléčné žlázy nezbytným předpokladem pro pochopení mechanismů vzniku nádorů prsu a pro vývoj nových léčebných postupů.</p> <p>Vědecká studie má za cíl přispět k pochopení molekulárních mechanismů, které regulují větvičí morfogenezi mléčné žlázy během puberty. Specificky budou v rámci této studie studovány interakce mezi buňkami mléčného epitelu a stromatu, především fibroblastů, v myši mléčné žlázy a jejich regulace signální dráhou fibroblastového růstového faktoru (FGF).</p> <p>Tato studie navazuje na naše předchozí poznatky z 3D buněčných kultur, které ukazují, že mezi buňkami epitelu a fibroblasty probíhá obousměrná signalizace, která reguluje morfogenezi epitelu prostřednictvím parakrinních signálů i remodelace extracelulární matrix. Nezbytným výchozím materiálem pro tuto studii jsou primární buňky myši mléčné žlázy, tj. buňky nezměněné kultivací in vitro, a nenahraditelným hlavním testem pro ověření naší hypotézy je analýza chování studovaných buněk v jejich normálním prostředí. Výsledkem této studie bude zásadní přispění k poznání mechanismů regulujících vývoj mléčné žlázy, jejichž deregulace může vést ke vzniku nádorů prsu, a proto jsou kandidáty na vývoj nových léčebných postupů.</p>	
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)	
<p>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.</p>	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
<p>Studie bude využívat myši kmenů <i>Colla2-Cre</i>, <i>Rosa26^{mT/mG}</i>, <i>Fgfr1^{lox/lox}</i>, <i>Fgfr2^{lox/lox}</i>, <i>Fgfr3^{lox/lox}</i>, a jejich hybridy vzniklé křížením rodičovských párů/triád. Hlavním předmětem projektu budou samice, které budou ve věku 3-10 týdnů (puberta), 3-6 měsíců (dospělost) a 7-24 měsíců (stáří) využívány pro získávání tkáně mléčné žlázy pro analýzy. Samci budou využiti pouze pro sestavování rodičovských párů/triád.</p> <p>V projektu bude použito do 2000 myší.</p>	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
<p>Navrhovaná klasifikace závažnosti pokusů je mírná: V důsledku pokusu pravděpodobně pocítí pokusná zvířata slabou a krátce trvající bolest (po odběru biopsie na genotypizaci). Operace nejsou plánovány. Pro získání tkání budou myši usmrceny cervikální dislokací. U knockout zvířat nedokážeme úplně odhadnout, zda výsledkem nebudou vývojové defekty, které by mohly způsobit bolest či utrpení mutantních myší. Avšak myši budou pravidelně a pozorně monitorovány a při příznacích bolesti či utrpení budou takto postižené myši usmrceny (eutanazie cervikální dislokací), aby se zabránilo bolesti a utrpení pokusného zvířete.</p> <p>Opětovné použití zvířat není plánováno, zvířata budou použita jednorázově. Po skončení pokusu budou experimentální zvířata usmrcena cervikální dislokací. Kadavery budou umístěny do kafilerního mrazicího boxu pro VŽP.</p>	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
<p>Větvičí 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. Jenže i navzdory pokroku v 3D buněčných kulturách se dosud nepodařilo plně simulovat komplexní tkáňové prostředí mléčné žlázy v <i>in vitro</i> podmínkách a z tohoto důvodu zůstává pokus na zvířeti hlavním testem hypotézy a nelze jej nahradit alternativním postupem.</p>	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
<p>Efektivního 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</p>	

statistického vyhodnocení získaných výsledků.

Šetrné 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.

Mléčná žláza je specifická pro savce, proto pro studium jejího vývoje nelze použít žádnou vývojově nižší formu laboratorních živočichů, než jsou myši.

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.