

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569					
Název projektu pokusů					
Nové vysoce selektivní a aktivovatelné sondy pro fluorescenčně navigovanou chirurgii nádorů u myši					
Doba trvání projektu pokusů - v měsících		48			
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾		naváděná chirurgie, polymerní sonda, resekce nádoru, diagnostika, in vivo optické zobrazování			
Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností					
☒	základní výzkum				
☐	translační a aplikovaný výzkum				
☐		kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)			
☐	legislativní účely	jiné zkoušení účinnosti a tolerance			
☐	a běžná výroba	zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie			
☐		běžná výroba			
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat				
☐	zachování druhů				
☐	vyšší vzdělávání				
☐	odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí				
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení				
☐	udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech				
Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb					
Vývoj diagnostického systému pro naváděnou chirurgii založeného na zviditelnění nádoru polymerní sondou s fluorescenční značkou.					
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)					
Přesné chirurgické odstranění nádorové tkáně nádorů hlavy a krku bez nutnosti odebrání okolní zdravé tkáně, které by jinak vedlo k nevratnému poškození tělních struktur.					
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání					
Seznam postupů použitých na zvířatech:					
1) subkutánní aplikace nádorových buněk (<1 minuta) 2) intravenózní aplikace polymerních sond (3 minuty) 3) anestezie intraperitoneálním podáním směsi ketaminu a xylazinu (<1 minuta) 4) v anestezii provedené neinvazivní fluorescenční zobrazování (5 minut) 5) v anestezii odebrání 0,5 ml krve ze srdce (5 minut) a ihned poté usmrcení cervikální dislokací (okamžité) 6) v anestezii chirurgické odstranění nádoru a zašití rány (20 minut)					
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků					
Neočekáváme, že by aplikace polymerních sond způsobila u zvířat nežádoucí účinky. Obdobná polymerní kostra sond se již v minulosti ukázala být biokompatibilní a bez vedlejších účinků u myši. Operace budou malého rozsahu a odstraňovány budou u živých zvířat pouze vždy podkožní nádory – nedojde k zásahu do vnitřních orgánů zvířete. Pro projekt pokusů navrhujeme střední závažnost – myši by během pokusů neměly pocítit značnou bolest, utrpení či strach, ani dlouhodobou středně intenzivní bolest, utrpení či strach. Po skončení pokusu budou zvířata utracena cervikální dislokací a kadavery budou odvezeny k likvidaci specializovanou firmou.					
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu					
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhado- vaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	930			930	
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					

Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - <i>uveďte</i>					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - <i>uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>					
Biodistribuci polymerních sond (a jejich akumulaci v nádoru) a chirurgické metody odstranění nádoru je možné testovat pouze na živých zvířatech (ověřeno v seznamu alternativních metod ECVAM).					
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlete, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).</i>					
Počet 8 myši na jednu skupinu představuje předpokládaný minimální statistický vzorek potřebný k prokázání rozdílu mezi testovanými sondami při variabilitě dat ověřené v minulých experimentech. Další snížení počtu zvířat na skupinu by mohlo vést k falešně negativním výsledkům. Počet skupin odpovídá počtu testovaných látek a potřebných kontrolních skupin. Využití intravitálního zobrazování minimalizuje nutnost usmrcování zvířat pro každý sledovaný časový bod v rámci akumulačních a biodistribučních studií.					
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uveďte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu</i>					
Zvířata budou ponechána k adaptaci na nové prostředí a přivykány na manipulaci. <i>In vivo</i> zobrazování bude provedeno v celkové anestezii. Po chirurgickém odstranění subkutánního nádoru budou myši pravidelně sledovány se zaměřením na jejich chování, vzhled rány a sledování úbytku hmotnosti. Myši, jejichž stav bude vyhodnocen jako neuspokojivý, budou vyřazeny z experimentu a usmrceny cervikální dislokací.					
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
Myš představuje nejběžnější druh laboratorního zvířete, pro který je k dispozici dostatek vhodných experimentálních nádorových linií. Zároveň je možné ji využít díky malé velikosti k celotělnému <i>in vivo</i> zobrazování. Pro experimenty s lidskými nádorovými liniemi je nutné použít imunodeficientní zvíře. Pro tento účel jsme zvolili athymický kmen nu/nu, který je zároveň díky absenci srsti velmi vhodný pro <i>in vivo</i> optické zobrazování.					

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nespecifikovaného savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech