

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569	
Název projektu pokusů	
Vývoj a testování monomodálních a multimodálních kontrastních látek pro preklinické zobrazování na modelech laboratorní myši a laboratorního potkana.	
Doba trvání projektu pokusů - v měsících	2021 – 31.3.2024, max. 46 měsíců
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾	Kontrastní látky, multimodální zobrazování, biodistribuce in-vivo
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
☐	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	
Základní charakterizace nově vyvíjených kontrastních (diagnostických i teranostických) monomodálních a multimodálních kontrastních látek in-vivo, stanovení jejich biodistribuce a funkce ve zdravém i patologickém stavu organismu laboratorního zvířete (myši a potkana).	
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)	
Kontrastní látky slouží ke zviditelnění patologií v organismu na zobrazovacích přístrojích (CT, MRI, MPI, optické zobrazování, PET, SPECT, ultrazvuk s fotoakustikou). V případě prokázané účinnosti kontrastních látek a stanovení akceptovatelných vedlejších účinků slouží preklinické studie jako můstek pro využití v praktické medicíně jako zlepšení metod používaných v současnosti.	
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání	
Injekční aplikace kontrastní látky či nádorových buněk intravenózně (do ocasní žíly) či podkožně – jednorázová aplikace v délce sekund, bez anestezie	
Injekční aplikace kontrastní látky či nádorových buněk intratumorálně či intrakraniálně – jednorázová aplikace v délce až desítek sekund, v celkové anestezii plyným isofluranem	
Snímání na zobrazovacích přístrojích– opakovaná měření v celkové anestezii, v délce až desítek minut	
Pitva post mortem - extrakce zájmových orgánů, statistická měření (relaxometr, autogammacounter, histologie apod)	
Aplikace a měření mohou být kromě školených a vědeckých pracovníků realizovány i studenty (pod dohledem odpovědných pracovníků) jako odborná příprava ke studiu a vlastním absolventským pracem. Tyto aktivity slouží pro získání odborných znalostí a vědeckých zkušeností studentů.	
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků	
Při podání kontrastních látek v optimální dávce se nepředpokládá akutní toxicita vzhledem k předchozím in-vitro testům na buněčných kulturách). Může dojít k zatížení jater s následnou nechutí k jídlu až apatii, což by mělo vymizet po vyloučení látky z organismu. Může nastat imunologická nesnášenlivost látky s následnou alergickou reakcí, což se může projevit oběhovým selháním. Látky budou v krátkém časovém intervalu vyloučeny, dle velikosti sloučeniny, ledvinami či játry z organismu. Nepředpokládáme chronickou toxicitu.	

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu					
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	1400			1400	
Potkan laboratorní (Rattus norvegicus)	100			100	
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					0
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					0
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					0
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte					
Laboratorní zvířata není možné opakovaně využít v jiných projektech, mohlo by tak dojít k vzájemnému ovlivnění výsledků. Zdravá zvířata mohou být po ukončení zobrazování využita pro sledování možných dlouhodobých účinků testovaných kontrastních látek.					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu					
V současné době neexistuje rovnocenný alternativní relevantní systém pro test nových diagnostických (kontrastních) látek v živém organismu (ověřeno v seznamu validovaných alternativních metod ECVAM), proto je nutno použít laboratorní zvířata.					
Omezení používání zvířat - 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).					
Experimenty jsou plánovány tak, aby byl zajištěn minimální počet zvířat pro pilotní ověření funkce a biologické aktivity zkoumané kontrastní látky (skupiny po 3-5 zvířatech v kontrolní i nádorové skupině, maximálně 10 zvířat na experiment). K statistickému vyhodnocení výsledků bude použita zejména analýza rozptylu ANOVA, která umožňuje porovnávání více než dvou vzorků. Co se týče sdílení zvířat s jiným pracovištěm, tento postup v navrhovaném projektu není možný, jelikož se jedná o nově testované látky s možným použitím radioaktivity a o zvířata s nádorovým onemocněním. Mohlo by tak dojít k vzájemnému ovlivnění výsledků.					
Šetrné zacházení se zvířaty - 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					
Experimenty budou prováděny v souladu se zákonem a s ohledem na maximální welfare zvířat. Analgetika nelze u teranostik použít z důvodu možného ovlivnění výsledku pokusu (nepředpokládá se potřeba jejich použití). Během experimentu bude sledována velikost nádorů a zdravotní stav zvířat - v případě neuspokojivého zdravotního stavu zvířete bude pokus ukončen a zvíře bezbolestně usmrceno.					
Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií					
Maximální počet zvířat pro tento pokus je 1 400 dospělých laboratorních myší a 100 dospělých laboratorních potkanů, ve věku 6 týdnů – 6 měsíců, SPF kvalita. Pohlaví laboratorních zvířat závisí na využití nádorové linie či targetované tkáni.					
- Laboratorní myši linie C57BL/6 (600ks), jedná se o nejčastěji využívanou neimunodeficientní linii laboratorní myši. - Laboratorní myši linie Nu-Nu (600ks), jedná se o nejčastěji využívanou imunodeficientní linii laboratorní myši. Dalším důvodem je snadnost využití bezsrsté linie pro zobrazování pomocí UZV a optických metod (odpadá nezbytnost zvířata před měřením holit) - Laboratorní myši linie BALB/C (150ks), běžně využívaná linie laboratorních myší (i bezsrstá variata) - Laboratorní myši linie NOD.Cg (50ks), silně imunodeficientní linie využívaná pro nádorové studie - Laboratorní potkani linie WISTAR (50 ks) - Laboratorní myši linie LEWIS (50 ks)					
Jedná se o kmeny běžně používané při biodistribučních, toxikologických či terapeutických studiích nových testovaných přípravků, které jsou syngenní s navrhovanými nádorovými liniemi (karcinom mléčné žlázy 4T1, solidní lymfom EL-4, epidermální karcinom A431 a glioblastom GBM).					

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