

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Vývoj a testování upkonverzních bimodálních kontrastních látek pro preklinické zobrazování na myších

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

Od 1.1.2022 max. 36 měsíců

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

Upkonverzní nanočástice, bimodální 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 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

Ověření funkce bimodálních kontrastních látek s upkonverzními nanočásticemi in-vivo, stanovení jejich biodistribuce a funkce ve zdravém i patologickém stavu organismu laboratorního zvířete.

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)

Bimodální kontrastní látky slouží ke zviditelnění patologií v organismu na zobrazovacích přístrojích (v tomto případě MRI a optické zobrazování - fluorescence). 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 i.v. do ocasní žíly – jednorázová aplikace v délce sekund

Injekční aplikace nádorových buněk s.c. pod kůži na boku – jednorázová aplikace v délce sekund

Optické zobrazování v anestezii – opakovaná měření v délce minut

Zobrazování magnetickou rezonancí v anestezii – opakovaná měření v délce desítek minut

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků

Nežádoucí účinky, které lze očekávat při testování nových kontrastních látek in-vivo, zahrnují vyšší zatížení až přetížení jater, nechut k jídlu, ztráty na váze vedoucí až k apatii. Pokud budou příznaky trvat déle než několik dní, bude pokus na zvířatech ukončen. Aplikace kontrastní látky může vést k ruptuře cévy v místě aplikace a vytvoření hematomu (minimální bolestivost, hojení v délce několika dní).

Tumor nesoucí myši (s velikostí nádoru do 20 mm) budou po pokusu humánně utraceny, u zdravých myši bude probíhat dlouhodobé pozorování případných změn chování či zdravotního stavu, jejichž výrazná změna by vedla k ukončení testování dané kontrastní látky. Zvířata budou usmrcena při dosažení velikosti nádoru 20mm v jakémkoliv směru. V případě jakékoliv nečekané změny a/nebo zhoršení zdravotního stavu zvířete bude pokus předčasně ukončen.

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)	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 budou 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 myši.	
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, tedy skupiny po maximálně 3 zvířatech v kontrolní i nádorové skupině). Co se týče sdílení zvířat s jiným pracovištěm, tento postup v navrhovaném projektu není možný, jelikož se jedná o nově testované látky, použití 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 a to osobami kvalifikovanými v práci s pokusnými zvířaty. Linie zvířat byly zvoleny jako syngenní s navrhovanými nádorovými liniemi. Analgetika nelze použít z důvodu možného ovlivnění výsledku pokusu. 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	
Pro tento typ experimentu jsou vhodné široce používané a dobře popsání linie experimentálních zvířat Nu-Nu a BALB/C ve věku 6 týdnů až 6 měsíců. Počet zvířat je stanoven pro případ úspěšné systézy a vynikajících in-vitro testů všech testovaných kontrastních látek. Linie karcinomů jsou zvoleny podle sledované tkáně, a to myši melanom B16F10, lidský karcinomy mléčné žlázy 4T1 a/nebo solidní lymfom EL-4.	

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