

20099

Vyplňujte jen bílé kolonky!

Formulář vyplňujte na počítači; kolonky se zvětší automaticky podle množství textu.

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Srovnání vlivu různých dávek lidského rekombinantního tkáňového aktivátoru plazminogenu (rtPA) na rychlost fibrinolýzy u laboratorního potkana

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

25

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

Alteplase, rodent dose, human dose, fibrinolysis

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

Cílem práce je na modelu in vivo fibrinolýzy umělých trombů u potkana, otestovat efekt rozdílných dávek rtPA na její rychlost. Rychlost fibrinolýzy bude prezentována jako změna relativní velikosti rentgenopakního trombu v průběhu aplikace infuze rtPA. Rychlost bude měřena u dvou způsobů aplikace trombů – systémová embolizace – aplikace trombů přes karotidu retrogradně do aorty (minimální riziko exitu, SE model) a aplikace do povodí interní karotidy (MCAO model). Data o fibrinolýze ze SE modelu a MCAO modelu lze zpracovat společně, data z MCAO modelu navíc poskytují informace o hemoragické transformaci

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)

Přínosem projektu je v případě potvrzení stejné efektivity nízké dávky (v humánní medicíně běžně používané) se zvýší translační potenciál experimentu na potkanech nebo se potvrdí nutnost používat vysokou (rodents) dávku.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání

Inhalační úvod do anestezie – u 21 potkanů- 2x (MCAO), inj anestezie 2x, doba trvání 120 min/ 1 anestezie, 2x chirurgický zákrok. Ve skupině SE – 21 potkanů jsou uvedené zákroky provedené pouze 1x, aplikace analgetik a atb. clony inj. u skupiny MCAO 1x.

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

Bolestivé zákroky jsou vedeny v celkové anestezii. Po prvním chirurgickém zákroku skupiny MCAO jsou podána analgetika. Experiment je zakončen usmrcením zvířete bez nabytí vědomí.

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
Potkan laboratorní (Rattus norvegicus)	42	21		21	
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					

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 - <i>uved'te</i>	
-	
Uplatňování 3R	
Nahrazení používání zvířat - <i>uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>	
Vzhledem k charakteru cílů projektu nelze projekt nahradit alternativou in vitro ani jinými alternativními metodami (při respektování doporučení EURL 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 zvířat je vzhledem k náročnému charakteru experimentu minimální a další redukce by vedla k nesignifikantním výsledkům. Jde o pilotní projekt deskriptivního charakteru. Vzhledem k unikátnosti modelu skutečné přímé vizualizace trombolýzy (rozdíl oproti trombolýze sledované mikroCT, ta je postprocesingová) značeného vmetku nelze standardně vypočítat sample size. Projekt slouží právě k získání základních dat pro další experimenty. Empiricky víme, že četnost sledovaných trombolýz (vmetky zobrazitelné v 50 mm zobrazovacím poli mikrofluoroskopu) v SE modelu je 1,8 při aplikaci 3 vmetků na jedno zvíře - tj. multiplikace = redukce použitých zvířat tj. pro jednu dávku dostáváme počet: SE model $6 \cdot 1,8 + \text{MCAO (min 3 - max 6)} = \text{cca 13 - 16 vmetku}$ jejichž trombolýza je sledována. U modelu MCAO je 50% pravděpodobnost selhání modelu (neúspěšná aplikace do MCA) ale 90% úspěšnost aplikace do ICA. Předpokládaný počet sledovaných trombolýz je pro stanovení základních parametrů trombolýzy různých dávek rtPA dostatečný.	
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uved'te 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>	
Zákroky způsobující bolest nebo vyžadující imobilitu zvířete probíhají v celkové anestezii. Imobilizace zvířete je prováděna pomocí isofluranové inhalační anestezie. Chirurgické zákroky budou prováděny za použití injekční anestezie diazepam + ketamin + xylazin v 1. fázi modelu MCAO a v alfachlozalozové anestezii v 2. fázi MCAO a v modelu SE. Pooperační analgezie bude zabezpečena aplikací kyseliny tolfenamové (Tolfedine 0,1 ml/kg). Manipulace se zvířaty bude prováděna v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s vyhláškou č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat.	
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>	
Vzhledem k cíli projektu je modelovým druhem zvířete potkan, samec, outbrední kmen Wistar. Celkem bude do skupin zařazeno 42 potkanů. Pro model MCAO bude zařazeno 6 jedinců ve skupině ve věku vyšším než 6 měsíců, počet skupin je plánován na 3 skupiny (0,9 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg). Pro model systémové embolie (SE) bude zařazeno 6 jedinců ve skupině v hmotnostní kategorii 120-150 g, počet skupin je plánován na 3 skupiny (0,9 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg). Kontrolní skupina 3 (MCAO) (400-500 g) + 3 (SE) (120-150 g) bez léčby rtPA.	

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