

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Ocena depozycji mikrosfer z Itr-90 (mikrosfery ceramiczne polatom) po ich dowątrobowym, dotętnicznym podaniu w modelu zwierzęcym**

2. Czas trwania projektu: 01.06.2018 r. - 30.12.2022 r.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): mikrosfery, radioembolizacja, brachyterapia, izotop promieniotwórczy, guz wątroby

4. Cel projektu (art. 3 ustawy): B. Badania translacyjne lub stosowane

## 5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Celem projektu jest ocena stopnia gromadzenia nowych mikrosfer ceramicznych w zdrowej oraz zmienionej chorobowo wątrobie. W planowanych badaniach wykorzystane będą polskie mikrosfery ceramicznych zol-żel zawierające izotop Itr-90. Izotop Itr-90, z powodzeniem wykorzystywany w leczeniu guzów wątroby, emituje promieniowanie beta o wysokiej energii, krótkim czasem połowicznego rozpadu oraz małym, 2-3mm zasięgu działania. Przed rozpoczęciem wykorzystywania nowej technologii podawania substancji terapeutycznej do zastosowania medycznego niezbędne jest przeprowadzenie badań na zwierzętach. Projekt zakłada wprowadzenie nowej technologii radioembolizacji, będącej odmianą brachyterapii, polegającej na dotętnicznym podaniu materiału embolizacyjnego zawierającego izotop promieniotwórczy do zmian ogniskowych wątroby w celu ich selektywnego zniszczenia. Radioembolizacja wymaga maksymalnej indywidualizacji leczenia, z doбором dawki radioaktywnych mikrosfer zapewniającej skuteczność i bezpieczeństwo terapii. W tym celu niezbędne jest przeprowadzenie prac badających nowe algorytmy wyliczania aktywności mikrosfer potrzebnych do zabiegu. Główny problem stanowi wczesna ocena efektów zabiegu i prognozowanie kumulacji mikrosfer z Itr-90 w zmianach chorobowych wątroby jeszcze na etapie planowania zabiegu, niezbędne do poprawienia efektywności leczenia. Takiemu zapotrzebowaniu wychodzą naprzeciw nowoczesne metody szybkiej prognozy dozymetrycznej, które pozwalają na personalizację leczenia i poprawę uzyskiwanych wyników. W planowanych badaniach do oceny dozymetrycznej dawki pochłoniętej Itr-90 wykorzystywane będą najnowocześniejsze narzędzia nieinwazyjnej diagnostyki obrazowej: PET i SPECT/CT. Dotychczas stosowane metody dozymetrii wykorzystywane do oceny rozmieszczenia mikrosfer z Itr-90 są niewystarczające i nie pozwalają na rutynową, bezpośrednią, ilościową ocenę dawki pochłoniętej Itr-90 zgromadzonej w zdrowym i zmienionym chorobowo obszarze wątroby. Brakuje również dedykowanego oprogramowania umożliwiającego szybkie i precyzyjne pomiary parametrów potrzebnych do wyliczenia dawki mikrosfer. Przeprowadzone badania będą punktem wyjścia do dalszych prac mających na celu wprowadzenie mikrosfer do zastosowania medycznego.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Planowane doświadczenie zakłada przeprowadzenie zabiegu dotętniczej radioembolizacji zmian ogniskowych w wątrobie z użyciem mikrosfer ceramicznych z Itr-90 u świń. Wybór tego gatunku, jako modelu doświadczalnego podyktowany jest doświadczeniem operatorów oraz podobieństwem anatomicznym i fizjologicznym, zwłaszcza w odniesieniu do ukrwienia układu żołądkowo-jelitowego ze szczególnym uwzględnieniem analogii w unaczynieniu wątroby u świni i człowieka. Projekt zakłada ocenę skuteczności procedury, która ma być docelowo wykorzystywana u ludzi, dlatego zostanie ona przeprowadzona przez lekarzy weterynarii w konsultacji z radiologami zabiegowymi z odtworzeniem rzeczywistych warunków zabiegu.

Doświadczeniem objętych zostanie 30 osobników, podzielonych na dwie równoliczne grupy. Grupa I – 15 losowo wybranych świń ze zdrową wątrobą oraz grupa II - 15 wyselekcjonowanych świń mających zmiany ogniskowe w wątrobie.

Dla planowanej procedury, jako parametr mierzalny wykorzystany do kalkulacji minimalnej wielkości grupy doświadczalnej wybrano oczekiwany odsetek gromadzenia się zastosowanych mikrosfer w wątrobie zmienionej w stosunku do modelu in vitro w badania pilotażowych oraz zastosowano wzór:

$$n \geq [(t_y + t_{1-\alpha/2})^2 * s^2] / (\mu_1 - \mu_0)^2$$

gdzie:  $t_y$  - dla standardowego rozkładu normalnego wynosi 0,68;

$t_{1-\alpha/2}$  - dla standardowego rozkładu normalnego (przy założonym błędzie  $\alpha = 0,05$ ) wynosi 1,96;

$s$  - szacowana wariancja (12%);

$\mu_0$  – oczekiwana średnia kumulacja mikrosfer na modelu in vivo (78,81%);

$\mu_1$  – średnia kumulacja mikrosfer na modelu in vitro (94,13%);

$$n \geq [(0,68 + 1,96)^2 * 12^2] / (94,13 - 78,81)^2;$$

$$n \geq 14,36$$

Ustalona liczebność grup wynika z potrzeby przeprowadzenia wiarygodnej analizy statystycznej przy minimalnym wykorzystaniu zwierząt zgodnie z zasadą 3R.

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Na podstawie istniejących danych literaturowych stwierdzono istotne luki w aktualnej wiedzy, a dostępne pojedyncze publikacje z tego zakresu prezentują wyniki badań przeprowadzonych na małej liczbie zwierząt innych gatunków niż świnia domowa. Podczas przygotowywania projektu badawczego została sprawdzona aktualne, dostępne publikacje w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PUBMED, ScienceDirect, Web of Science (JCR), Ebsco, Agricole z wykorzystaniem słów kluczowych: sow, pig, liver tumor, Intra-arterial radioembolization, microspher, ceramic Yttrium-90.

Świnie ze względu na podobieństwo anatomii i fizjologii traktowane są jako modelowe zwierzęta

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

w wielu doświadczeniach, odnoszących się do funkcji narządów, proponowanych metod terapii, szczególnie w takich chorobach jak choroby onkologiczne oraz możliwością aplikacji wyników w medycynie ludzkiej. Uzyskane wyniki pozwolą na podjęcie dalszych prac nad zastosowaniem nowych mikrosfer ceramicznych z Itr-90 w leczeniu zmian wątroby oraz wprowadzenie nowych, prostszych w użyciu, metod dozymetrycznej oceny zabiegu radioembolizacji, co w bezpośredni sposób przełoży się na poprawę bezpieczeństwa i skuteczności zabiegów. Aktualnie, taka ocena możliwa jest jedynie w wysoce wyspecjalizowanych, nielicznych ośrodkach uniwersyteckich.

#### Zasada zastąpienia

Dotętnicza radioembolizacja zmian wątroby z użyciem mikrosfer ceramicznych z Itr-90, w optymalnym modelu badawczym, może być wykonana jedynie na żywych zwierzętach tego gatunku. Nie można zastosować alternatywnych metod badawczych zapewniających osiągnięcie celów bez wykorzystania żywych zwierząt. Wstępne badania pilotażowe oceniające szczegółowo ten rodzaj mikrosfer potwierdziły konieczność przeprowadzenia doświadczeń w warunkach in vivo na weryfikowalnym modelu doświadczalnym.

#### Zasada ograniczenia

Badania zostały zaplanowane na minimalnej liczbie zwierząt ( $n=30$ ) zarówno w grupie kontrolnej ( $n=15$ ) jak i w grupie doświadczalnej ( $n=15$ ). Liczba zwierząt wykorzystanych w procedurze została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia jej celu. Jest to minimalna liczebność próby dla modelu świni domowej, pozwalająca na uzyskanie maksymalnego błędu oszacowania (na poziomie ufności  $1-\alpha$ ) w zakresie akceptowalnym dla warunków doświadczenia, badanych parametrów biologicznych i szacowania trafności pomiarów w możliwie wąskim przedziale ufności. Prawidłowości statystyczne zostały przedstawione w pkt.6 streszczenia.

#### Zasada udoskonalenia

Przed rozpoczęciem procedury zwierzęta będą utrzymywane w warunkach środowiskowych odpowiednich dla ich gatunku. Przedstawiony sposób utrzymania zwierząt zapewnia ich dobrostan (zgodność z wytycznymi dotyczącymi minimalnych wymagań w zakresie opieki nad zwierzętami utrzymywanymi w ośrodku), a stała opieka lekarsko-weterynaryjna zapewnia im bezpieczeństwo w trakcie całego doświadczenia.

Zastosowane metody badawcze, w tym dokładna diagnostyka przedoperacyjna, zostały wybrane tak, aby ograniczały do minimum ból, cierpienie, dystres lub możliwość trwałego uszkodzenia organizmu zwierząt.

Źródło: [1] [2] [3] [4] [5] [6] [7] [8] [9] [10] [11] [12] [13] [14] [15] [16] [17] [18] [19] [20] [21] [22] [23] [24] [25] [26] [27] [28] [29] [30] [31] [32] [33] [34] [35] [36] [37] [38] [39] [40] [41] [42] [43] [44] [45] [46] [47] [48] [49] [50] [51] [52] [53] [54] [55] [56] [57] [58] [59] [60] [61] [62] [63] [64] [65] [66] [67] [68] [69] [70] [71] [72] [73] [74] [75] [76] [77] [78] [79] [80] [81] [82] [83] [84] [85] [86] [87] [88] [89] [90] [91] [92] [93] [94] [95] [96] [97] [98] [99] [100] [101] [102] [103] [104] [105] [106] [107] [108] [109] [110] [111] [112] [113] [114] [115] [116] [117] [118] [119] [120] [121] [122] [123] [124] [125] [126] [127] [128] [129] [130] [131] [132] [133] [134] [135] [136] [137] [138] [139] [140] [141] [142] [143] [144] [145] [146] [147] [148] [149] [150] [151] [152] [153] [154] [155] [156] [157] [158] [159] [160] [161] [162] [163] [164] [165] [166] [167] [168] [169] [170] [171] [172] [173] [174] [175] [176] [177] [178] [179] [180] [181] [182] [183] [184] [185] [186] [187] [188] [189] [190] [191] [192] [193] [194] [195] [196] [197] [198] [199] [200] [201] [202] [203] [204] [205] [206] [207] [208] [209] [210] [211] [212] [213] [214] [215] [216] [217] [218] [219] [220] [221] [222] [223] [224] [225] [226] [227] [228] [229] [230] [231] [232] [233] [234] [235] [236] [237] [238] [239] [240] [241] [242] [243] [244] [245] [246] [247] [248] [249] [250] [251] [252] [253] [254] [255] [256] [257] [258] [259] [260] [261] [262] [263] [264] [265] [266] [267] [268] [269] [270] [271] [272] [273] [274] [275] [276] [277] [278] [279] [280] [281] [282] [283] [284] [285] [286] [287] [288] [289] [290] [291] [292] [293] [294] [295] [296] [297] [298] [299] [300] [301] [302] [303] [304] [305] [306] [307] [308] [309] [310] [311] [312] [313] [314] [315] [316] [317] [318] [319] [320] [321] [322] [323] [324] [325] [326] [327] [328] [329] [330] [331] [332] [333] [334] [335] [336] [337] [338] [339] [340] [341] [342] [343] [344] [345] [346] [347] [348] [349] [350] [351] [352] [353] [354] [355] [356] [357] [358] [359] [360] [361] [362] [363] [364] [365] [366] [367] [368] [369] [370] [371] [372] [373] [374] [375] [376] [377] [378] [379] [380] [381] [382] [383] [384] [385] [386] [387] [388] [389] [390] [391] [392] [393] [394] [395] [396] [397] [398] [399] [400] [401] [402] [403] [404] [405] [406] [407] [408] [409] [410] [411] [412] [413] [414] [415] [416] [417] [418] [419] [420] [421] [422] [423] [424] [425] [426] [427] [428] [429] [430] [431] [432] [433] [434] [435] [436] [437] [438] [439] [440] [441] [442] [443] [444] [445] [446] [447] [448] [449] [450] [451] [452] [453] [454] [455] [456] [457] [458] [459] [460] [461] [462] [463] [464] [465] [466] [467] [468] [469] [470] [471] [472] [473] [474] [475] [476] [477] [478] [479] [480] [481] [482] [483] [484] [485] [486] [487] [488] [489] [490] [491] [492] [493] [494] [495] [496] [497] [498] [499] [500] [501] [502] [503] [504] [505] [506] [507] [508] [509] [510] [511] [512] [513] [514] [515] [516] [517] [518] [519] [520] [521] [522] [523] [524] [525] [526] [527] [528] [529] [530] [531] [532] [533] [534] [535] [536] [537] [538] [539] [540] [541] [542] [543] [544] [545] [546] [547] [548] [549] [550] [551] [552] [553] [554] [555] [556] [557] [558] [559] [560] [561] [562] [563] [564] [565] [566] [567] [568] [569] [570] [571] [572] [573] [574] [575] [576] [577] [578] [579] [580] [581] [582] [583] [584] [585] [586] [587] [588] [589] [590] [591] [592] [593] [594] [595] [596] [597] [598] [599] [600] [601] [602] [603] [604] [605] [606] [607] [608] [609] [610] [611] [612] [613] [614] [615] [616] [617] [618] [619] [620] [621] [622] [623] [624] [625] [626] [627] [628] [629] [630] [631] [632] [633] [634] [635] [636] [637] [638] [639] [640] [641] [642] [643] [644] [645] [646] [647] [648] [649] [650] [651] [652] [653] [654] [655] [656] [657] [658] [659] [660] [661] [662] [663] [664] [665] [666] [667] [668] [669] [670] [671] [672] [673] [674] [675] [676] [677] [678] [679] [680] [681] [682] [683] [684] [685] [686] [687] [688] [689] [690] [691] [692] [693] [694] [695] [696] [697] [698] [699] [700] [701] [702] [703] [704] [705] [706] [707] [708] [709] [710] [711] [712] [713] [714] [715] [716] [717] [718] [719] [720] [721] [722] [723] [724] [725] [726] [727] [728] [729] [730] [731] [732] [733] [734] [735] [736] [737] [738] [739] [740] [741] [742] [743] [744] [745] [746] [747] [748] [749] [750] [751] [752] [753] [754] [755] [756] [757] [758] [759] [760] [761] [762] [763] [764] [765] [766] [767] [768] [769] [770] [771] [772] [773] [774] [775] [776] [777] [778] [779] [780] [781] [782] [783] [784] [785] [786] [787] [788] [789] [790] [791] [792] [793] [794] [795] [796] [797] [798] [799] [800] [801] [802] [803] [804] [805] [806] [807] [808] [809] [810] [811] [812] [813] [814] [815] [816] [817] [818] [819] [820] [821] [822] [823] [824] [825] [826] [827] [828] [829] [830] [831] [832] [833] [834] [835] [836] [837] [838] [839] [840] [841] [842] [843] [844] [845] [846] [847] [848] [849] [850] [851] [852] [853] [854] [855] [856] [857] [858] [859] [860] [861] [862] [863] [864] [865] [866] [867] [868] [869] [870] [871] [872] [873] [874] [875] [876] [877] [878] [879] [880] [881] [882] [883] [884] [885] [886] [887] [888] [889] [890] [891] [892] [893] [894] [895] [896] [897] [898] [899] [900] [901] [902] [903] [904] [905] [906] [907] [908] [909] [910] [911] [912] [913] [914] [915] [916] [917] [918] [919] [920] [921] [922] [923] [924] [925] [926] [927] [928] [929] [930] [931] [932] [933] [934] [935] [936] [937] [938] [939] [940] [941] [942] [943] [944] [945] [946] [947] [948] [949] [950] [951] [952] [953] [954] [955] [956] [957] [958] [959] [960] [961] [962] [963] [964] [965] [966] [967] [968] [969] [970] [971] [972] [973] [974] [975] [976] [977] [978] [979] [980] [981] [982] [983] [984] [985] [986] [987] [988] [989] [990] [991] [992] [993] [994] [995] [996] [997] [998] [999] [1000] [1001] [1002] [1003] [1004] [1005] [1006] [1007] [1008] [1009] [1010] [1011] [1012] [1013] [1014] [1015] [1016] [1017] [1018] [1019] [1020] [1021] [1022] [1023] [1024] [1025] [1026] [1027] [1028] [1029] [1030] [1031] [1032] [1033] [1034] [1035] [1036] [1037] [1038] [1039] [1040] [1041] [1042] [1043] [1044] [1045] [1046] [1047] [1048] [1049] [1050] [1051] [1052] [1053] [1054] [1055] [1056] [1057] [1058] [1059] [1060] [1061] [1062] [1063] [1064] [1065] [1066] [1067] [1068] [1069] [1070] [1071] [1072] [1073] [1074] [1075] [1076] [1077] [1078] [1079] [1080] [1081] [1082] [1083] [1084] [1085] [1086] [1087] [1088] [1089] [1090] [1091] [1092] [1093] [1094] [1095] [1096] [1097] [1098] [1099] [1100] [1101] [1102] [1103] [1104] [1105] [1106] [1107] [1108] [1109] [1110] [1111] [1112] [1113] [1114] [1115] [1116] [1117] [1118] [1119] [1120] [1121] [1122] [1123] [1124] [1125] [1126] [1127] [1128] [1129] [1130] [1131] [1132] [1133] [1134] [1135] [1136] [1137] [1138] [1139] [1140] [1141] [1142] [1143] [1144] [1145] [1146] [1147] [1148] [1149] [1150] [1151] [1152] [1153] [1154] [1155] [1156] [1157] [1158] [1159] [1160] [1161] [1162] [1163] [1164] [1165] [1166] [1167] [1168] [1169] [1170] [1171] [1172] [1173] [1174] [1175] [1176] [1177] [1178] [1179] [1180] [1181] [1182] [1183] [1184] [1185] [1186] [1187] [1188] [1189] [1190] [1191] [1192] [1193] [1194] [1195] [1196] [1197] [1198] [1199] [1200] [1201] [1202] [1203] [1204] [1205] [1206] [1207] [1208] [1209] [1210] [1211] [1212] [1213] [1214] [1215] [1216] [1217] [1218] [1219] [1220] [1221] [1222] [1223] [1224] [1225] [1226] [1227] [1228] [1229] [1230] [1231] [1232] [1233] [1234] [1235] [1236] [1237] [1238] [1239] [1240] [1241] [1242] [1243] [1244] [1245] [1246] [1247] [1248] [1249] [1250] [1251] [1252] [1253] [1254] [1255] [1256] [1257] [1258] [1259] [1260] [1261] [1262] [1263] [1264] [1265] [1266] [1267] [1268] [1269] [1270] [1271] [1272] [1273] [1274] [1275] [1276] [1277] [1278] [1279] [1280] [1281] [1282] [1283] [1284] [1285] [1286] [1287] [1288] [1289] [1290] [1291] [1292] [1293] [1294] [1295] [1296] [1297] [1298] [1299] [1300] [1301] [1302] [1303] [1304] [1305] [1306] [1307] [1308] [1309] [1310] [1311] [1312] [1313] [1314] [1315] [1316] [1317] [1318] [1319] [1320] [1321] [1322] [1323] [1324] [1325] [1326] [1327] [1328] [1329] [1330] [1331] [1332] [1333] [1334] [1335] [1336] [1337] [1338] [1339] [1340] [1341] [1342] [1343] [1344] [1345] [1346] [1347] [1348] [1349] [1350] [1351] [1352] [1353] [1354] [1355] [1356] [1357] [1358] [1359] [1360] [1361] [1362] [1363] [1364] [1365] [1366] [1367] [1368] [1369] [1370] [1371] [1372] [1373] [1374] [1375] [1376] [1377] [1378] [1379] [1380] [1381] [1382] [1383] [1384] [1385] [1386] [1387] [1388] [1389] [1390] [1391] [1392] [1393] [1394] [1395] [1396] [1397] [1398] [1399] [1400] [1401] [1402] [1403] [1404] [1405] [1406] [1407] [1408] [1409] [1410] [1411] [1412] [1413] [1414] [1415] [1416] [1417] [1418] [1419] [1420] [1421] [1422] [1423] [1424] [1425] [1426] [1427] [1428] [1429] [1430] [1431] [1432] [1433] [1434] [1435] [1436] [1437] [1438] [1439] [1440] [1441] [1442] [1443] [1444] [1445] [1446] [1447] [1448] [1449] [1450] [1451] [1452] [1453] [1454] [1455] [1456] [1457] [1458] [1459] [1460] [1461] [1462] [1463] [1464] [1465] [1466] [1467] [1468] [1469] [1470] [1471] [1472] [1473] [1474] [1475] [1476] [1477] [1478] [1479] [1480] [1481] [1482] [1483] [1484] [1485] [1486] [1487] [1488] [1489] [1490] [1491] [1492] [1493] [1494] [1495] [1496] [1497] [1498] [1499] [1500] [1501] [1502] [1503] [1504] [1505] [1506] [1507] [1508] [1509] [1510] [1511] [1512] [1513] [1514] [1515] [1516] [1517] [1518] [1519] [1520] [1521] [1522] [1523] [1524] [1525] [1526] [1527] [1528] [1529] [1530] [1531] [1532] [1533] [1534] [1535] [1536] [1537] [1538] [1539] [1540] [1541] [1542] [1543] [1544] [1545] [1546] [1547] [1548] [1549] [1550] [1551] [1552] [1553] [1554] [1555] [1556] [1557] [1558] [1559] [1560] [1561] [1562] [1563] [1564] [1565] [1566] [1567] [1568] [1569] [1570] [1571] [1572] [1573] [1574] [1575] [1576] [1577] [1578] [1579] [1580] [1581] [1582] [1583] [1584] [1585] [1586] [1587] [1588] [1589] [1590] [1591] [1592] [1593] [1594] [1595] [1596] [1597] [1598] [1599] [1600] [1601] [1602] [1603] [1604] [1605] [1606] [1607] [1608] [1609] [1610] [1611] [1612] [1613] [1614] [1615] [1616] [1617] [1618] [1619] [1620] [1621] [1622] [1623] [1624] [1625] [1626] [1627] [1628] [1629] [1630] [1631] [1632] [1633] [1634] [1635] [1636] [1637] [1638] [1639] [1640] [1641] [1642] [1643] [1644] [1645] [1646] [1647] [1648] [1649] [1650] [1651] [1652] [1653] [1654] [1655] [1656] [1657] [1658] [1659] [1660] [1661] [1662] [1663] [1664] [1665] [1666] [1667] [1668] [1669] [1670] [1671] [1672] [1673] [1674] [1675] [1676] [1677] [1678] [1679] [1680] [1681] [1682] [1683] [1684] [1685] [1686] [1687] [1688] [1689] [1690] [1691] [1692] [1693] [1694] [1695] [1696] [1697] [1698] [1699] [1700] [1701] [1702] [1703] [1704] [1705] [1706] [1707] [1708] [1709] [1710] [1711] [1712] [1713] [1714] [1715] [1716] [1717] [1718] [1719] [1720] [1721] [1722] [1723] [1724] [1725] [1726] [1727] [1728] [1729] [1730] [1731] [1732] [1733] [1734] [1735] [1736] [1737] [1738] [1739] [1740] [1741] [1742] [1743] [1744] [1745] [1746] [1747] [1748] [1749] [1750] [1751] [1752] [1753] [1754] [1755] [1756] [1757] [1758] [1759] [1760] [1761] [1762] [1763] [1764] [1765] [1766] [1767] [1768] [1769] [1770] [1771] [1772] [1773] [1774] [1775] [1776] [1777] [1778] [1779] [1780] [1781] [1782] [1783] [1784] [1785] [1786] [1787] [1788] [1789] [1790] [1791] [1792] [1793] [1794] [1795] [1796] [1797] [1798] [1799] [1800] [1801] [1802] [1803] [1804] [1805] [1806] [1807] [1808] [1809] [1810] [1811] [1812] [1813] [1814] [1815] [1816] [1817] [1818] [1819] [1820] [1821] [1822] [1823] [1824] [1825] [1826] [1827] [1828] [1829] [1830] [1831] [1832] [1833] [1834] [1835] [1836] [1837] [1838] [1839] [1840] [1841] [1842] [1843] [1844] [1845] [1846] [1847] [1848] [1849] [1850] [1851] [1852] [1853] [1854] [1855] [1856] [1857] [1858] [1859] [1860] [1861] [1862] [1863] [1864] [1865] [1866] [1867] [1868] [1869] [1870] [1871] [1872] [1873] [1874] [1875] [1876] [1877] [1878] [1879] [1880] [1881] [1882] [1883] [1884] [1885] [1886] [1887] [1888] [1889] [1890] [1891] [1892] [1893] [1894] [1895] [1896] [1897] [1898] [1899] [1900] [1901] [1902] [1903] [1904] [1905] [1906] [1907] [1908] [1909] [1910] [1911] [1912] [1913] [1914] [1915] [1916] [1917] [1918] [1919] [1920] [1921] [1922] [1923] [1924] [1925] [1926] [1927] [1928] [1929] [1930] [1931] [1932] [1933] [1934] [1935] [1936] [1937] [1938] [1939] [1940] [1941] [1942] [1943] [1944] [1945] [1946] [1947] [1948] [1949] [1950] [1951] [1952] [1953] [1954] [1955] [1956] [1957] [1958] [1959] [1960] [1961] [1962] [1963] [1964] [1965] [1966] [1967] [1968] [1969] [1970] [1971] [1972] [1973] [1974] [1975] [1976] [1977] [1978] [1979] [1980] [1981] [1982] [1983] [1984] [1985] [1986] [1987] [1988] [1989] [1990] [1991] [1992] [1993] [1994] [1995] [1996] [1997] [1998] [1999] [2000] [2001] [2002] [2003] [2004] [2005] [2006] [2007] [2008] [2009] [2010] [2011] [2012] [2013] [2014] [2015] [2016] [2017] [2018] [2019] [2020] [2021] [2022] [2023] [2024] [2025] [2026] [2027] [2028] [2029] [2030] [2031] [2032] [2033] [2034] [2035] [2036] [2037] [2038] [2039] [2040] [2041] [2042] [2043] [2044] [2045] [2046] [2047] [2048] [2049] [2050] [2051] [2052] [2053] [2054] [2055] [2056] [2057] [2058] [2059] [2060] [2061] [2062] [2063] [2064] [2065] [2066] [2067] [2068] [2069] [2070] [2071] [2072] [2073] [2074] [2075] [2076] [2077] [2078] [2079] [2080] [2081] [2082] [2083] [2084] [2085] [2086] [2087] [2088] [2089] [2090] [20