

NETECHNICKÉ SHRNU TÍ PROJEKTU POKUSŮ 86/2019

Název projektu pokusů

In vivo testování bezpečnosti a diferenciac e neurálních prekursorů odvozených z lidských indukovaných pluripotentních kmenových buněk (iPSc).

Doba trvání projektu pokusů 5 měsíců,

Klíčová slova - maximálně 5 miniprase, iPSc, amyotrofická laterální skleróza (ALS)

Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka

x	základní výzkum
x	translační nebo aplikovaný výzkum
x	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
	zachování druhů
x	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
	trestní řízení a jiné soudní řízení

Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

1. Transplantovat nově vytvořené lidské neurální prekuzory do míchy imunosuprimovaného prasete za účelem in vivo diferenciac e těchto prekuzorů na neurony. Transplantovat se budou prekuzory odvozené ze zdravých dárců a z pacientů s amyotrofickou laterální sklerózou (ALS).
2. Testování bezpečnosti nově vytvořených prekuzorů odvozených z iPSc buněk po transplantaci do míchy miniprasete.

Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)

Vývoj protokolu pro přípravu a následné testování takto vytvořených terapeutických buněk zvýší bezpečnost v klinických podmínkách.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Budou použiti jedinci obou pohlaví ve věku 2-24 měsíců, intaktní zvířata, 4 ks na celou dobu trvání projektu

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Míra závažnosti je střední z důvodu chirurgického výkonu - laminektomie a transplantace neurálních prekuzorů do míchy s imunosupresí zvířat (1-3 měsíce). Možný je případný výskyt nádorů. Zvířata budou usmrcena za účelem získání tkání pro molekulárně biologické a histologické analýzy.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Neexistuje alternativní metoda bez použití zvířecích modelů pro testování buněčné terapie a in vivo diferenciac e nebo tvorby nových nádorů, která by napodobila komplexnost nebo složitost zvířecího organismu.

Omezení používání zvířat: Vysvětlíte, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

Počet experimentálních zvířat v jednotlivých skupinách (1-3ks) je nezbytný pro možnou variabilní odpověď jedinců na terapii nebo transplantační zákrok.

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlíte volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.

Vysvětlíte obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.

Miniprasata po transplantaci buněk do míchy bez problémů přijímají krmivo a přibírají na tělesné hmotnosti. Jsou držena na hluboké podestýlce. Zvířata bez větších problémů přežívají několik měsíců. V předchozích experimentech jsme také optimalizovali dávkování imunosupresivních látek (takrolimus, mykofenolát mofetil, dexametazon) miniaturním prasatům a tím jsou omezeny jejich nežádoucí vedlejší účinky (ztráta hmotnosti, nechutenství, poškození ledvin, srdce a jater) na minimum. Při jakémkoliv zhoršení zdravotního stavu budou zvířatům sniženy dávky imunosupresiv nebo zcela odpojena od imunosupresiv. V nevyhnutných případech budou bezodkladně utracena celotělovou perfuzí ledovým PBS. Chirurgické zákroky budou prováděny v celkové anestezii.