

NETECHNICKÉ SHRNU TÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Bezpečnost a účinnost alogenních mezenchymových kmenových buněk izolovaných z pupečnickové tkáně v reparaci defektu chrupavky kolene: preklinická studie na modelu zvířete.

Doba trvání projektu pokusů Projekt je plánován na 4 roky. Zahájení se předpokládá v okamžiku nabytí právní moci rozhodnutí o schválení projektu pokusů. Ukončení celého projektu se předpokládá k 31.12. 2023 v případě opětovného udělení oprávnění k používání pokusných zvířat.

Klíčová slova - *maximálně 5* Regenerace kloubní chrupavky, kmenové buňky, preklinická studie

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

	základní výzkum
x	translační nebo aplikovaný výzkum
	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
	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
	trestní řízení a jiné soudní řízení

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

Předkládaný projekt se bude zabývat preklinickým stanovením bezpečnosti a účinnosti alogenních mezenchymálních kmenových buněk izolovaných z pupečnickové tkáně v reparaci defektu kloubní chrupavky kolene u prasete, s porovnáním bezpečnosti a účinnosti transplantace alogenních a autologních MSC (mezenchymálních kmenových buněk) izolovaných z pupečnicku (Whartonův rosol – WJ) a z kostní dřene (BM) prasete. Dále bude ověřena bezpečnost WJ-MSC izolovaných z lidských pupečnicků xenogenně transplantovaných do defektu kloubní chrupavky prasete.

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)

Výstupem projektu bude zavedení postupu přípravy lidských pupečnickových MSCs v podmínkách správné klinické praxe a navržení nové bezpečné a účinné léčebné metodiky využití alogenních kmenových buněk na biokompatibilním nosiči pro defekty chrupavky v humánní medicíně.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Miniaturní prase o hmotnosti 40-45 kg a věku cca 9 měsíců a starších v počtu 48, pohlaví samec kastrát i samice. Využití prasat, dospělých jedinců s ukončeným vývojem kostry, je zásadní pro ověření bezpečnosti a účinnosti léčebného postupu na zvířecím modelu nejlépe podobnému člověku.

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

Míra závažnosti je střední. Všechna zvířata zařazená do pokusu podstoupí artrotomii kolenního kloubu, kdy budou v zátěžové zóně chrupavky vytvořeny max. 2 kruhové defekty o průměru 8 mm. Zárok bude proveden v celkové anestézii. Zvířata v prvních dnech po operaci pravděpodobně pocítí bolest, ta však bude tlumena analgetiky. Další předpokládané zákroky jsou jen punkce - odběr kostní dřene u jedné skupiny zvířat, odběry krve a odběry synoviální tekutiny. I po těchto zákrocích budou podána analgetika. Pokus bude ukončen šetrným utracením zvířat v celkové anestézii, kdy budou odebrány vzorky tkání pro analýzy. Kadaver bude v souladu s provozním řádem pracoviště uzavřen do neprodyšného obalu, uložen do mrazicího boxu a likvidován specializovanou asanační firmou.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Plánované experimenty nelze nahradit alternativami bez použití zvířat, protože proces regenerace kloubní chrupavky dlouhodobý proces, ve kterém se uplatňují velmi komplexní patofyziologické mechanismy se vzájemnými interakcemi, které dosud není možné modelovat jinak než v in vivo podmínkách. Rovněž reakci tkáně na implantované materiály a jejich vhojení nelze modelovat alternativními metodami.

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

Počet zvířat naplánovaný pro implantace je nejmenší možný, který umožní statistické vyhodnocení dosažených výsledků. Uvedený počet počítá i s rezervou 8 zvířat pro případnou náhradu ztrát. Uvedeného počtu tak nebude nutné dosáhnout, ukáže-li se, že požadovaných výsledků je dosažováno s 8 zvířaty v každé skupině.

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

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

Veškeré invazivní a bolestivé zákroky na experimentálních zvířatech (artrotomie, odběry vzorků punkcemi) budou probíhat v CA. Ještě před vyvedením zvířete z CA budou aplikována analgetika, která budou podávána i v pooperačním období. Po zákrocích nebude se zvířaty manipulováno a bude jim poskytována chovatelská péče minimalizující stres a rovněž bude se zvířaty v pooperačním období zacházeno tak, aby co nejvíce dodržovala klidový režim a nevyvíjela nadměrnou pohybovou aktivitu.