

AAV9-CMV-eGFP vírus vektor krónikus tolerancia, toxikológiai és biodisztribúciós vizsgálata loco-regionális szív perfúzióban sertés modell állaton

A szívbetegségek napjainkban a vezető halálokok közé tartoznak az embereknél. Annak ellenére, hogy az elmúlt évtizedekben rengeteg új gyógykezelési eljárást fejlesztettek ki sok szívbetegség kezelésének lehetőségei továbbra is korlátozottak. A szívizomzatba történő génátvitel az utóbbi évtized ígéretes terápiás lehetősége, mivel lehetővé teszi az egyes gének megjelenését és így ér el klinikai hatást. A génterápia alkalmazhatóságát már számos állatmodelljében bizonyították a szívinfarktus, szívelégtelenség vagy akár genetikai rendellenességek kezelésében. Ilyen génterápiás lehetőség a vírusvektor alkalmazása, közülük is az adeno-asszociált vírus (AAV) vektorok jelenleg a legerősebb és legígéretesebb vektorok, amelyeket transzgének szívbe juttatására használnak. Az AAV-vektorok számos előnnyel rendelkeznek a többi vírus-vektorrendszerhez képest, mivel ezekkel nem kapcsolódnak semmilyen emberi megbetegedéshez és lehetővé teszik a gének hosszú távú átvitelét az emberekben. A vektorok azonban vénásan, vagy akár közvetlenül a szív koszorú ereibe adva is szétszóródnak a szervezetben és a célszerv mellett egyéb szervekben is megjelenve nem kívánt mellékhatásokat okozhatnak. Jelen kutatás célja, hogy a vírus vektort egy speciális „loco-regionális” szív véráramoltatási technika mellett alkalmazzuk, így elkerülve, hogy a vektor a keringésbe és ezáltal a különböző szervekbe kerüljön. Ezen eljárás lehetővé teszi a szív oxigén és vérellátásának teljes leválasztását a keringésről, úgy, hogy a vér áramoltatását és oxigénnel való telítését mesterségesen tartjuk fenn. A lezárt koszorúér keringésbe adjuk be a vektorokat, amely így nem kerül a test egyéb szerveibe. Mivel ilyen típusú kezelés még nem történt sertés állatmodellen, ezért kidolgozzuk annak technikai alapjait és a kezelés hatékonyságára próbálunk következtetést levonni, hogy a további nagyobb létszámú és hosszabb időtartamú kísérleteket előkészítsük. A kísérlet végső célja, hogy megtaláljuk a vektor megfelelő adagolását és a leválasztott keringetés ideális idejét úgy, hogy a vektor beépülése még megfelelő legyen.

- b) *A helyettesítésre, csökkentésre és tökéletesítésre vonatkozó előírás teljesítésének tanúsítása*
A „**3R**” elv (**R**efinement = tökéletesítés; **R**eduction = csökkentés; **R**eplacement = helyettesítés) megvalósulása alapvető célkitűzés a kísérletek végzésekor.

Refinement = tökéletesítés

A kutatók és gondozók képzettsége: az állatkísérletben résztvevő valamennyi kutató az előírt végzettséggel dolgozik ezen a szakterületen.

Megfelelő állattartási körülmények: a kísérleti állatok tartása megfelel a mindenkorin jogszabályokban előírt feltételeknek, az állattartás során biztosítjuk a természetszerű tartási körülményeket és csoportnagyságot.

Nyugtató, érzéstelenítő és fájdalom-csillapítás: minden beavatkozás alkalmával ügyelünk a megfelelő gyógyszeres anesztézia biztonságos kivitelezésére.

A vizsgálati elrendezésben a vizsgálati végpontok meghatározása kellő körültekintéssel történt, és annak betartása minden résztvevő számára alapkövetelmény.

Az állatok végleges elaltatása kellő körültekintéssel, a jogszabályban előírtaknak megfelelően történik.

Reduction = csökkentés (a kísérletekben felhasznált állatok számának csökkentése, a lehetőségek határáig)

A kísérleti protokoll megfelelő, körültekintő megtervezése, az adatminőség folyamatos ellenőrzése. A kísérlet elrendezése lehetővé teszi, hogy amennyiben a az optimális eredmények a korábbi fázisban elérhetőek, akkor nem szükséges a további állatok felhasználása.

A kísérleti állatok egészségi állapotának és jólétének folyamatos monitorozása történik, a monitorozást végző állatorvos azonnal dönt az állat életének kíméletes kioltásáról, amennyiben az élettani értékek változása arra enged következtetni, hogy az állat további életben tartása szükségtelen szenvedést okozna számára.

Replacement = helyettesítés (az állati modellek helyettesítése más módszerekkel, modellekkel)

A házi sertés szíve anatómiai felépítését és méreteit tekintve az emberi szívhez hasonló, ezért a szív működést érintő kóros elváltozások és azok általános következményeinek tanulmányozására a sertés szíve a legalkalmasabb modell, mely esetünkben nem helyettesíthető hatékonyan más módszer alkalmazásával.