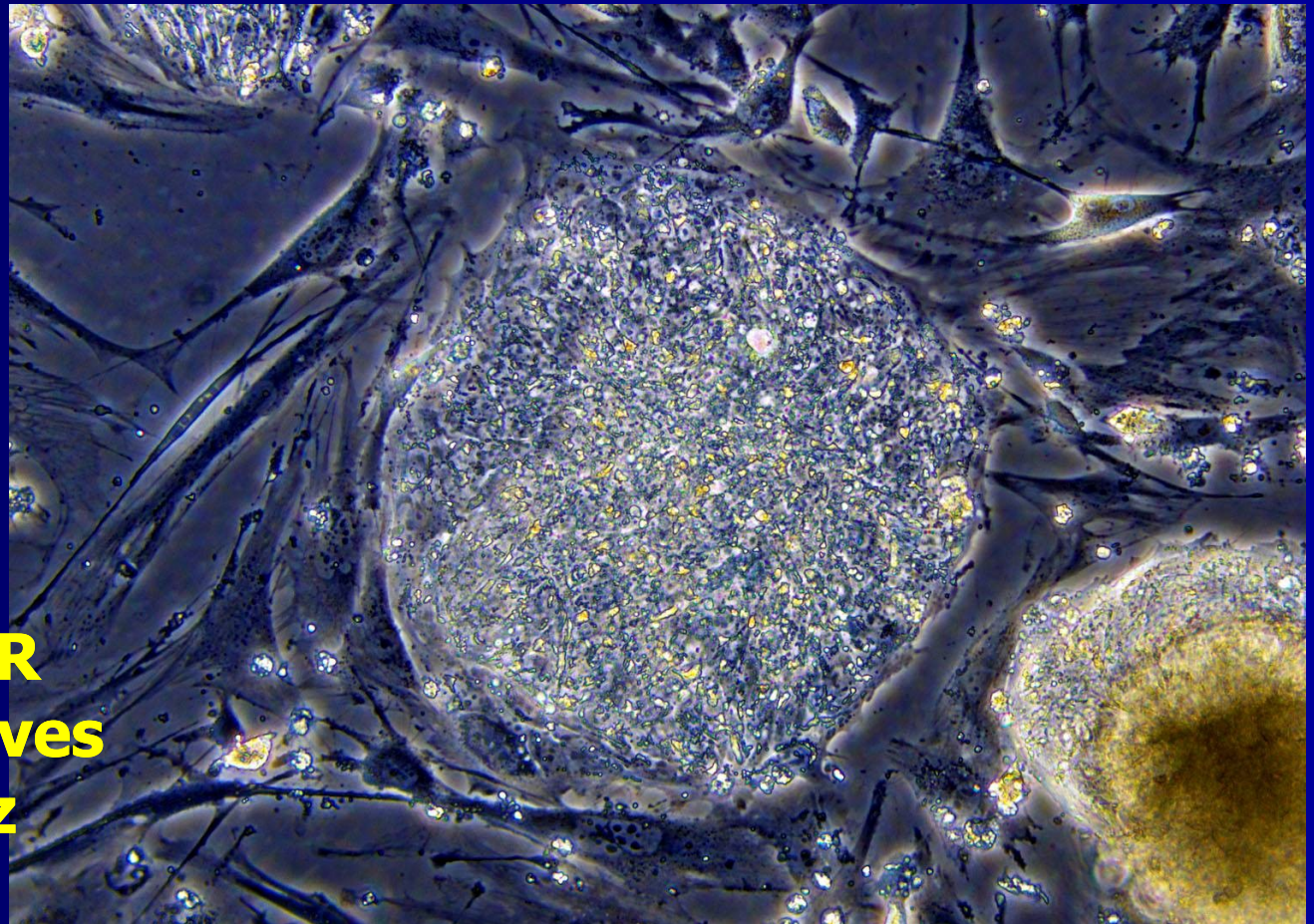


Buněčné terapie a tkáňové inženýrství



Jaroslav PETR
VÚŽV Uhřetěves
petr@vuzv.cz

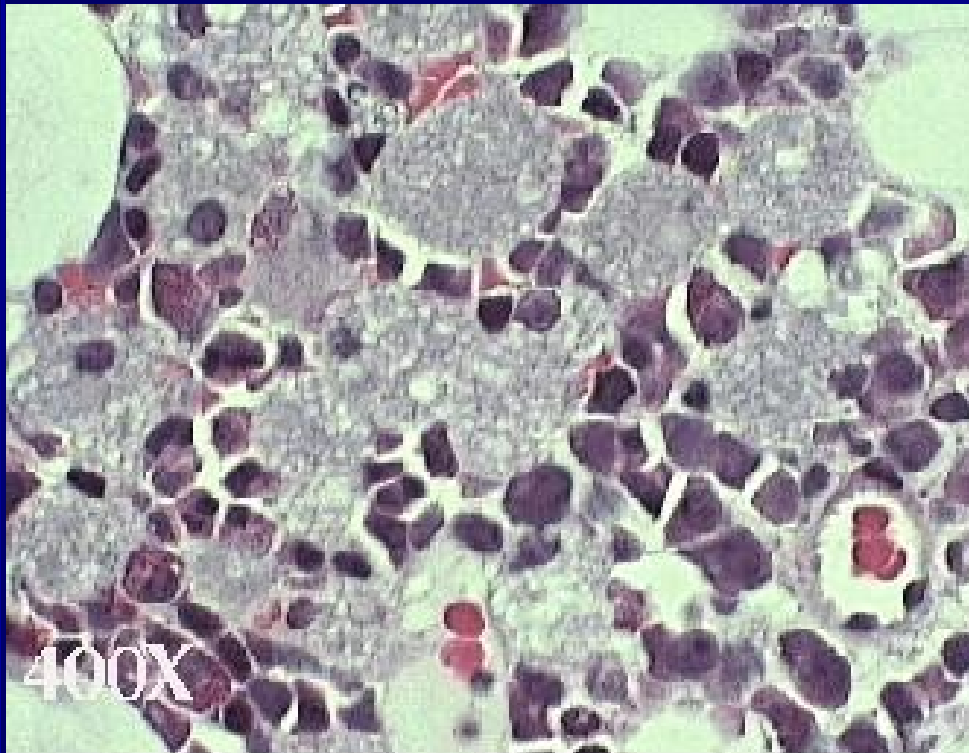
Buněčné terapie

- Při onemocnění nebo poranění je zničena, poškozena nebo správně nefunguje řada buněk, tkání či orgánů.
- Buněčná terapie snaží buňky nahradit



Buněčné terapie

- Transfuze krve
- Transplantace kostní dřeně



Zdroje buněk pro terapii

- Embryo
- Plod
- Novorozenec
- Dospělý dárce

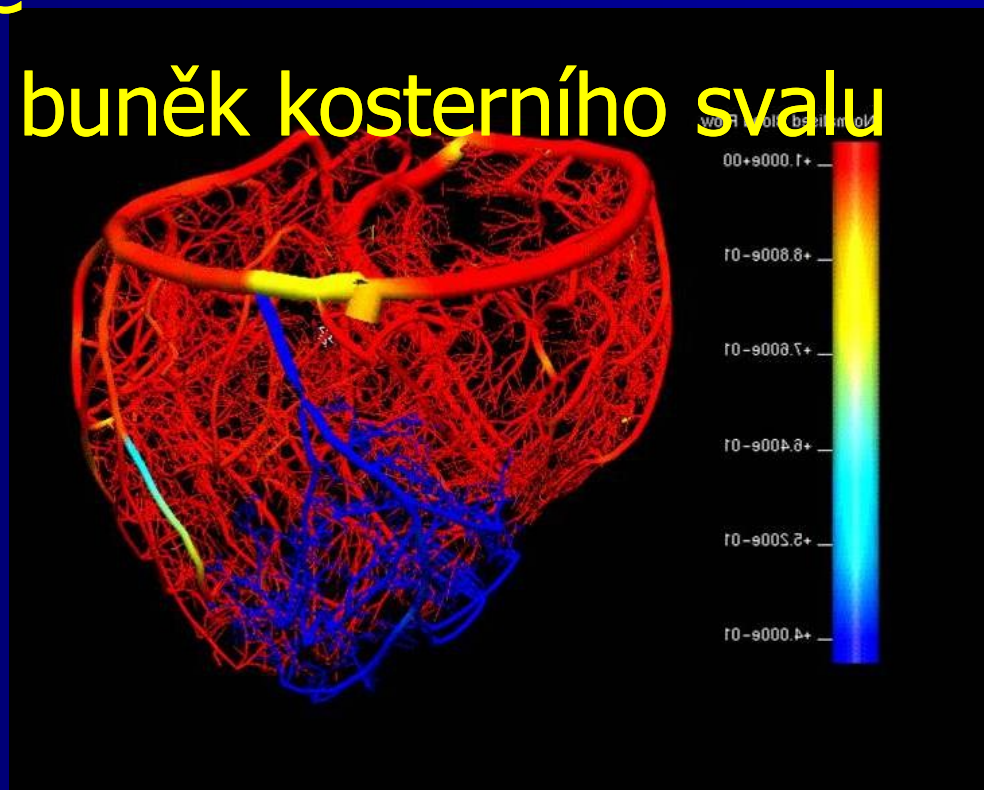


Terminálně diferencované buňky dospělého dárce

Má svá omezení

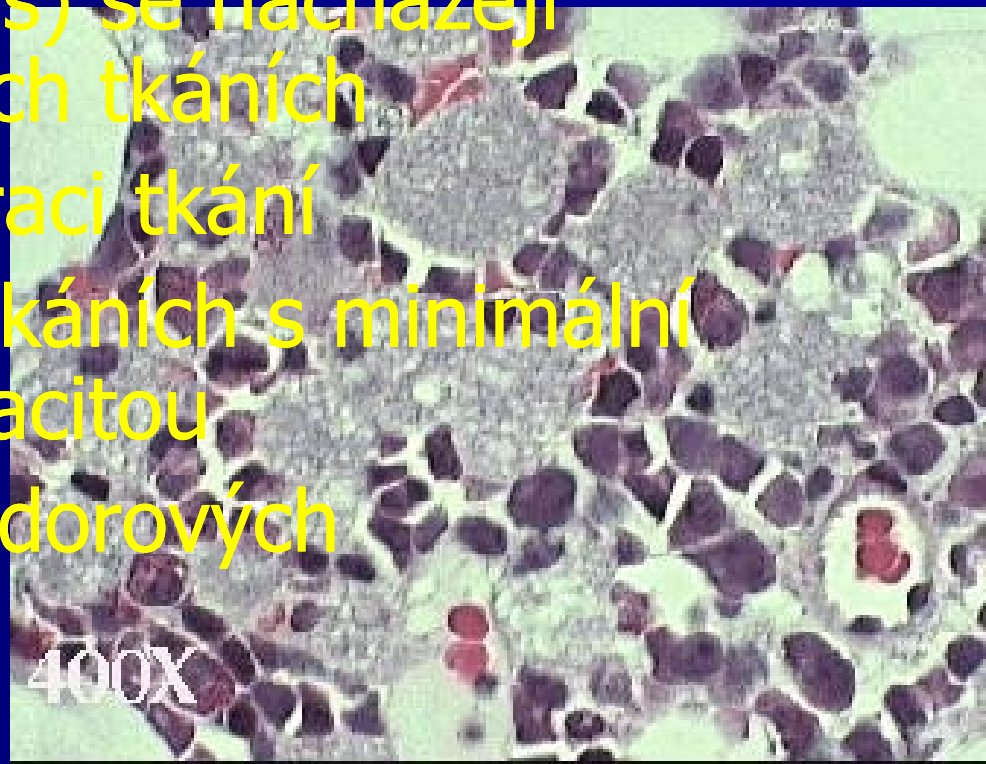
- transfuze krve

- transplantace buněk kosterního svalu do srdce



Kmenové buňky dospělého dárce

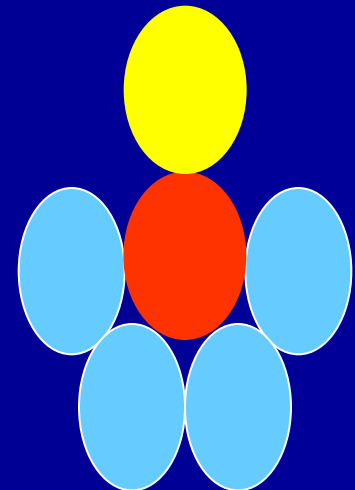
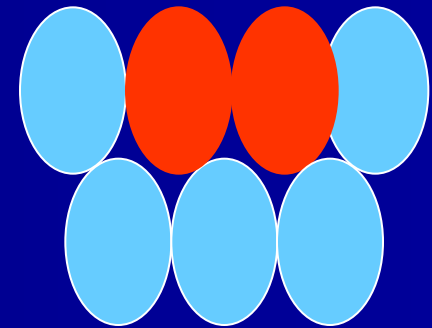
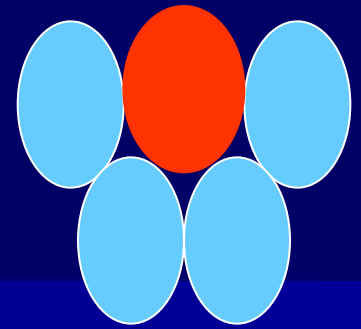
- Tzv. orgánové kmenové buňky (dospělé kmenové buňky – adult stem cells) se nacházejí prakticky ve všech tkáních
- Zajišťují regeneraci tkání
- Vyskytují se i v tkáních s minimální regenerační kapacitou
- Podílejí se na nádorových onemocněních



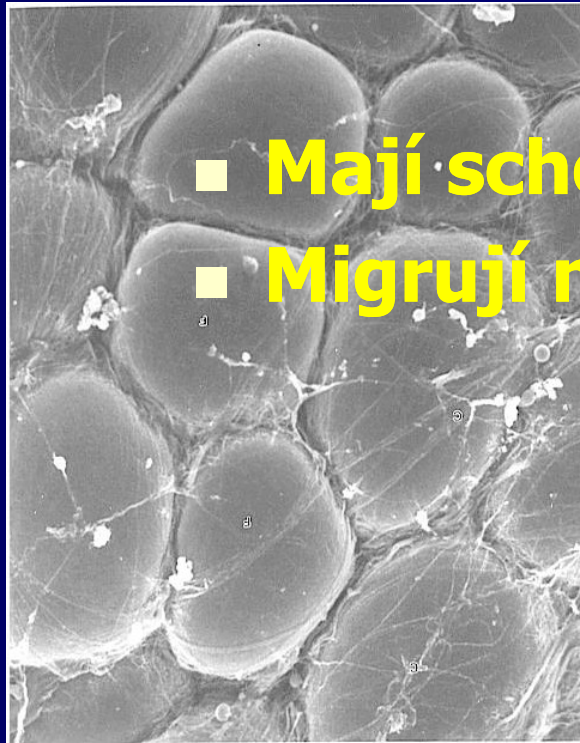
Dospělé (orgánové) kmenové buňky

Asymetrické buněčné dělení

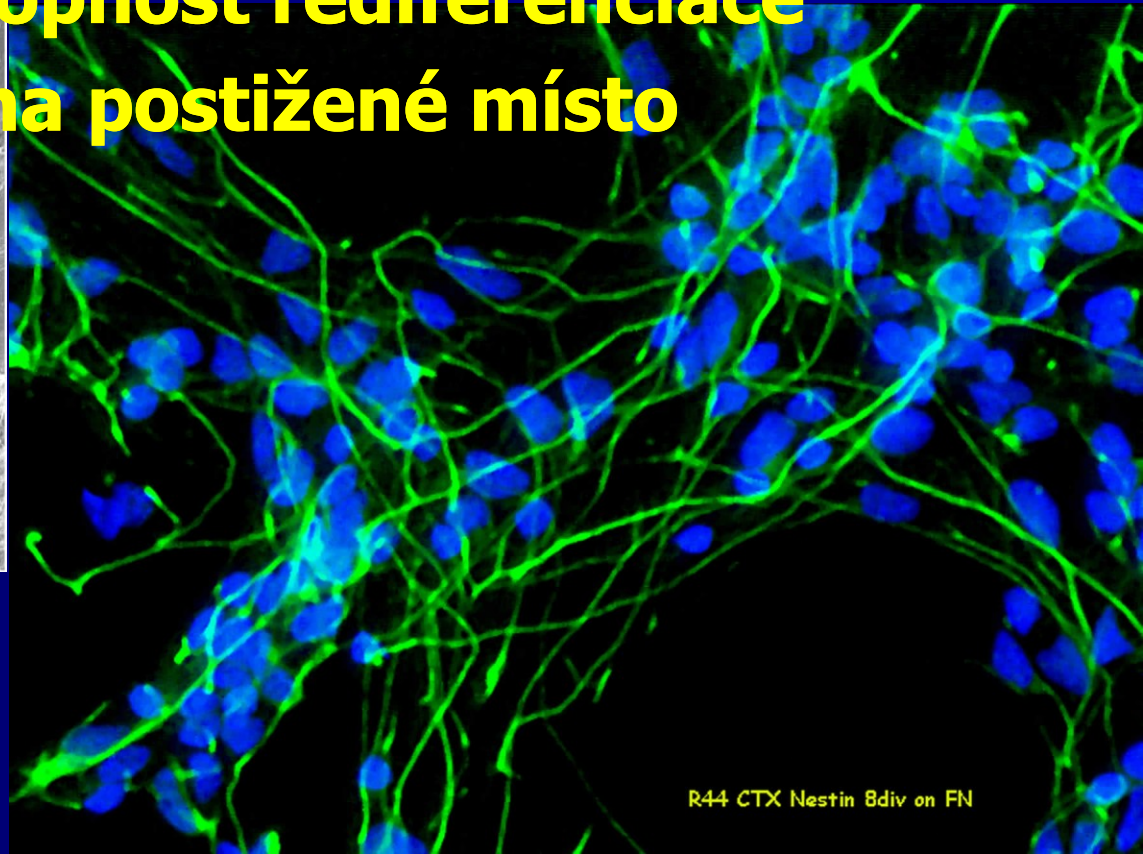
- Kmenovost jim dává nika
- Opuštění niky – diferenciace
- Vyskytují se v různých tkáních
např. mozek, tuk, kostní dřeň ...



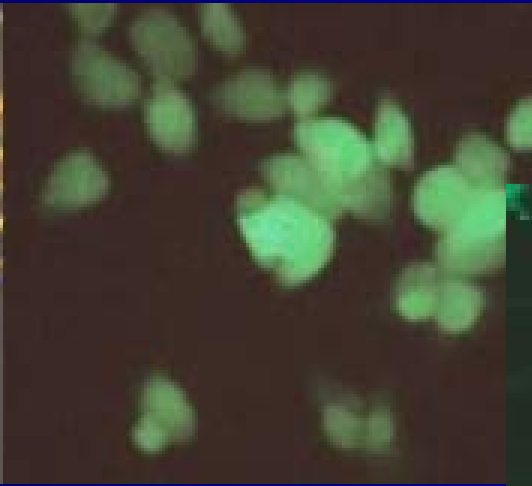
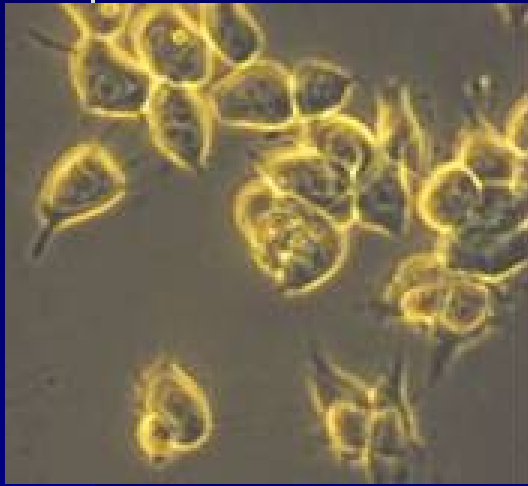
Dospělé kmenové buňky



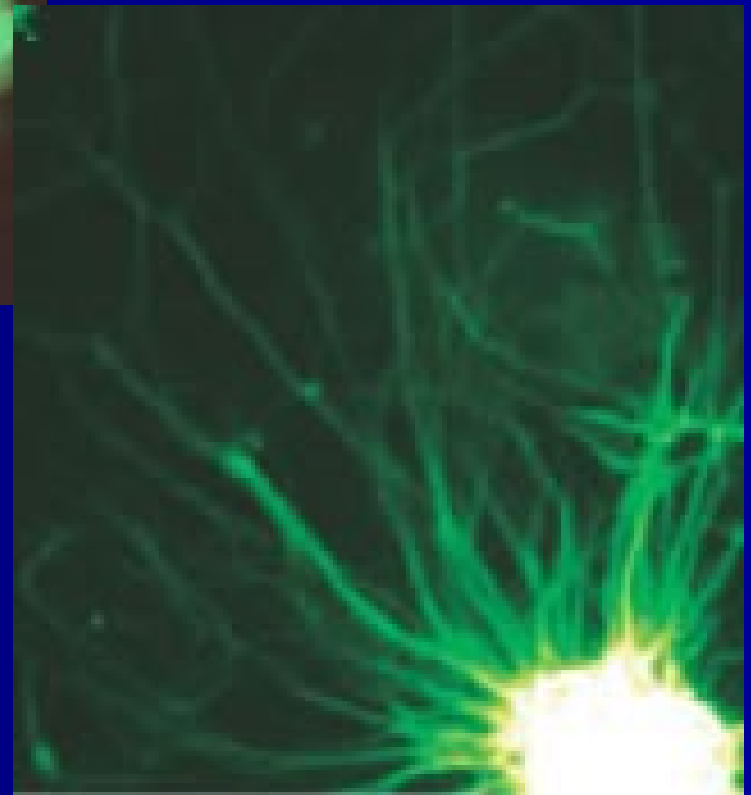
- Mají schopnost rediferenciace
- Migrují na postižené místo



Osud ASC byl sledován pomocí exprese GFP

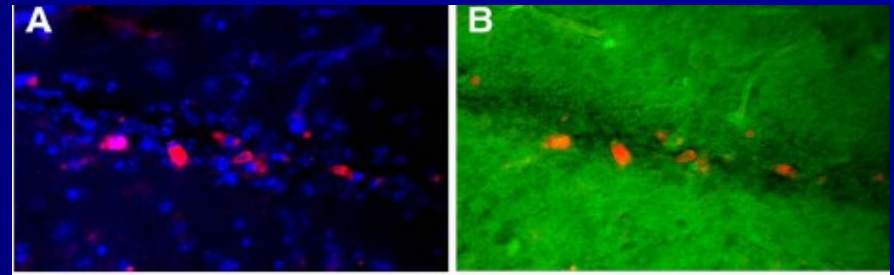


**„Nové“ buňky
v postiženém místě
vznikají i fúzí.
Jsou tetraploidní.**

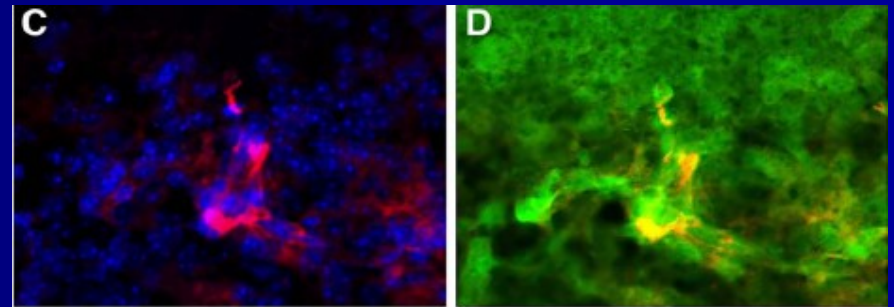


Myogenní buňky v mozku

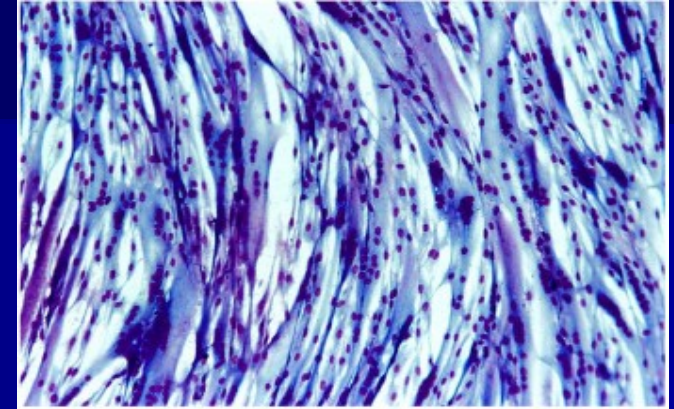
- Bez fúze



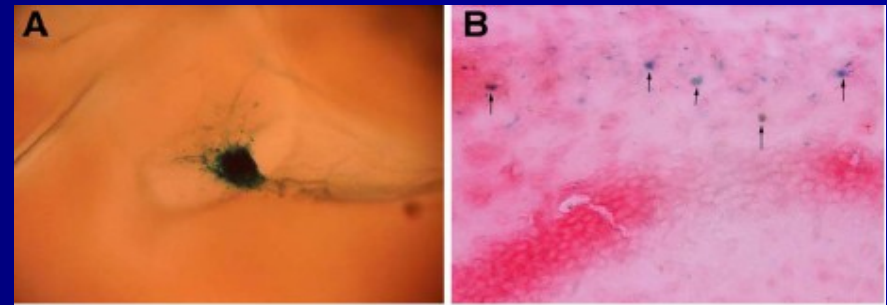
- S fúzí



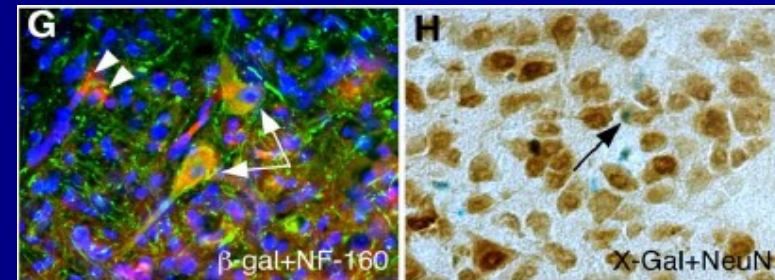
Myogenní buňky vnesené
do mozku novorozených
myší



V mozku diferencují
na „neurony“

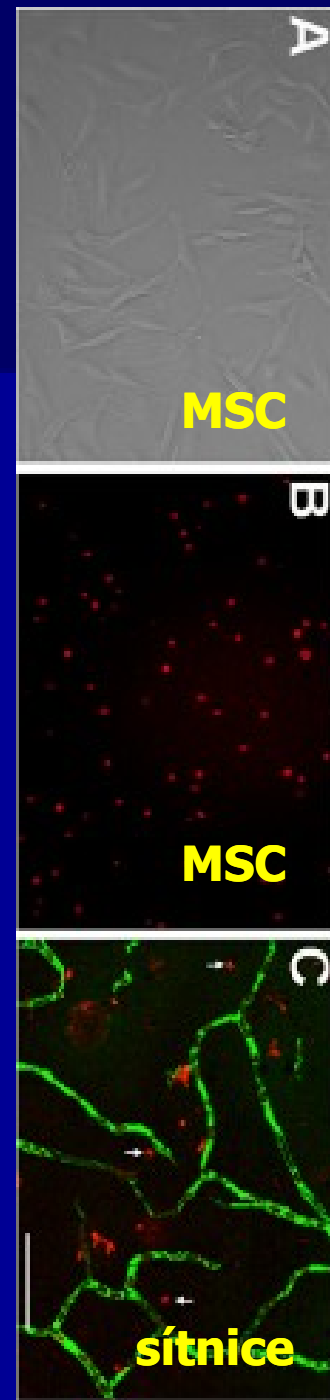


Exprese markerů zralých
neuronů v buňkách
myogenního původu



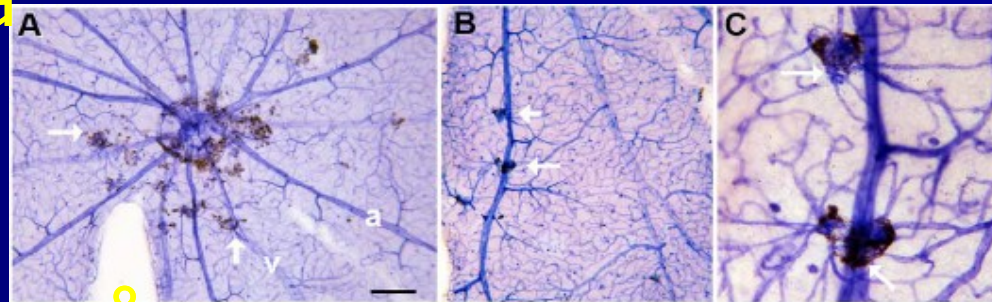
Degenerace sítnice léčba - potkan

- Potkanům s degenerativním onemocněním sítnice byly do ocasní žíly injikovány mezenchymální kmenové buňky kostní dřeně (MSC)
- Zákrok byl proveden před nástupem degenerace světločivných buněk
- Zabudování buněk do sítnice

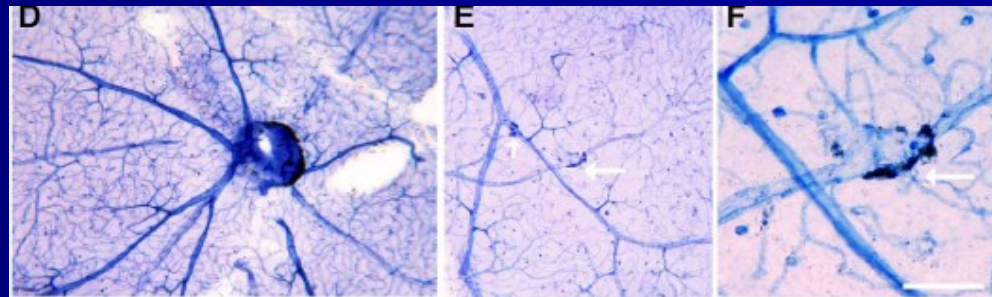


Degenerace sítnice léčba - potkan

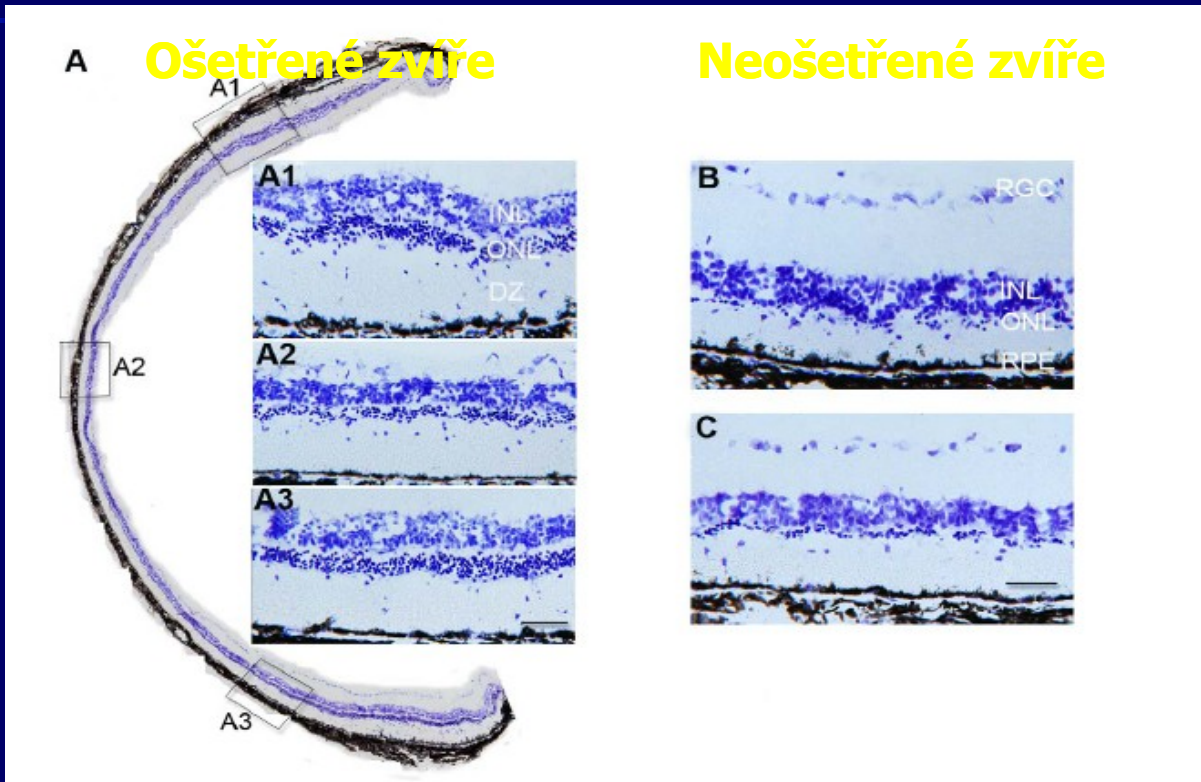
- Neošetřená zvířata
degenerace
abnormální cévy
přednostně v okolí nervů



- Ošetřená zvířata
bez degenerace



Degenerace sítnice lčba - potkan



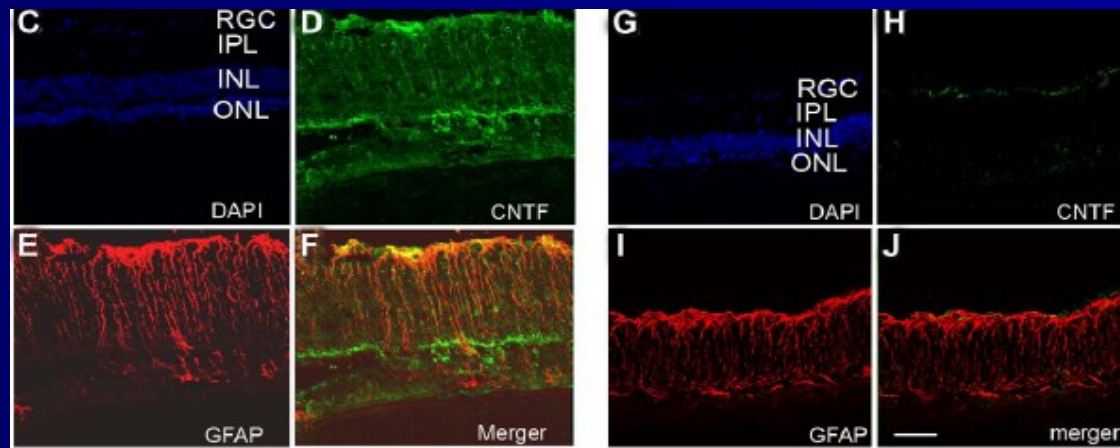
- MSC zabrání redukci vrstvy světločivných buněk v sítnici

Degenerace sítnice léčba - potkan

- MSC zvýší produkci trofických faktorů v sítnici

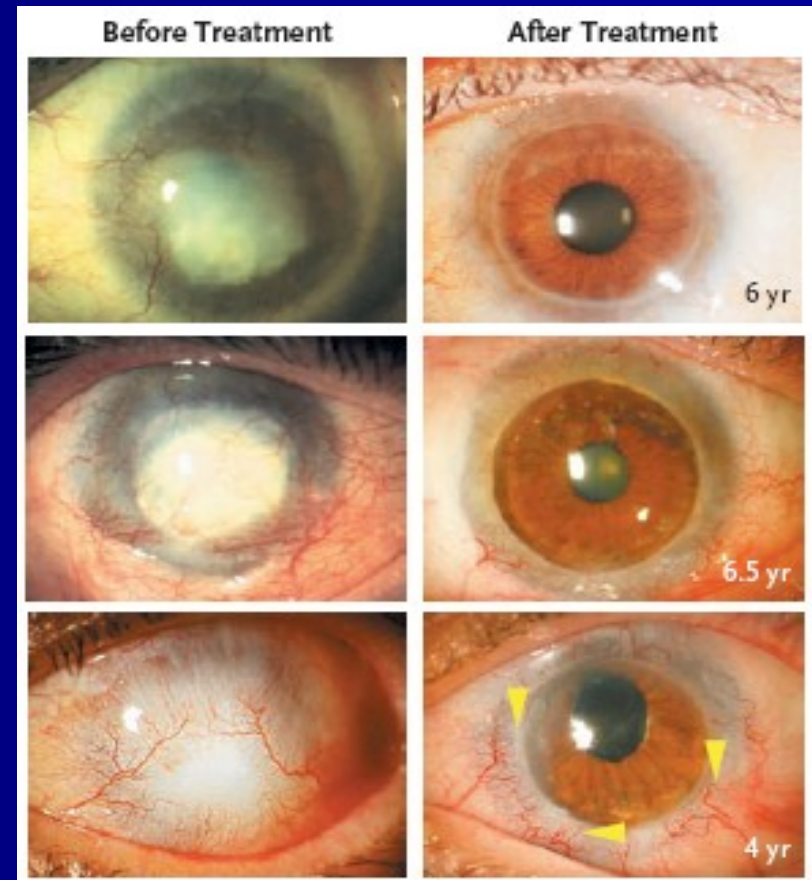
Ošetřené zvíře

Neošetřené zvíře



Léčba poškozené rohovky

- Poškození rohovky včetně kmenových buněk rohovky
- Odběr kmenových buněk ze zdravého oka
- Kultivace kmenových buněk na fibrinu
- Transplantace kultivovaných buněk na poraněné oko



(Rama et al.: NEJM, 2010)

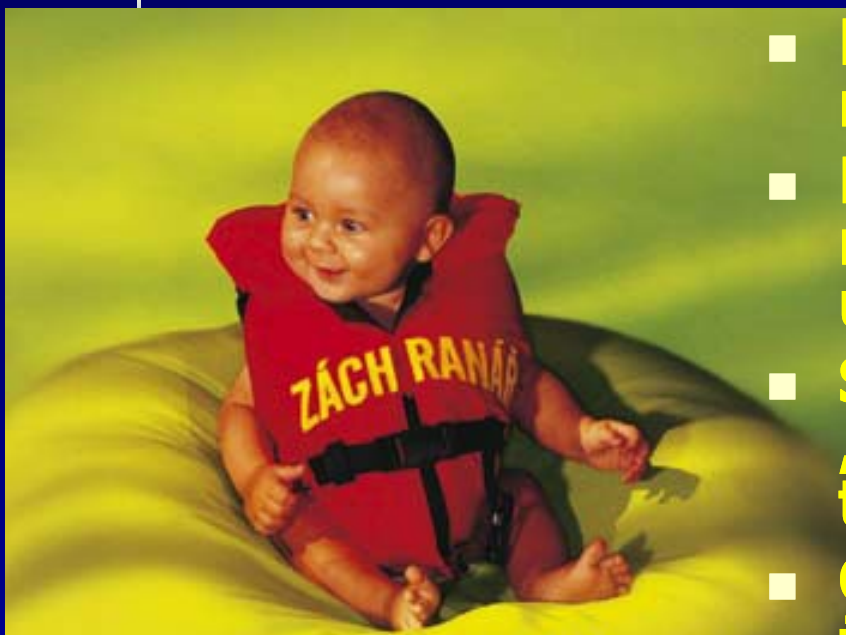
Buňky novorozence



Pupečnicková krev

- Darování veřejné bance
- Uskladnění v soukromé bance pro vlastní potřebu za 20-40 tis. Kč a roční poplatky

Proč darovat pupečnickovou krev?



• • • Kryštof (7 měsíců)
zachránil pětileté dítě nemocné leukémií.
Jeho maminka darovala při porodu
pupečnickovou krev.

- Pupečnicková krev je náhrada za kostní dřeň
- Pacient jí lépe přijme – není nutná tak velká shoda jako u kostní dřeně
- Šance využití vlastní „odložené“ krve je 1:200 tisícům
- Odebere se max. 1 dl stačí jen dítěti (vyvíjí se metoda expanze kmenových buněk stimulací Notch receptoru)
- Existuje mezinárodní síť

Soukromé banky

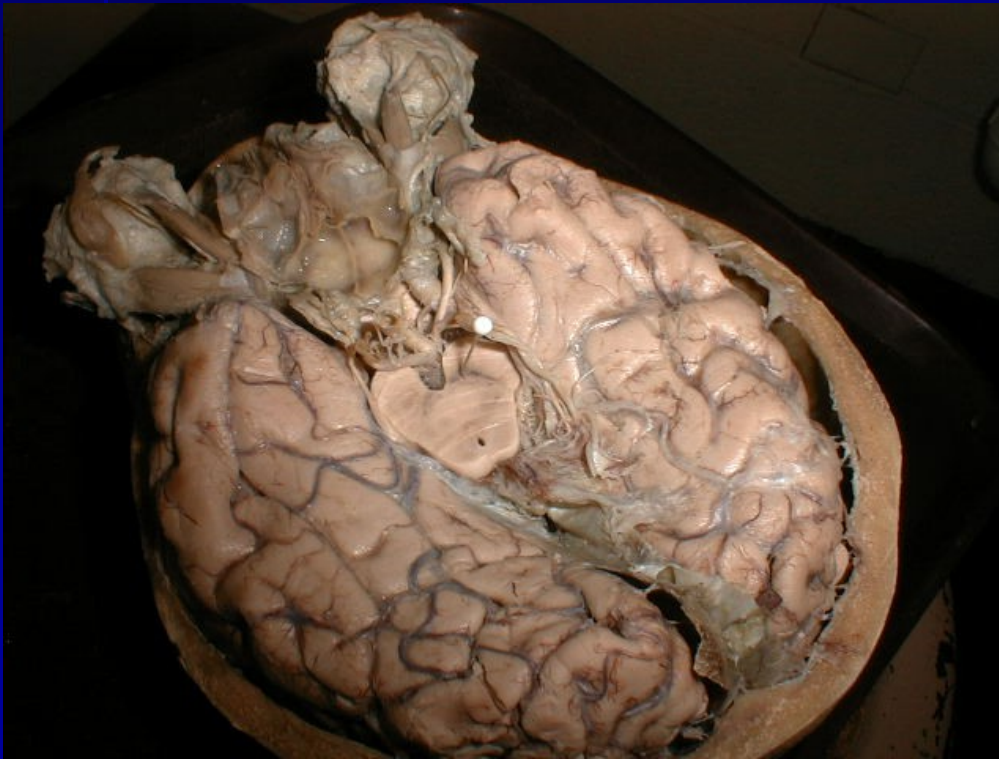
- Verbují klienty v citlivém životním údobí - těhotenství
- Slibují využití léčby, která ještě neexistuje (Parkinsonismus apod.)
- Co bude s krví zkrachovalých bank?



Preserving Today for Tomorrow

Fetální buňky

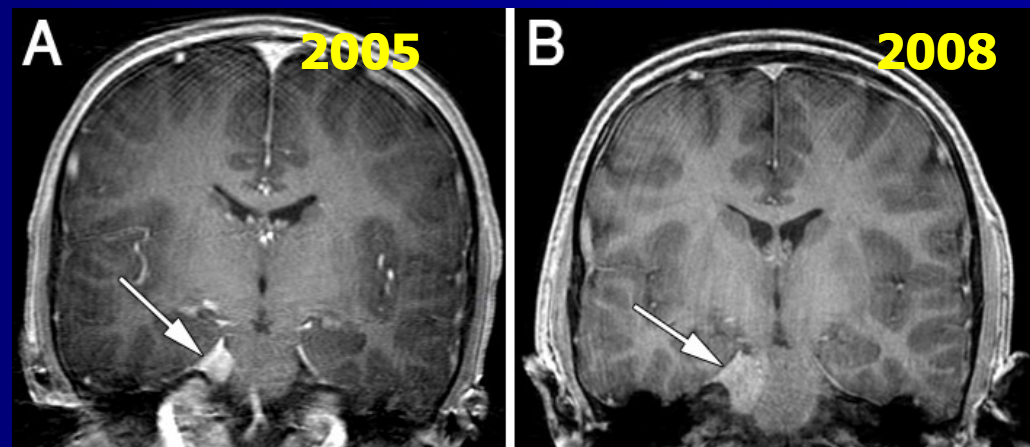
- neurony pro Parkinsonovu chorobu



Komplikace léčby fetálními buňkami

- Chlapec s ataxia-telangiectasia
- Dědičná porucha imunitního systému provázená poruchami koordinace pohybu
- Léčen injekcemi nervových buněk plodů do mozku i pod mozkové pleny v 9, 10 a 12 letech

**Ve třinácti letech tvorba nádorů v mozku
Nádory odvozené z buněk nejméně dvou dárců**



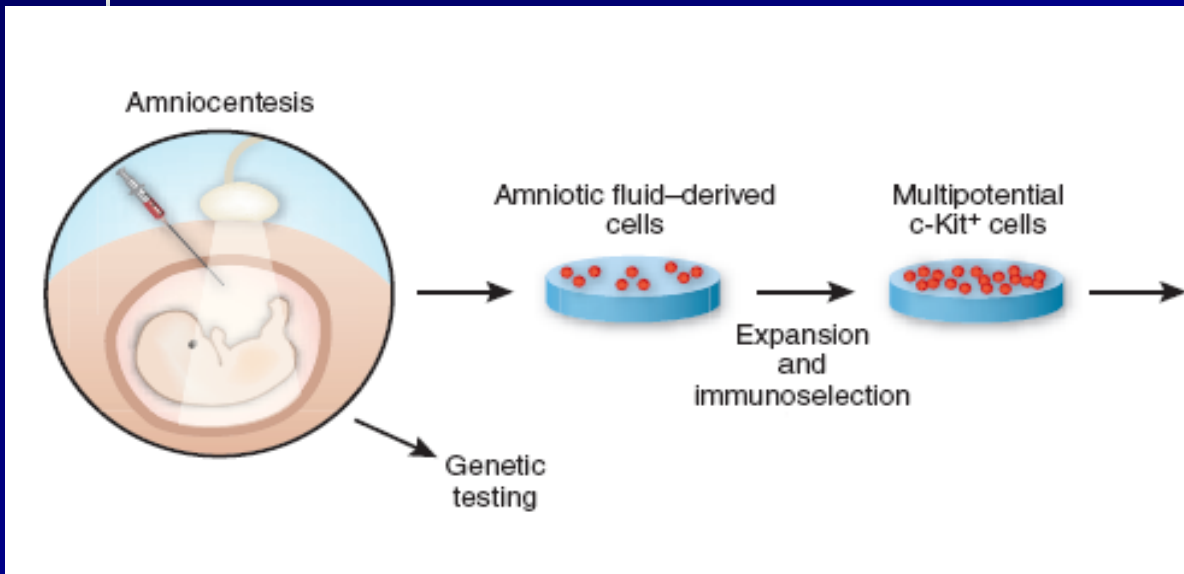
Typy buněk dle potenciálu diferenciaci

- Totipotentní – vývoj v celého jedince
- Pluripotentní – ve všechny typy buněk
např. ICM, ESC
- Lineage-restricted stem cells
mezodermální, ektodermální, entodermální
- Committed stem cells
– vyvinou se v daný typ buňky
- Progenitorové buňky
– dělí se, nejsou kmenové
- Terminálně diferencované buňky
– krvinka, neuron

Pluripotentní ASC (?)

- Mezenchymální kmenové buňky kostní dřeně
- Buňky získané z amniové tekutiny (AFS buňky
amniotic fluid-derived stem cells)

AFS buňky



Diferenciace

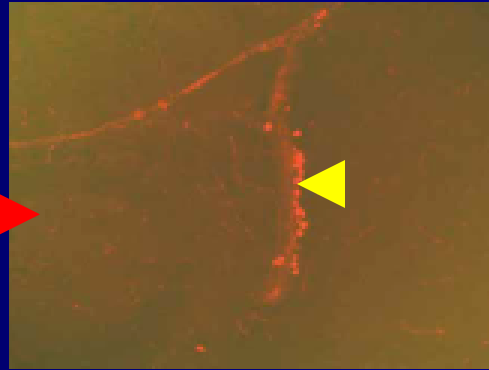
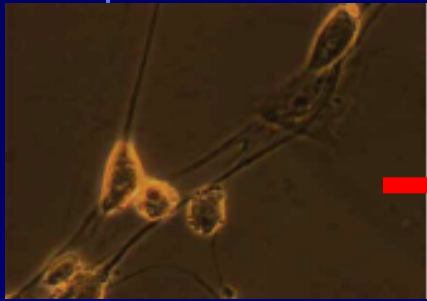
**Tuk
Kost
Sval
Neurony
Cévy
Játra**

**Intezivní množení – zdojnásobení počtu za 36 hod.
Stabilita – 250 generací bez zkrácení telomer
Množí se bez „feeder layer“**

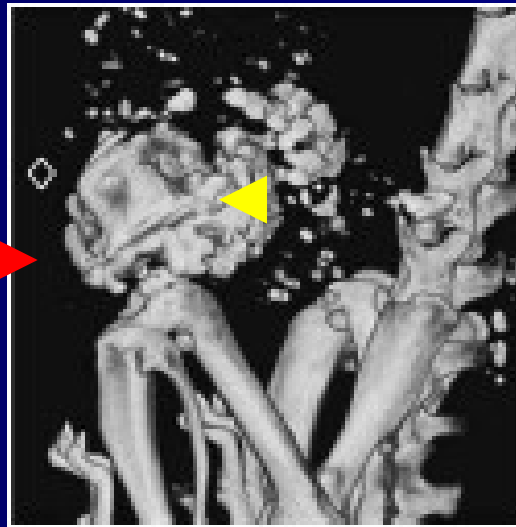
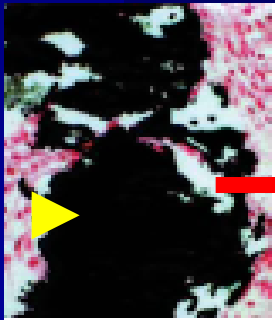
Buňky z AFS jsou funkční

- Formování kosti v těle myši na algináto-kolaganovém podkladu
- Integrace do mozku in vivo
- Produkce močoviny z hepatocytů

AFS buňky



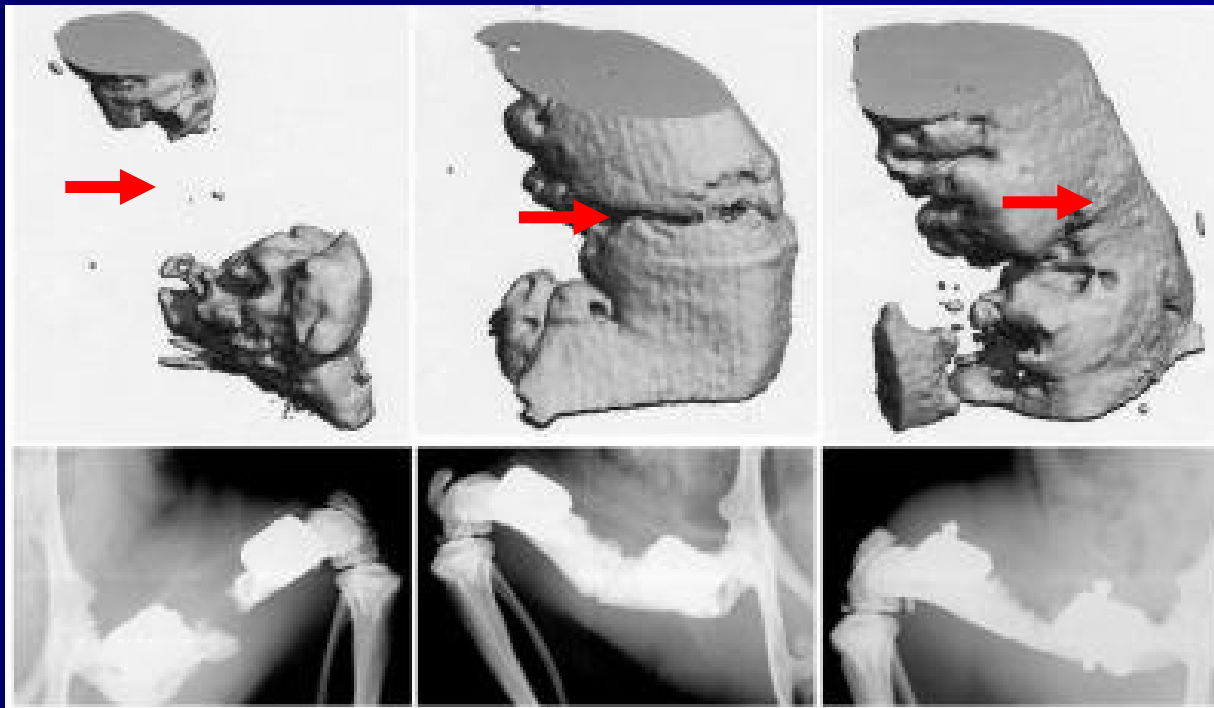
- Vnesení vzniklých neuromů do hipokampu myši



- Vnesení osteogenních buněk na podkladu do těla myši

AFS buňky

- Hojení zlomeniny stehenní kosti



Scaffold

**scaffold
+ kostní dřev**

**scaffold
+ AFS buňky**

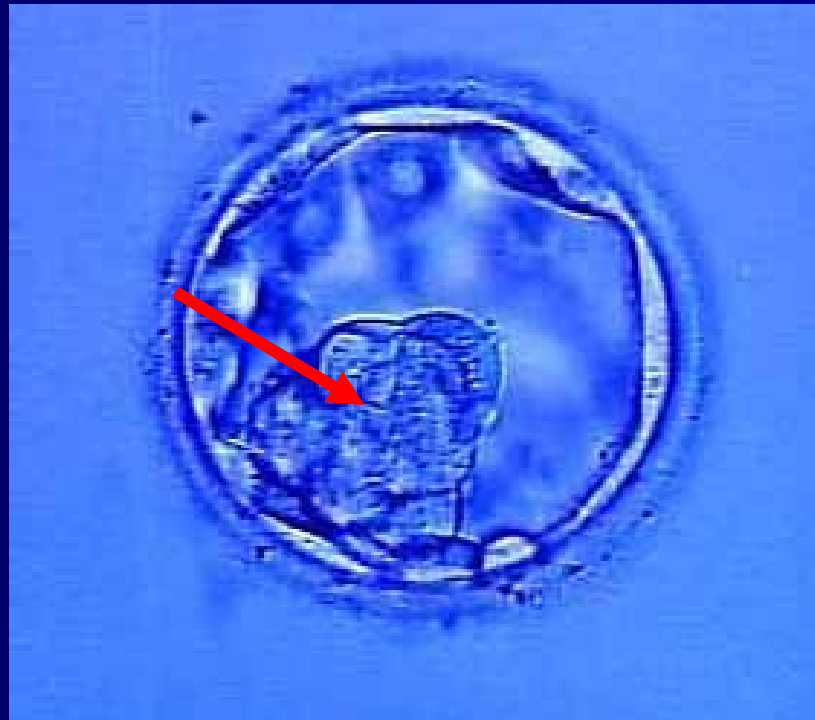
Embryonální kmenové buňky

- Bez omezení se množí
- Diferenciace na typy buněk
 - Entoderm
 - Mezoderm
 - Ektoderm

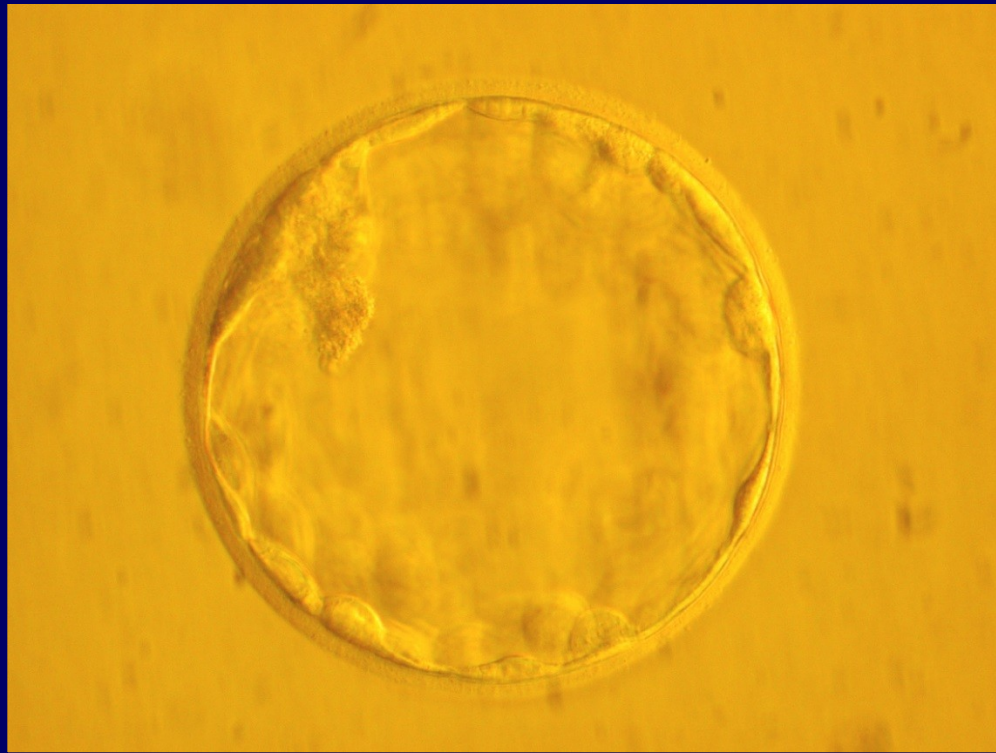


Lze je vypěstovat

- z embryoblastu blastocysty



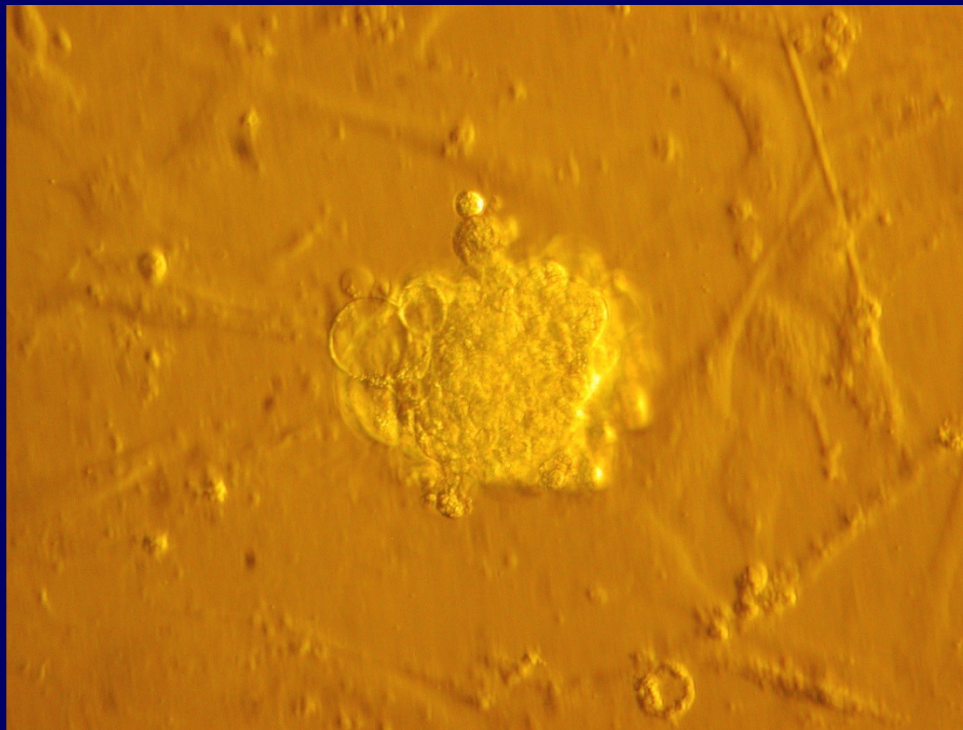
Lidská blastocysta



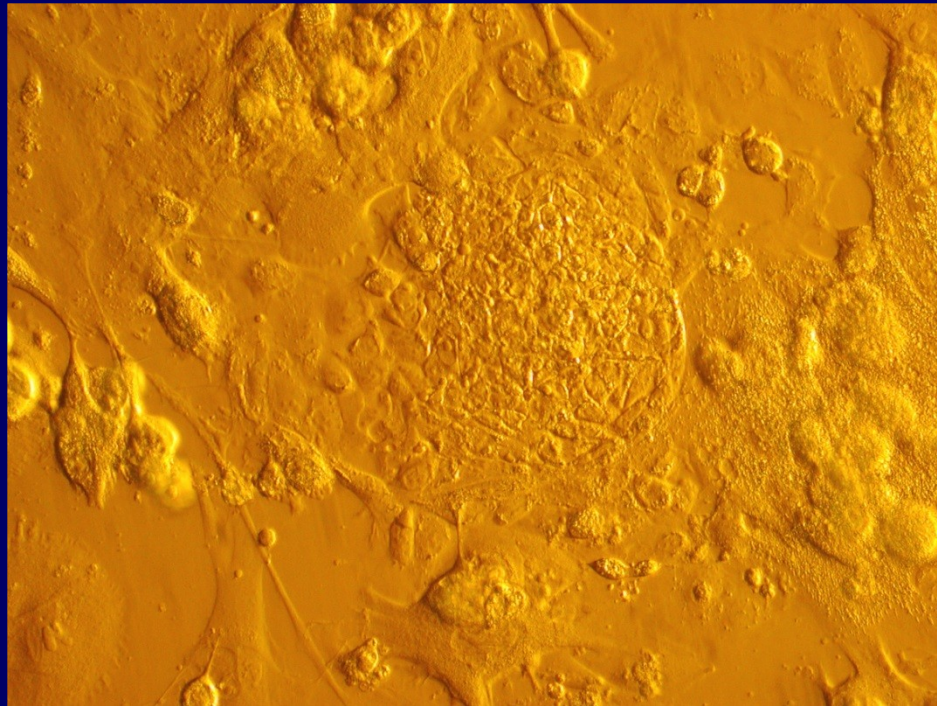
Blastocysta zbavená ZP



Kultivace izolované ICM



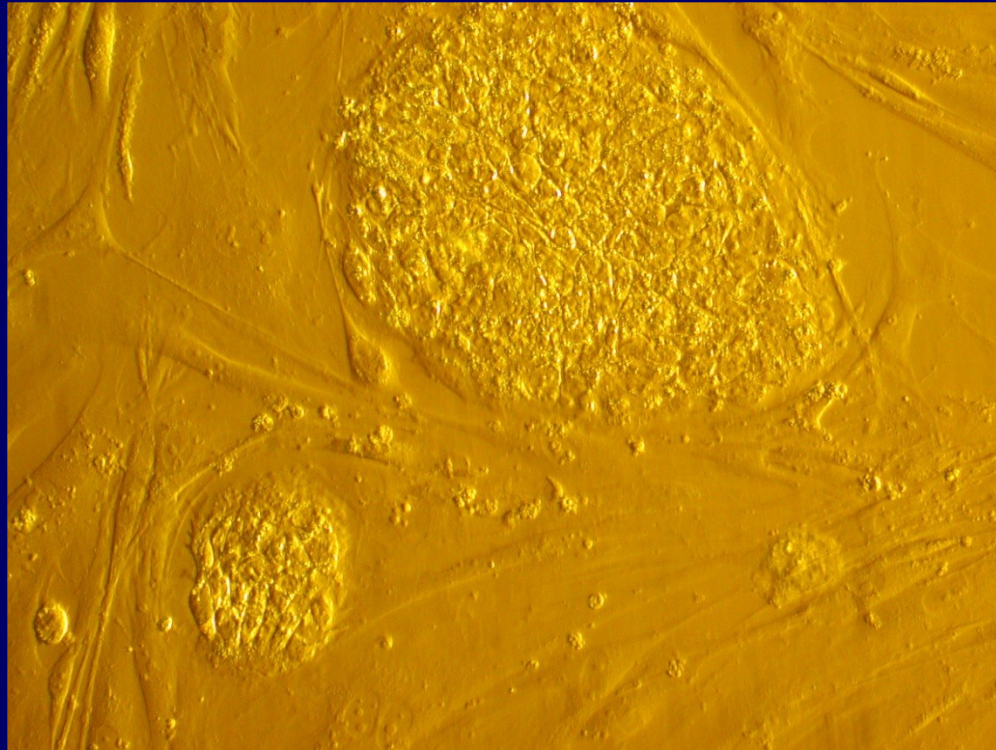
Kultivace 7 dní



Kultivace 10 dní



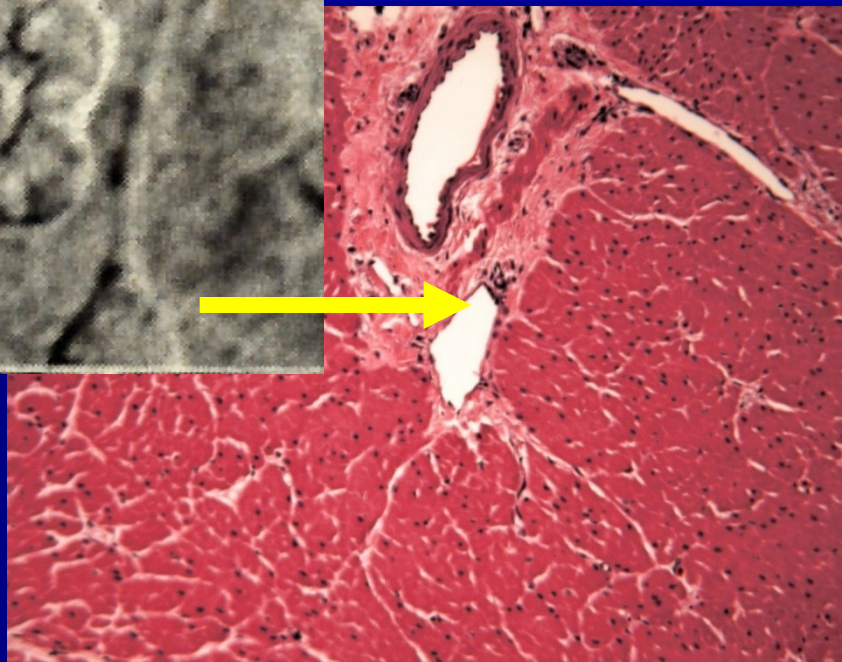
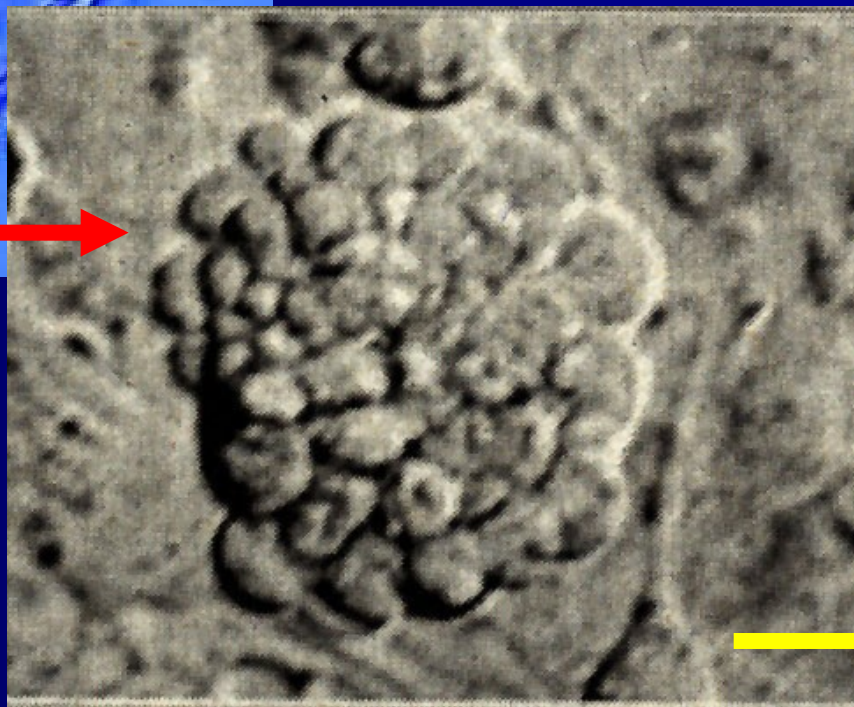
Kolonie ESC 3 dny po první pasáži



Zdroje blastocyst

- „nadbytečná“ embrya z IVF
- cíleně tvořená embrya
 - IVF
 - klonování

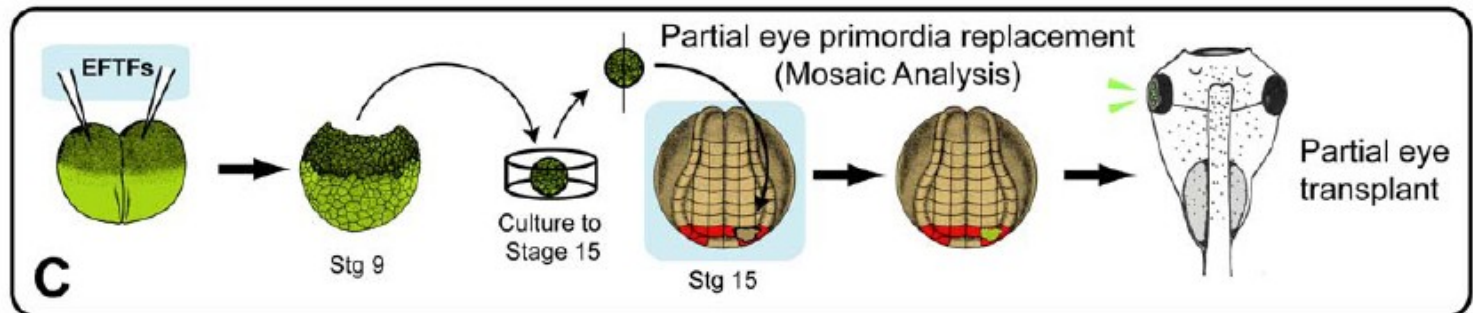
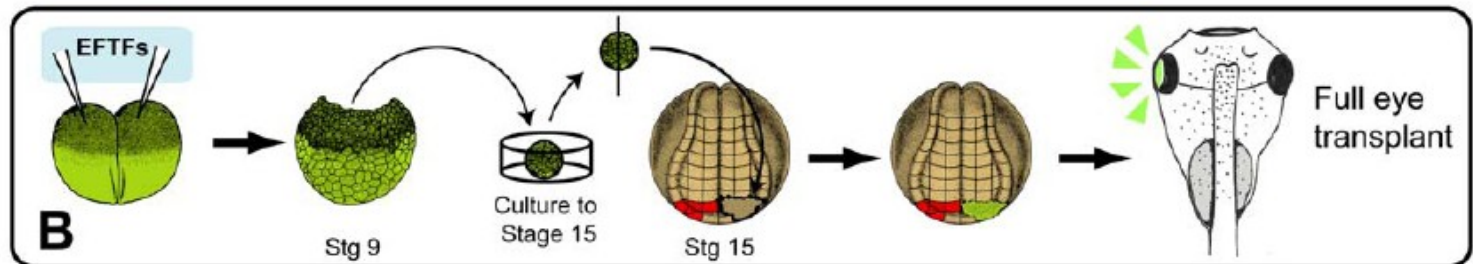
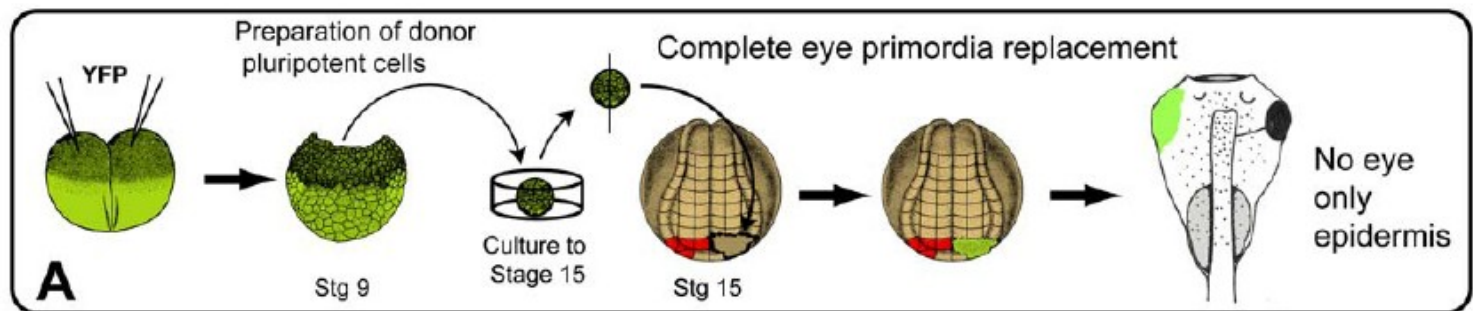




Diferenciace pluripotentních kmenových buněk na orgán

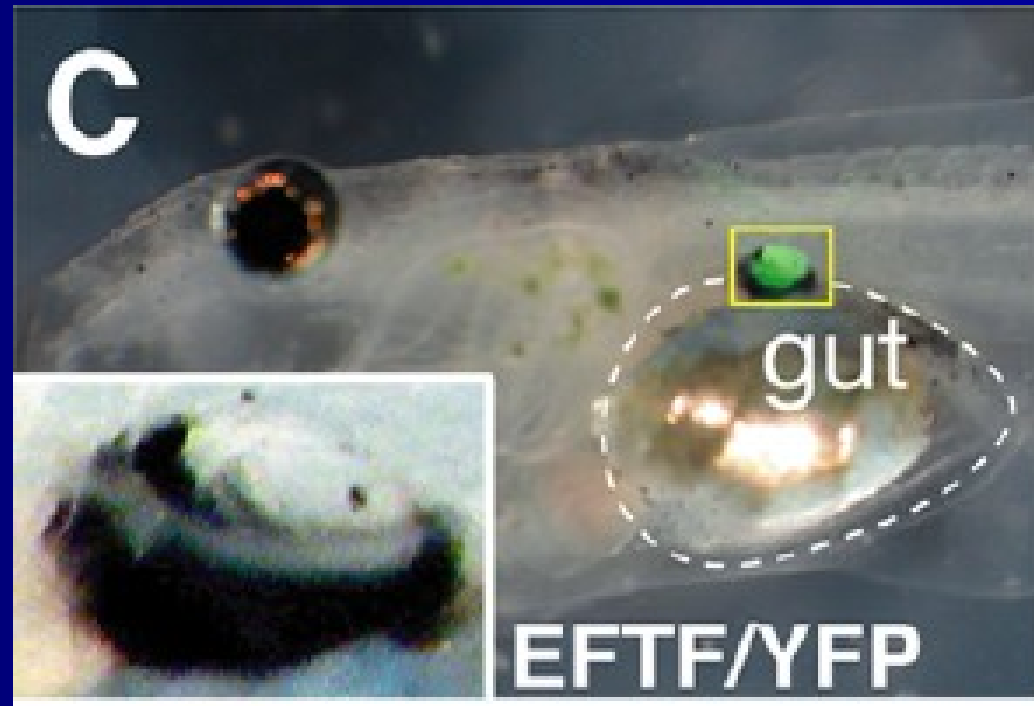
- Xenopus- pluripotentní kmenové buňky
- Expresí 7 genů typických pro „eye-field“
- Po transplantaci pluripotentních buněk – vznik epitelu
- Po transplantaci pluripotentních buněk s expresí 7 genů „eye-field“
- vznik oka

Diferenciace pluripotentních kmenových buněk na orgán



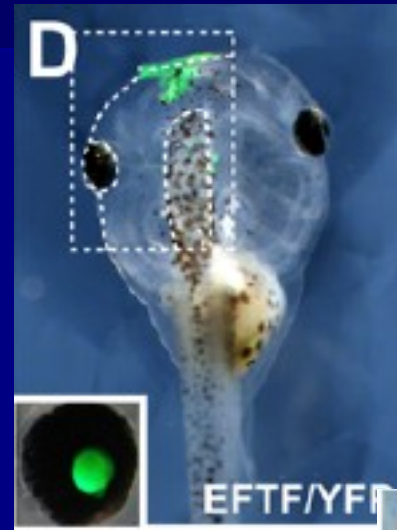
Diferenciace pluripotentních kmenových buněk na orgán

- Přenos pluripotentních buněk s expresí genů eye-field do slabiny pulce
- Tvorba struktury podobné oku



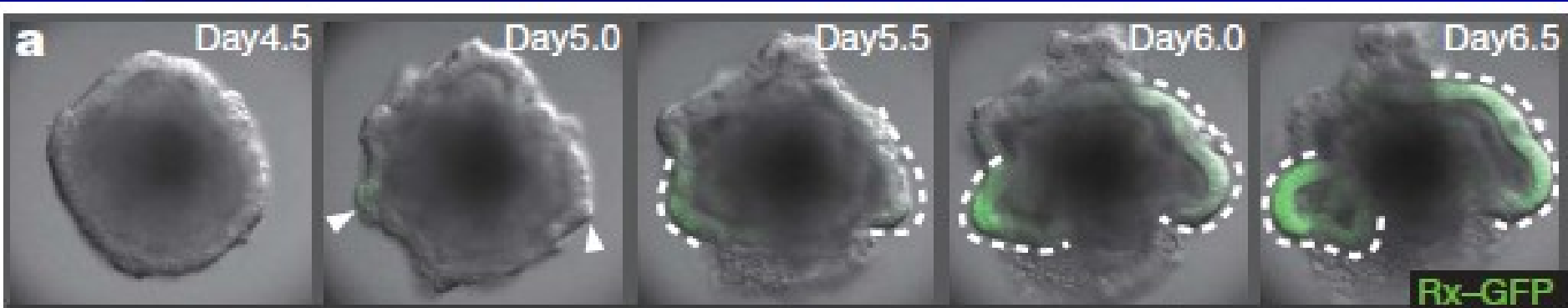
Diferenciace pluripotentních kmenových buněk na orgán

- Náhrada zničeného oka pulce pluripotentními buňkami s expresí genů eye-field
- Vznik funkčního oka

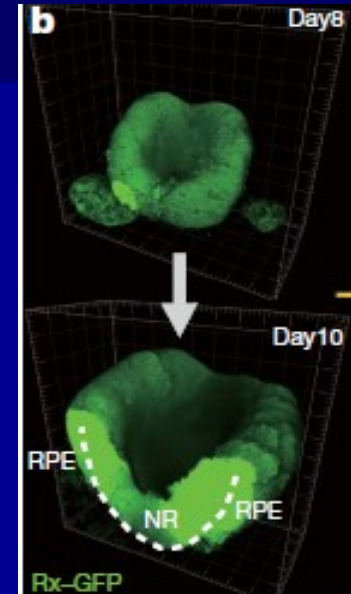
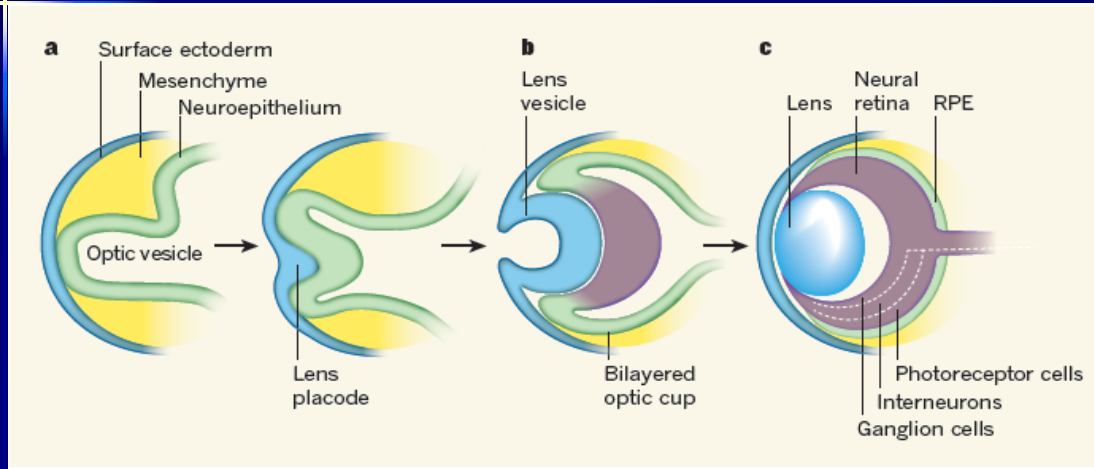


Diferenciace ESC in vitro

- Myší ESC
- Extracelulární matrix jako podklad
- Diferenciační růstové faktory
- Diferenciace buněk na optický váček (optic vesicle)

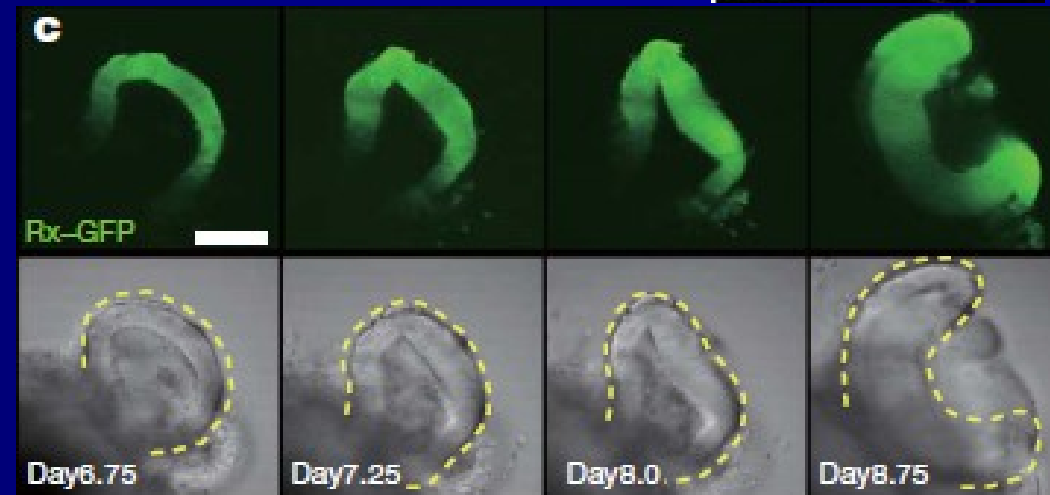


Organogeneze in vitro



Další kultivace

- Vchlípení stěny
- Tvorba optického pohárku (optic cup)



Jak prověřit ESC?

- **Markery – dokážou vyloučit, nikoli potvrdit**
- **Zvířecí ESC**

Injekce do blastocysty

Injekce do varlat

imunodeficitních myší

Prověřování lidských ESC

- **Diferenciace in vitro**
- **Injekce do myší blastocysty**
- **Injekce do zvířecího plodu (ovce)**
- **Vznikají chiméry s různým podílem lidských buněk a tkání**

Technické problémy

**A) Diferenciace není dokonalá
z ESC může vzniknout teratom**

■ **Řešení:**

Zdokonalit diferenciaci

Selekce diferencovaných buněk

**Potlačení exprese genu survivin –
aktivní v embryu a nádorech,
inaktivní v diferencovaných tkáních**



Technické problémy

- **Imunitní bariéra**
- **Řešení**
 - **příprava příjemce přenosem kmenových buněk kostní dřeně**
 - **universální ESC**
 - **ESC „na míru“ přenos genů pro MHC**
 - **široký sortiment ESC**
 - **terapeutické klonování**

První klinické zkoušky léčby buňkami z hESC

- 2009 - americká firma Geron
- Léčba poraněné míchy
progenitorovými buňkami dendrocytů
- Obnova myelinizace
- Produkce růstových faktorů
- Obnova funkce neuronů

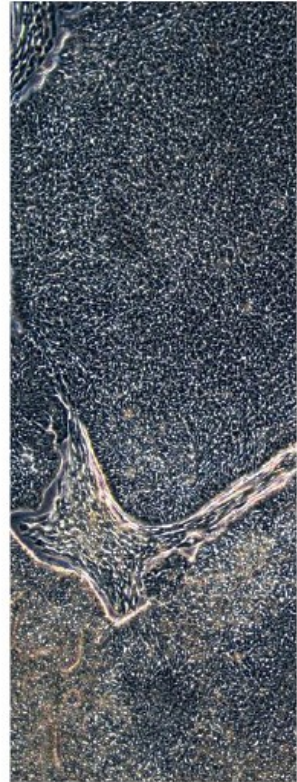
První klinické zkoušky léčby buňkami z hESC

Differentiation of Human Embryonic Stem Cells (hESCs)

Self-Renewing Source for the Scalable Manufacturing of Replacement Cells for Every Tissue in the Body

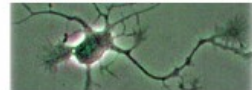
Undifferentiated hESCs

Human Embryonic Stem Cells (hESCs)



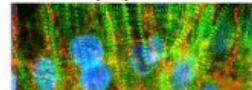
Differentiated Cell Types

Neural Cells



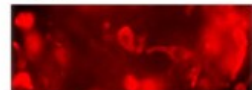
Spinal Cord Injury and Parkinson's Disease

Cardiomyocytes



Heart Failure

Islets



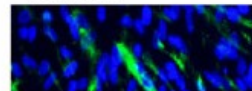
Diabetes

Dendritic Cells



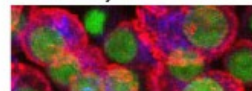
Tolerance Induction and Cancer Immunotherapy

Osteoblasts



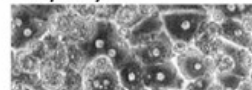
Osteoporosis and Bone Fractures

Chondrocytes



Arthritis

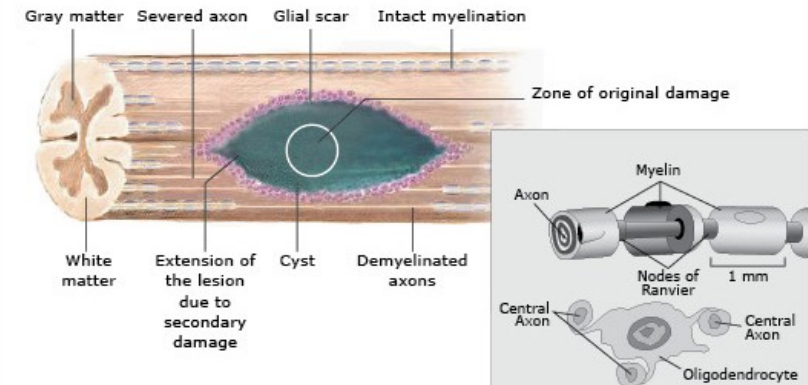
Hepatocytes



Drug Discovery and Liver Failure

Geron has developed proprietary processes to convert hESCs into therapeutic cells.

Spinal Cord Injury: Pathology at the Lesion



Prověrka bezpeřnosti lěčby buňkami z hESC

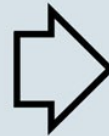
Conclusions from IND-Enabling Nonclinical Studies

24 Studies

1977 Rodents

**858 Injected with
GRNOPC1**

**5x10⁹ OPC1
Tested in Studies**



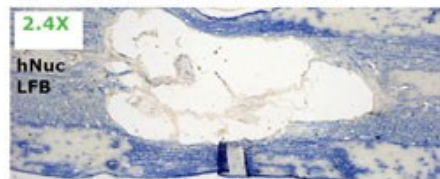
GRNOPC1

- *Survives in the Injured Spinal Cord*
- *Induces Myelination*
- *Produces Neurotrophic Factors*
- *Reduces Parenchymal Cavitation*
- *Improves Locomotor Activity*
- *Predominantly Neural Cell Types Observed*
- *Non-Neural Differentiated Cell Types Observed in Some Animals*
- *Does Not Produce Teratomas*
- *Does Not Induce Systemic Toxicity*
- *Does Not Induce Allodynia*
- *Does Not Increase Mortality*
- *Avoids Direct Allogeneic Immune Responses*

Myelinizace neuronů poraněné míchy - potkan

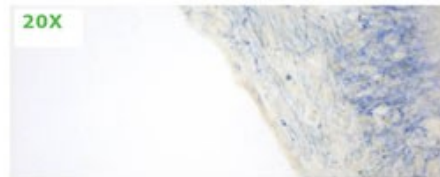
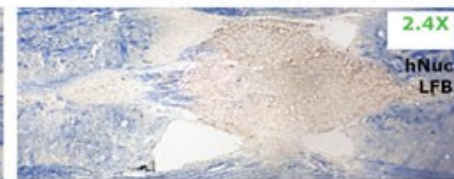
GRNOPC1 Induces Permanent Myelination in Spinal Cord Lesions of Rodents

9 Months After No Treatment

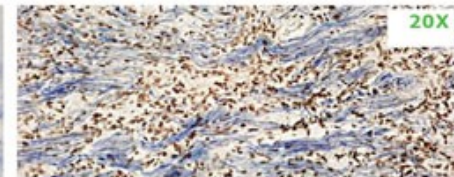


(Damaged Zone)

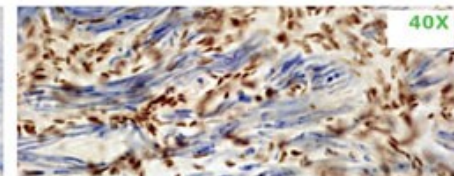
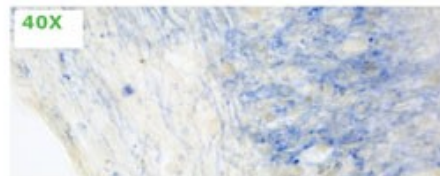
9 Months After GRNOPC1 Treatment



(Loss of Neurons and Myelin)



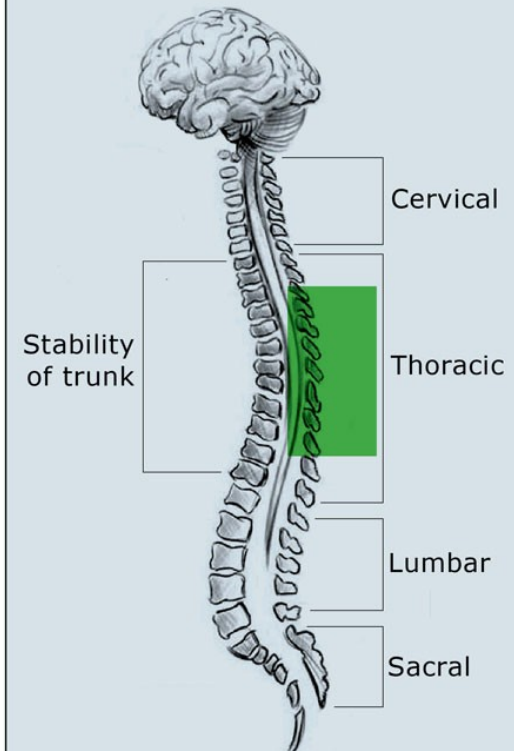
(Myelinated Rat Axons)



První zkoušky

GRNOPC1 Phase 1 Multi-Center Spinal Cord Injury Trial

- **Open Label Trial**
- **Subacute, Functionally Complete Spinal Cord Injury with a Neurological Level of T3 to T10**
- **2×10^6 Cells**
- **Transplant 7-14 Days Post Injury**
- **Temporary Immunosuppression with Low Dose Tacrolimus**
- **Primary Endpoint: Safety**
 - *Neurological*
 - *Overall*
- **Secondary Endpoint: Efficacy**
 - *ASIA Sensory Score*
 - *Lower Extremity Motor Score*



Produkce prekursorových buněk

- Testy zastaveny 2011

*Geron's Fully Qualified and Licensed
GMP Manufacturing Suite*

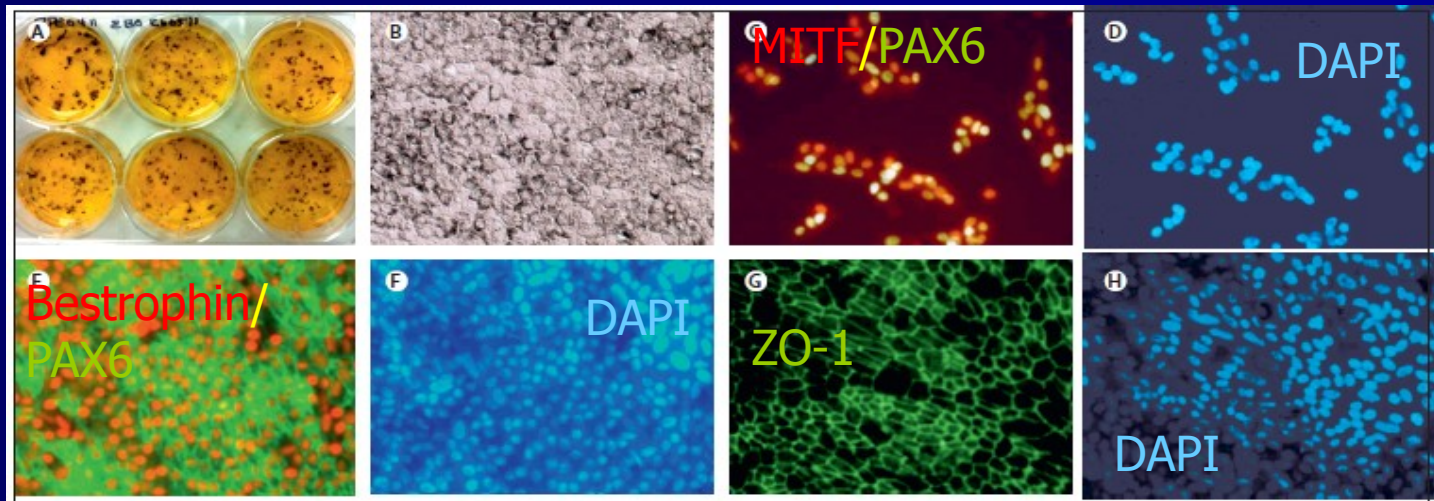


*Frozen GRNOPC1
Manufactured Product*



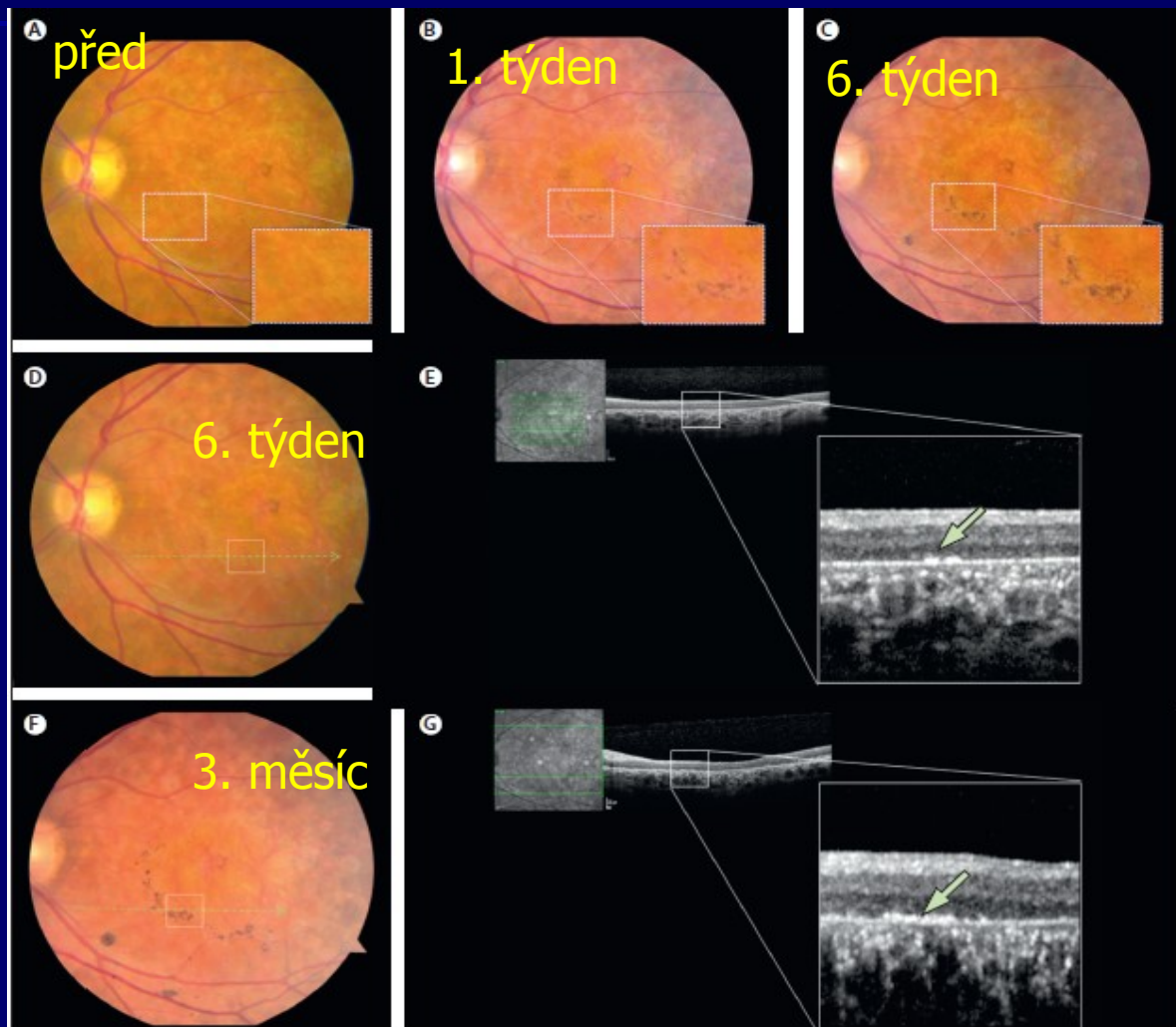
Léčba makulární degenerace

- Kultivace pigmentovaných buněk sítnice z lidských ESC



Léčba makulární degenerace

Pigmentovné buňky sítnice po transplantaci přežívají, množí se a funkčně se zapojily do sítnice



Léčba makulární degenerace

- Průkazná obnova zraku operovaného oka



| | BCVA | ETDRS (number of letters) |
|---------------------|------------------|------------------------------|
| Fellow eye | | |
| Baseline | Hand motion | 0 |
| 1 week | Hand motion | 0 |
| 2 weeks | Hand motion | 0 |
| 3 weeks | Hand motion | 0 |
| 4 weeks | Hand motion | 0 |
| 6 weeks | Hand motion | 0 |
| 8 weeks | Hand motion | 0 |
| 12 weeks | Hand motion | 0 |
| Operated eye | | |
| Baseline | Hand motion | 0 |
| 1 week | Counting fingers | 0 |
| 2 weeks | Counting fingers | 1 |
| 3 weeks | Counting fingers | 3 |
| 4 weeks | 20/800 | 5 |
| 6 weeks | 20/800 | 5 |
| 8 weeks | 20/800 | 5 |
| 12 weeks | 20/800 | 5 |

hESC–human embryonic stem cells. RPE–retinal pigment epithellum. BCVA–best corrected visual acuity. ETDRS– Early Treatment Diabetic Retinopathy Study visual acuity chart.

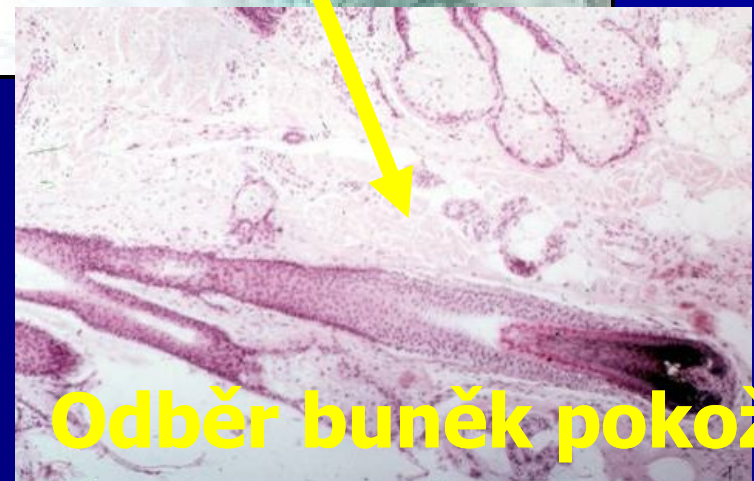
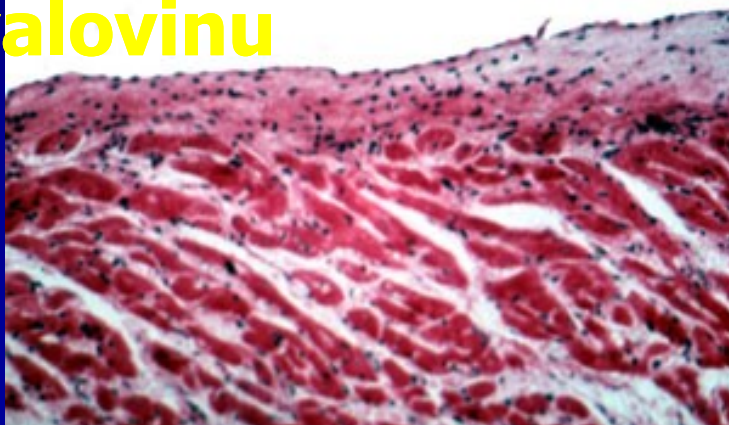
Table: Change in visual acuity after hESC-RPE transplantation in patient with Stargardt's macular dystrophy

Terapeutické klonování

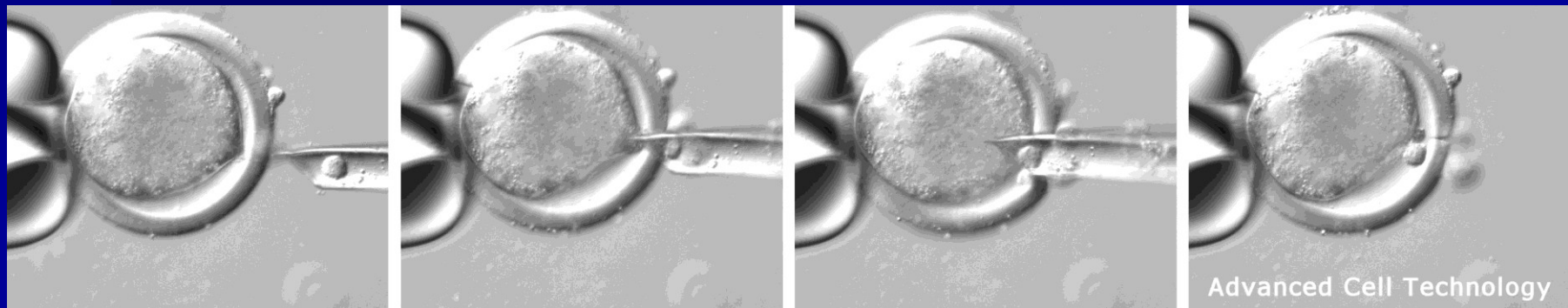
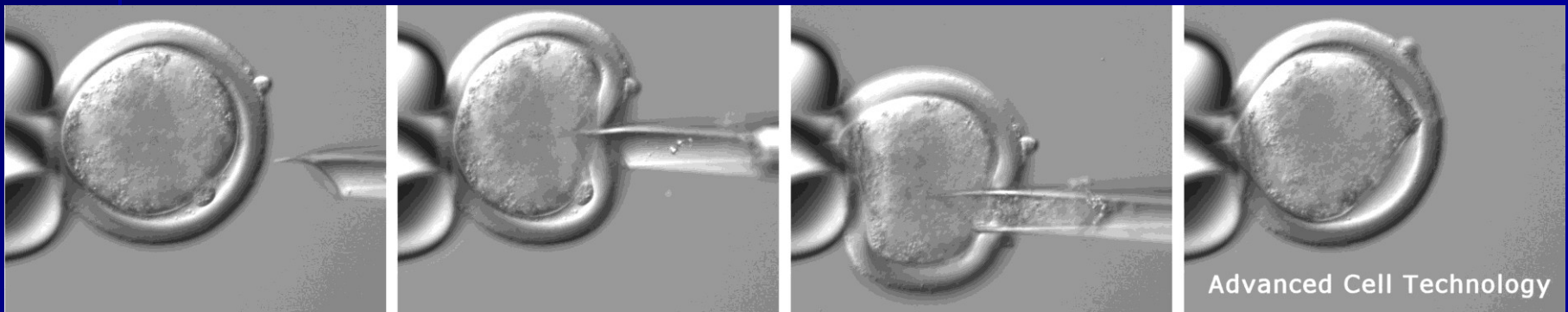
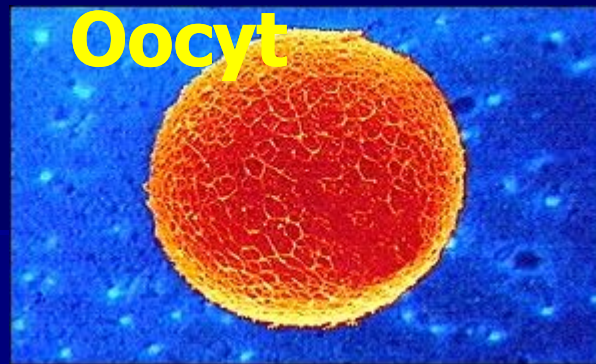
Pacient



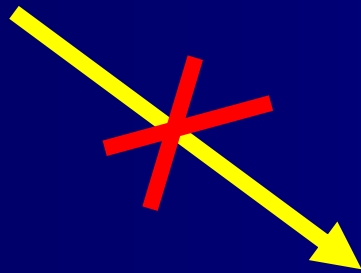
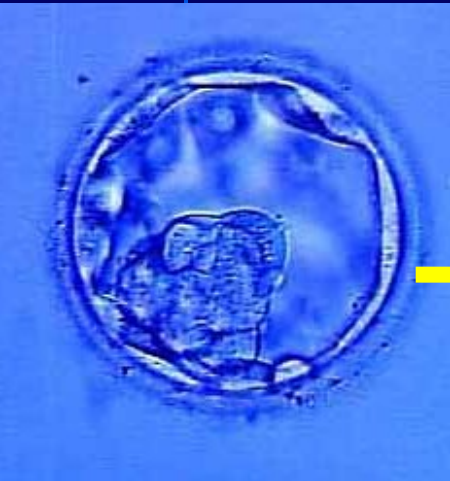
Potřebuje srdeční svalovinu



Odběr buněk pokožky



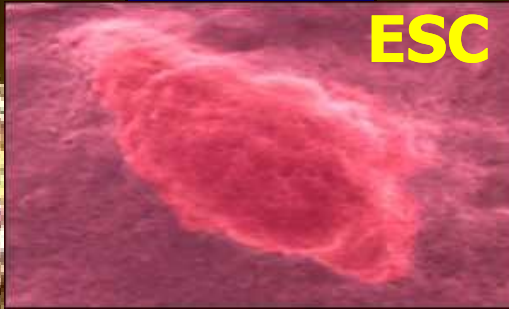
Embryonální kmenové buňky



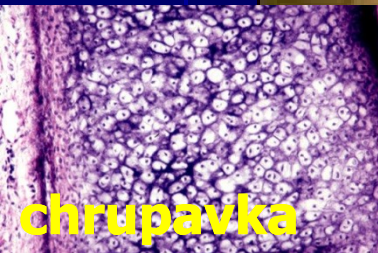
Diferenciace



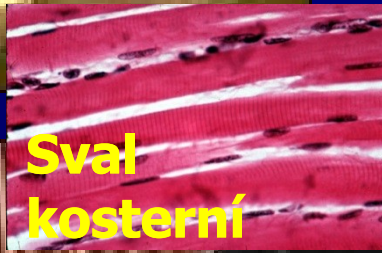
ESC



Diferenciace



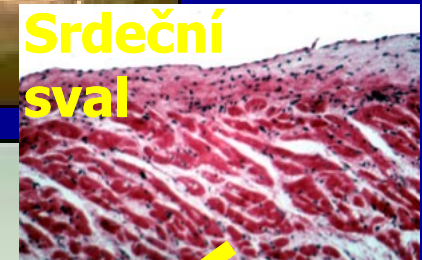
chrupavka



**Sval
kosterní**



**Langerhansovy
ostrůvky**

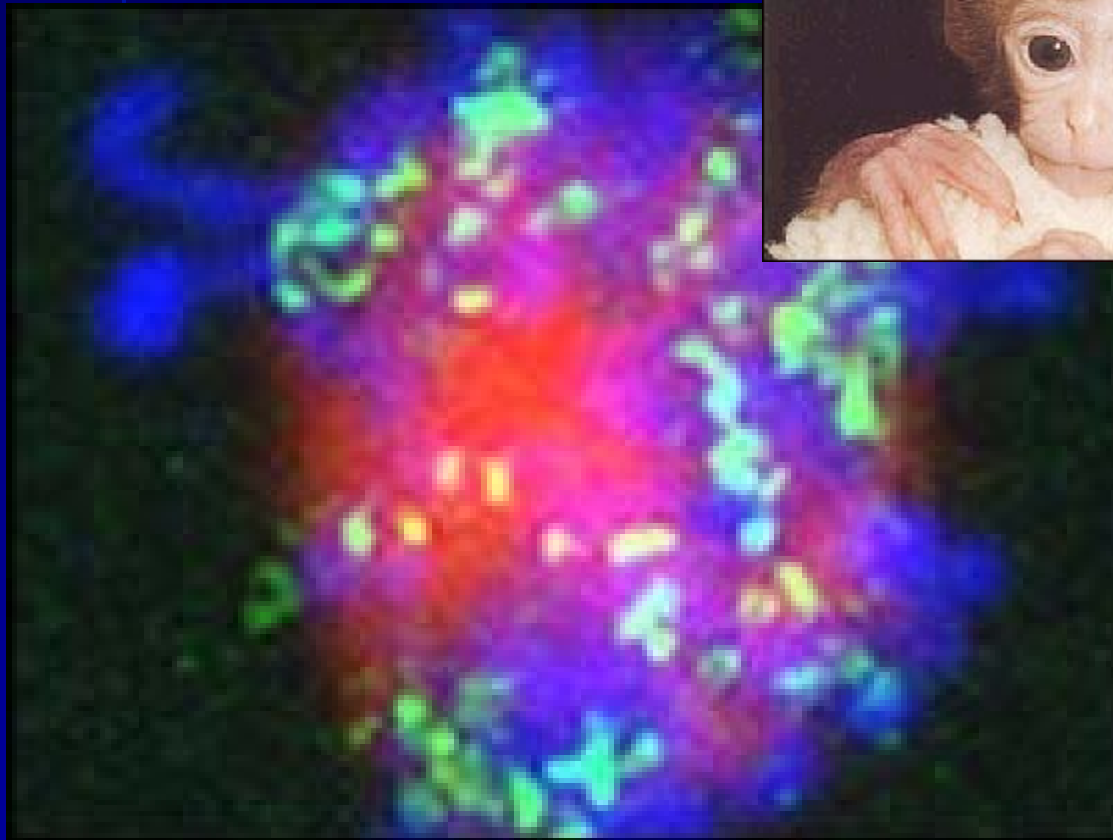


**Srdeční
sval**



Pacient

Makak nejde klonovat. Půjde člověk?



Gerald Schatten

Korejsko-americký tým Národní universita Soul

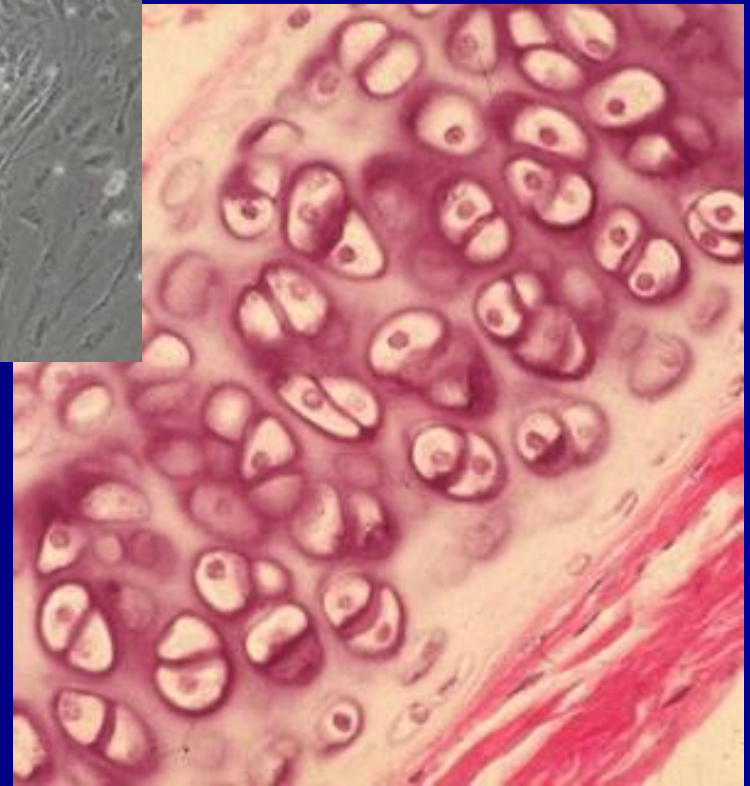
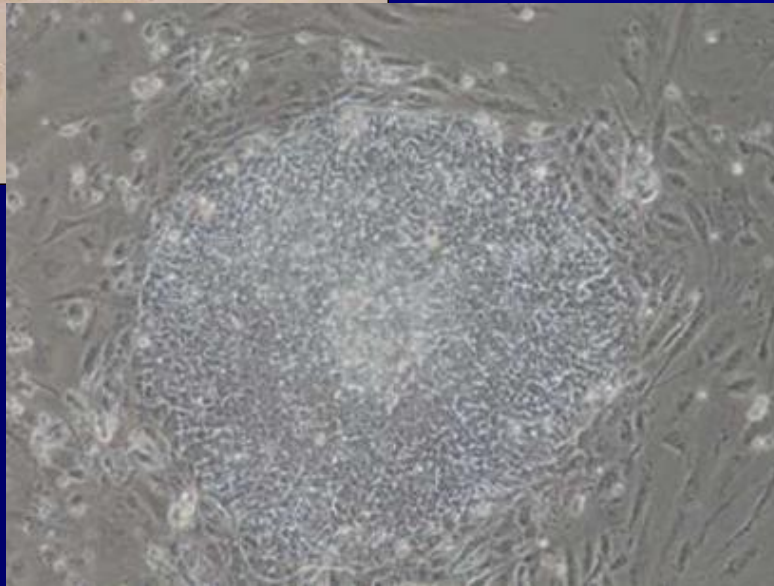
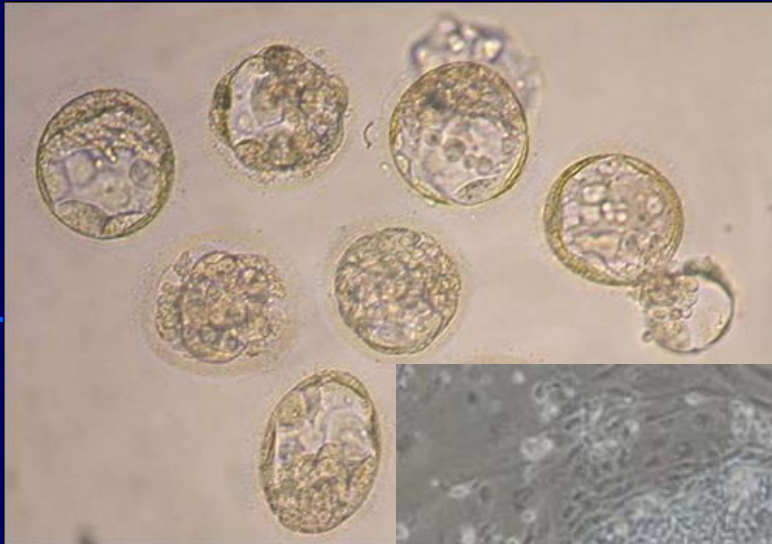


Woo Suk Hwang



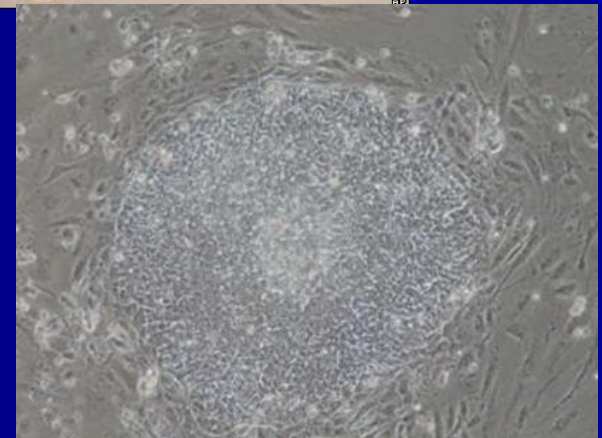
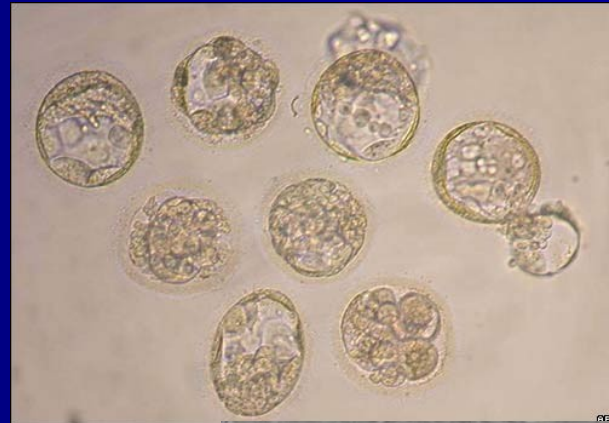
José Cibelli

Únor 2004



Květen 2005

– zvýšena účinnost
(až 100%)



Listopad 2005 - skandál dárcovství vajíček



Woo Suk Hwang
National Soul University

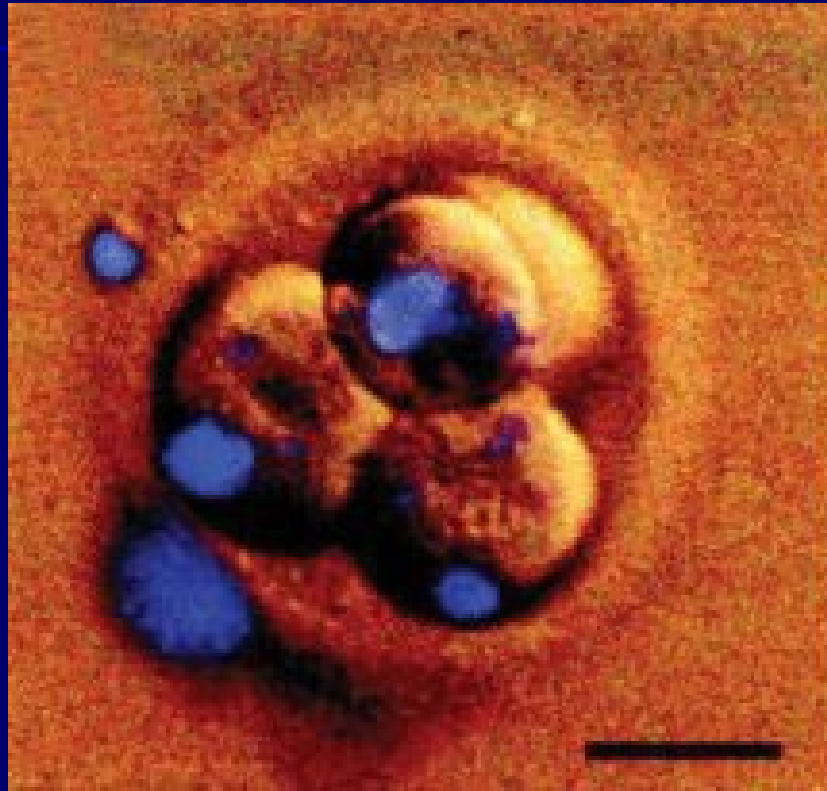


Sung Il Roh
Klinika MizMedi

Show must go on!



Listopad 2001 - ACT



**Pokus o terapeutické klonování
Fiasko**

2007 – ESC z embrya NTSC - makak

- 304 oocytů
- 35 blastocyst
- 2 linie ESC
- Vyšší účinnosti dosaženo šetrnějším nakládáním s oocyty a embryi
- Nebarví se chromatin pro enukleaci oocytu

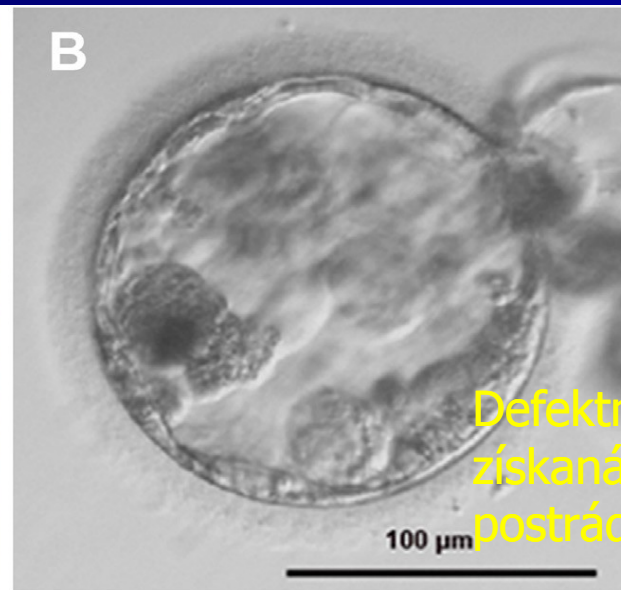
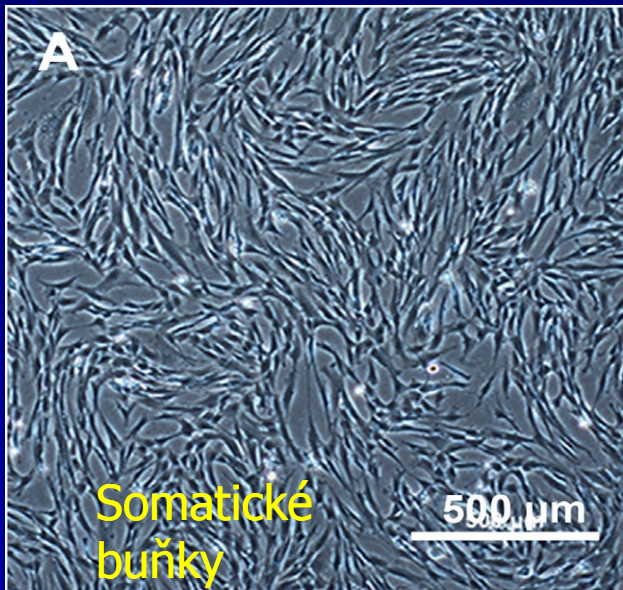
Shoukrat Mitalipov
Oregon National
Primate Research
Center



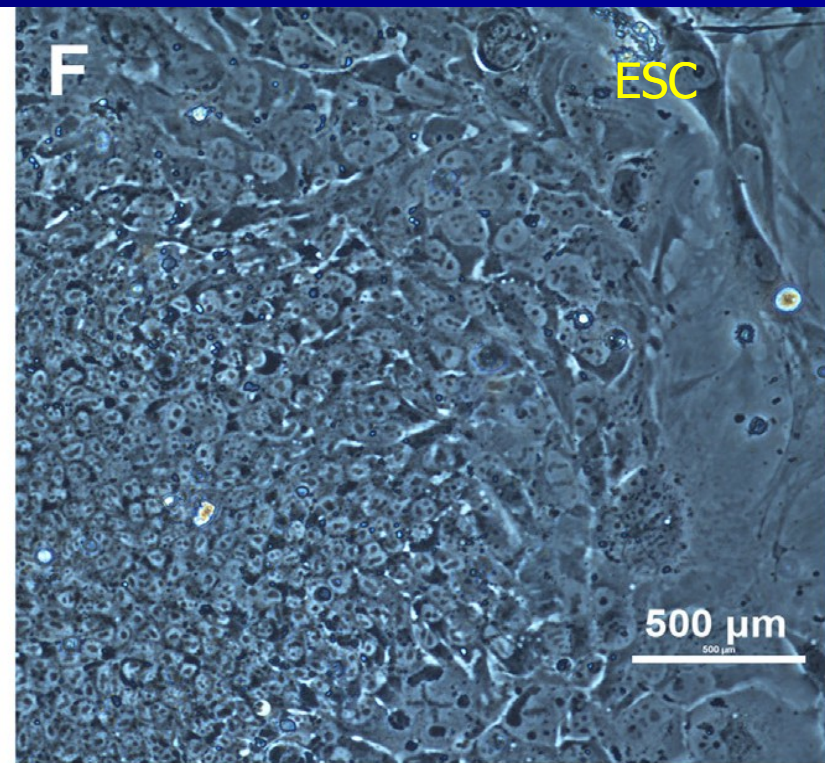
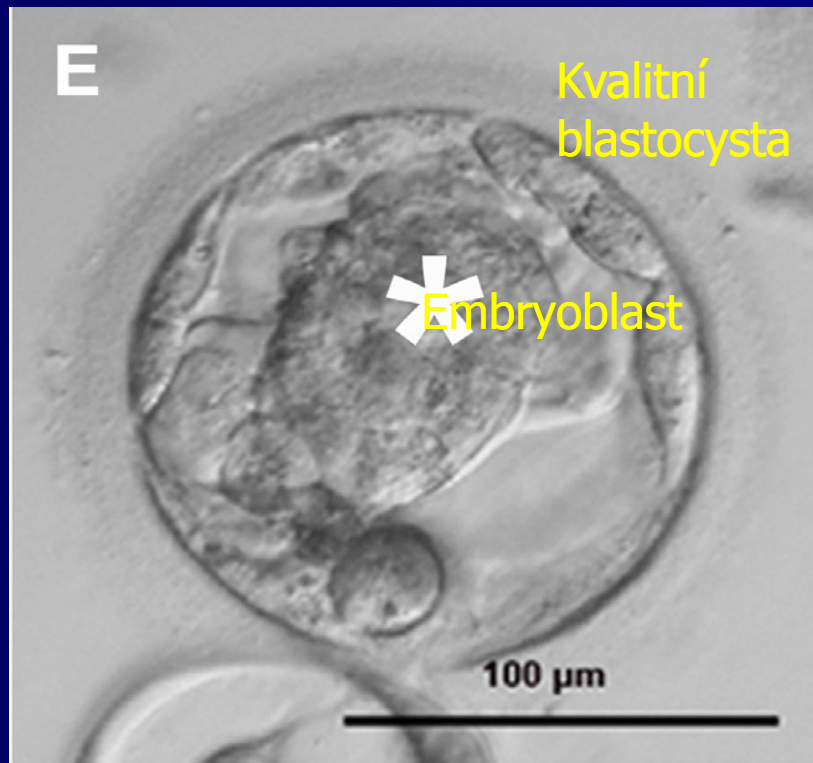
ESC z embrya NTSC - člověk

Tachibana et al. Cell (2013)

Shoukhrat Mitalipov
Oregon National
Primate Research
Center

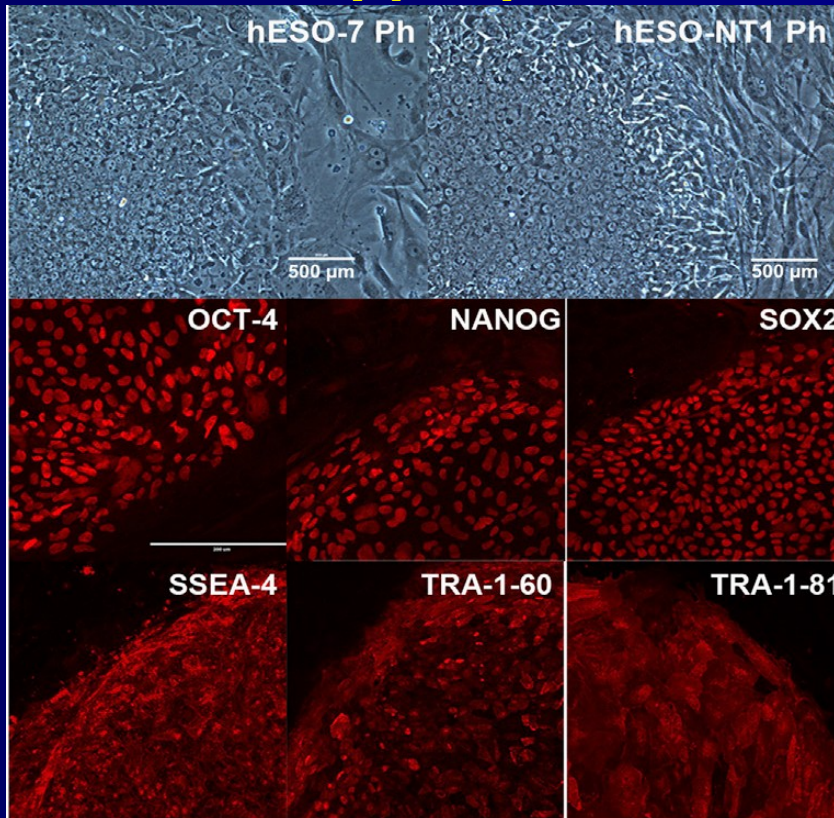


ESC z embrya NTSC - člověk

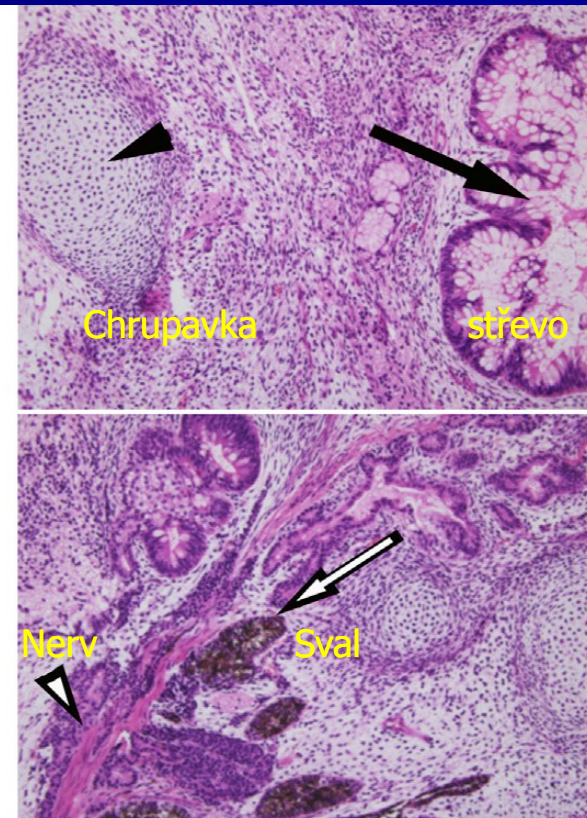


ESC z embrya NTSC - člověk

Markery pluripotence



TERATOMY



Cybridy

- Embryo je vytvořeno přenosem jádra lidské somatické buňky do oocyty cizího druhu (myš, králík, skot)
- Omezený vývoj embrya
Myš – blok vývoje ve 2 blastomerách
Králík, skot – blok vývoje v 8-16 blast.
- Velké poruchy v expresi genů
Výrazné odchylky v expresi 2 – 3 tis. genů
Jen výjimečně exprese nanog, Oct-4, Sox-2

Indukované pluripotentní kmenové buňky



Shinya Yamanaka

John Gurdon

- Nobelova cenu za fyziologii a medicínu 2012

Indukované pluripotentní kmenové buňky

- Indukovaná exprese vybraných transkripčních faktorů



Oct3/4
Sox2
c-Myc
Klf4

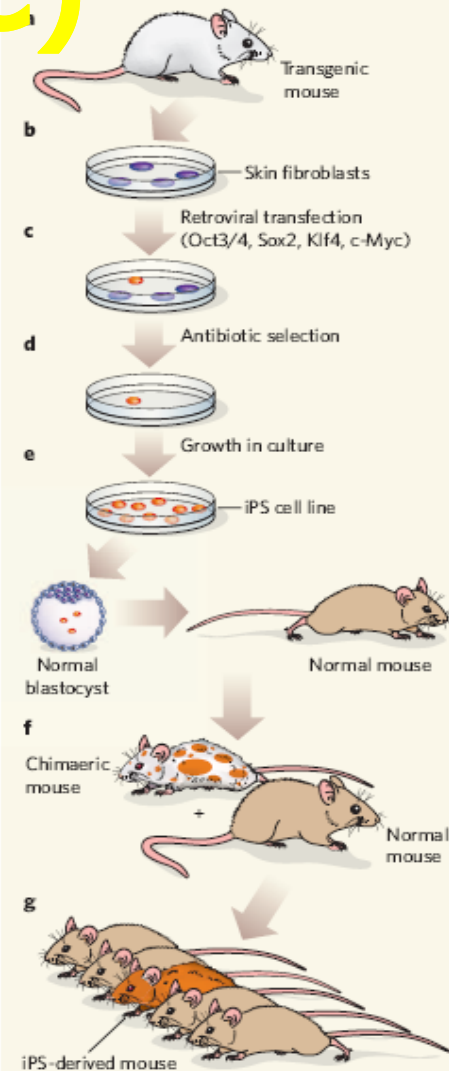
nikoli
Nanog



? c-Myc aktivní v řadě typů nádorových buněk ?

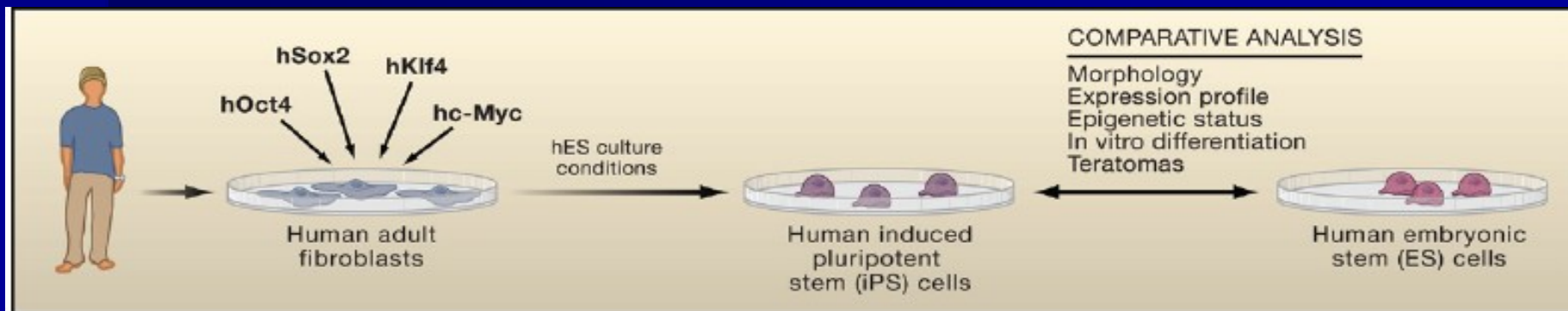
Indukované pluripotentní kmenové buňky (iPSC)

- Po vnesení do blastocysty vytvoří se chiméra
- iPSC diferencují na všechny tkáně
- U 20% chimér - nádory pocházející z iPSC



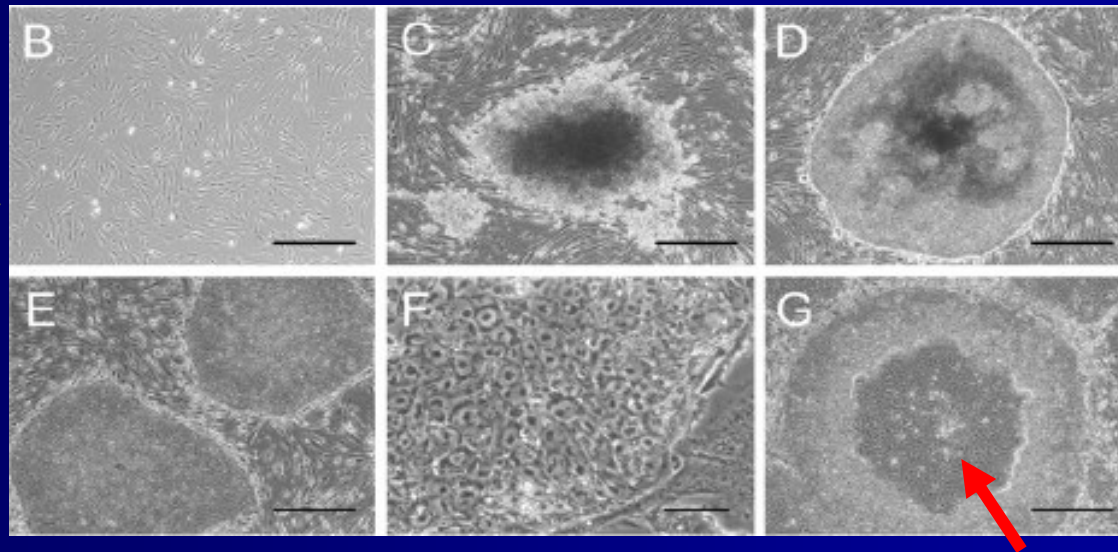
2007 - zopakováno u lidských somatických buněk

- Retrovirové vektory
- Vneseny geny pro transkripční faktory



Vznik indukovaných pluripotentních buněk iPC

Kožní
buňky

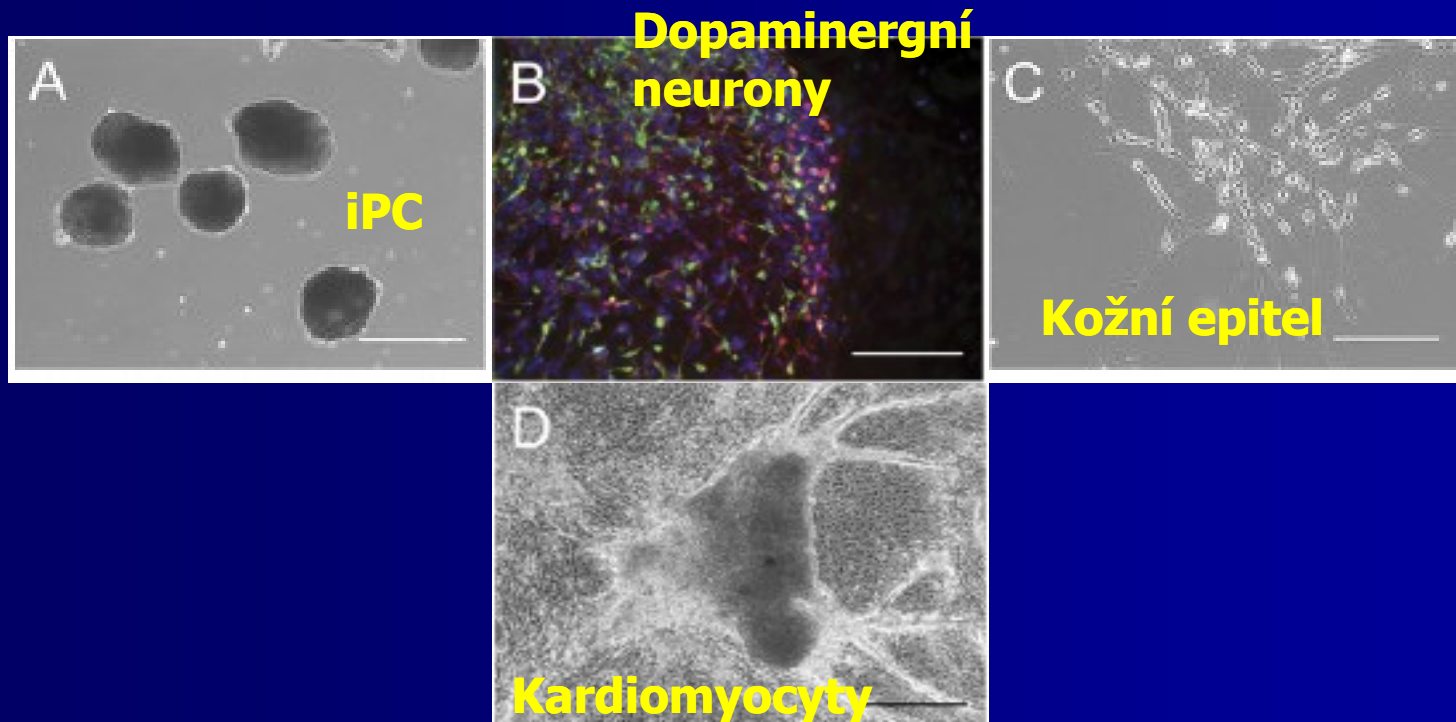


iPC

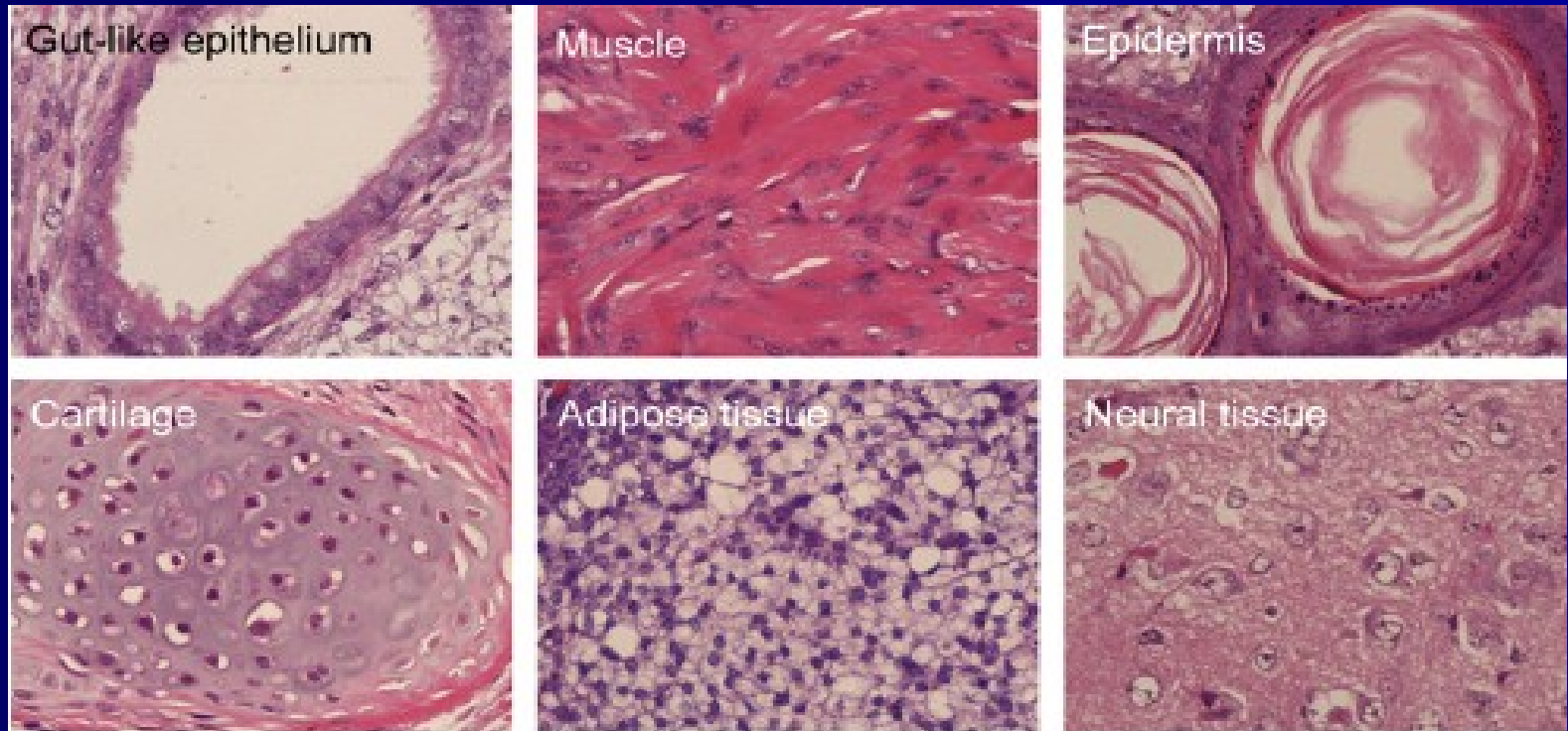
Větší
zvětšení

Spontánní
diferenciace

Řízená diferenciace iPC



Teratomy z lidských iPC ve varleti myši



Může pomoci náhrada onkogenu c-Myc za gen Wnt

Lidské iPSC

James Thomson
University of Wisconsin

- Retrovirové vektory
- Přenos transkripčních faktorů
OCT4, SOX2, NANOG a LIN28



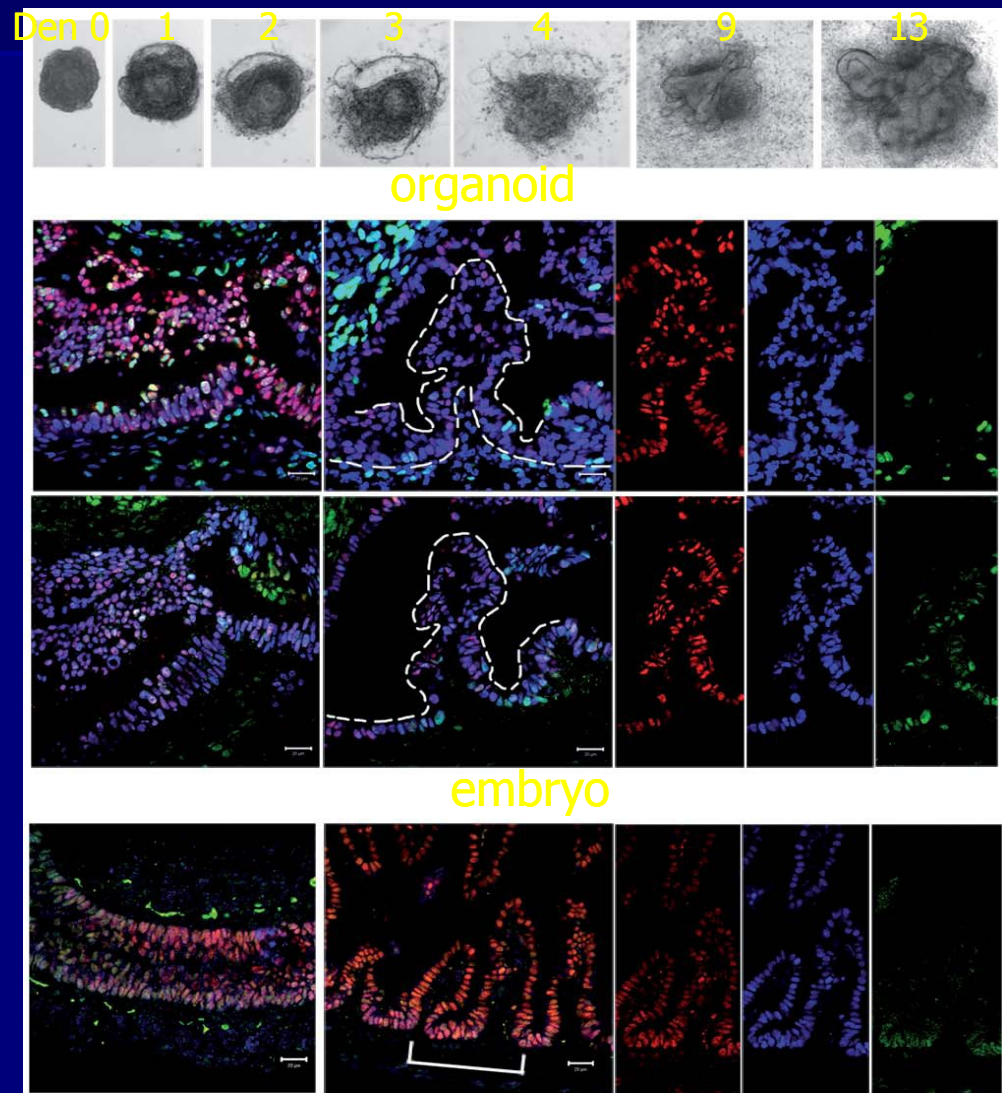
Obešel se bez c-MYC, který indukuje
nádorové bujení

Pro tvorbu iPC lze použít různé
kombinace transkripčních faktorů

Řízená diferenciaci iPSC

Tkáň tenkého střeva

- Zajištění exprese genů klíčových pro vývoj střeva v přesně určené sekvenci
- In vitro vznik útvaru s markery a morfologií tenkého střeva



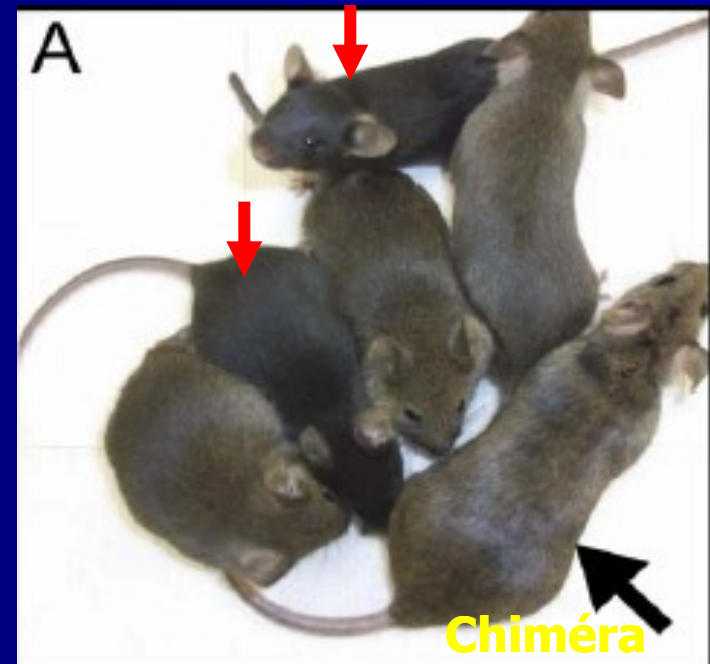
Mládě dvou samců

- Tvorba iPSC z fibroblastu samce
- Selekcce linie buněk, které ztratily Y chromozom (XO)
- Přenos XO iPSC do samicí blastocysty

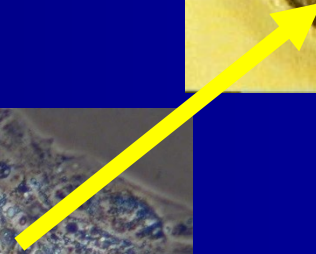
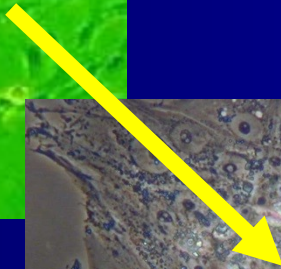
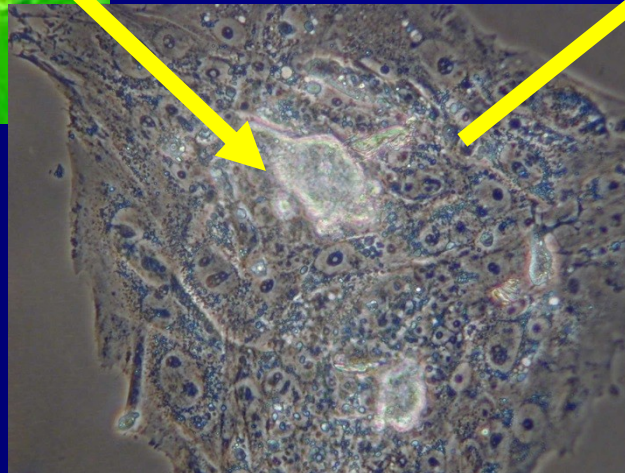


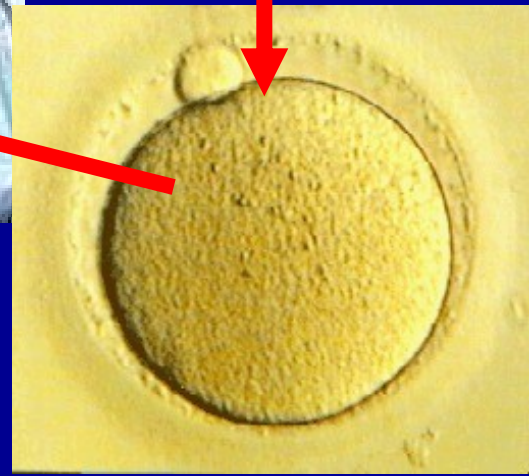
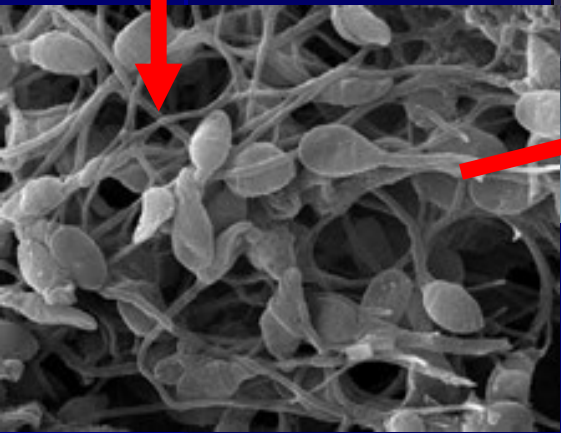
Mládě dvou samců

- Vznik chiméry s dvěma populacemi oocytů
- Páření chiméry samcem
- Potomci nesou dědičnou informaci dvou samců



Potenciálně využitelné u člověka

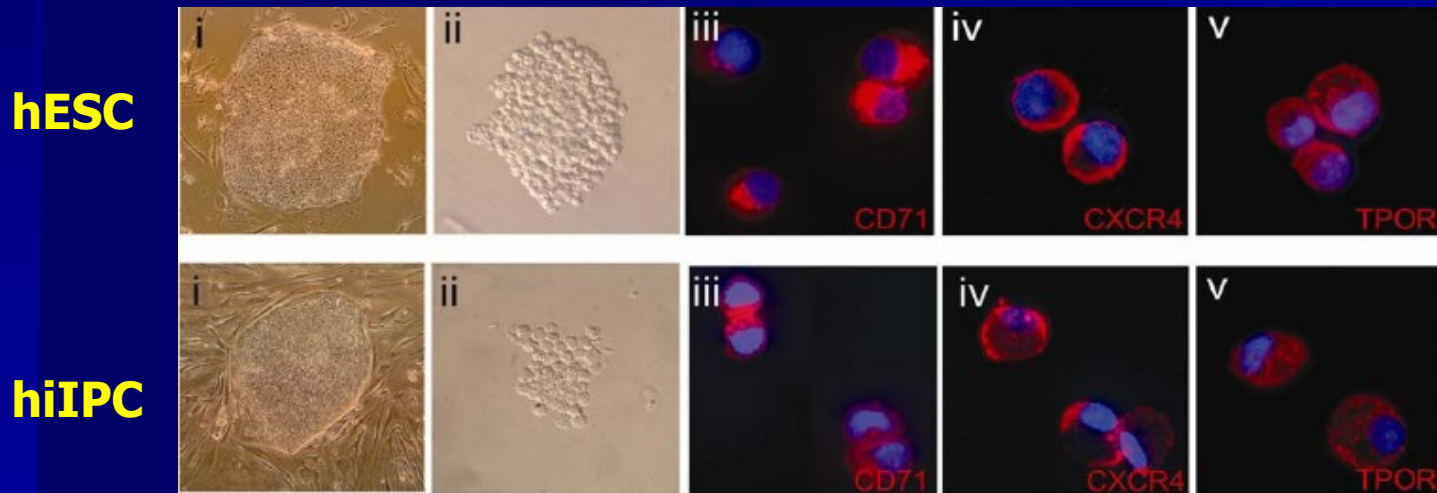




Porovnání potenciálu hESC a hiPSC

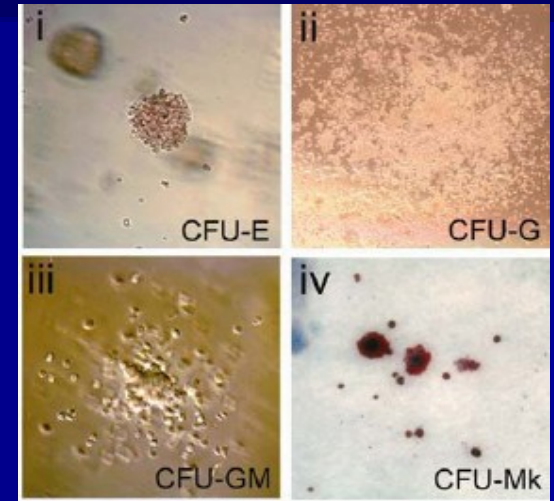
Diferenciace na buňky, z nichž se tvoří
cévy a krvinky

Rovnocenná u buněk z ESC a iPSC

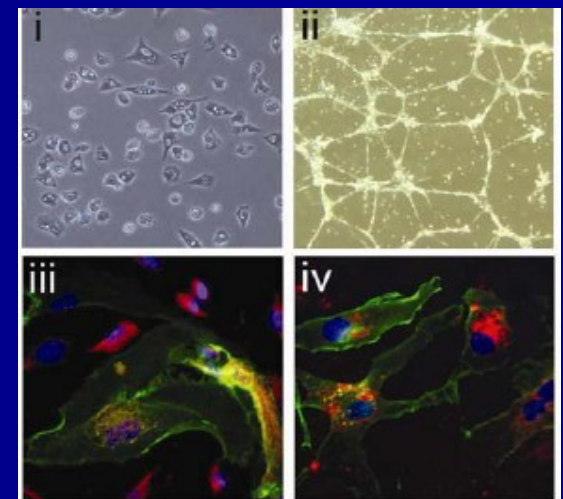


Porovnání potenciálu hESC a hiPSC

Krветvorné buňky z iPSC



Cévy z iPSC

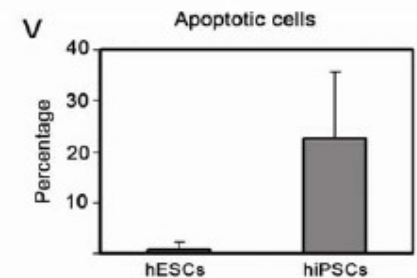
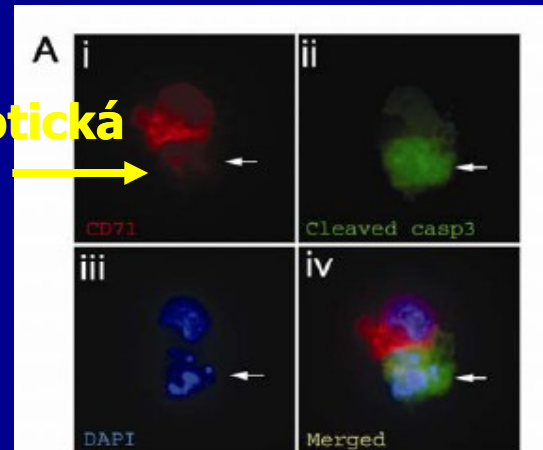


Porovnání potenciálu hESC a hiPSC

Buňky z hiPSC
mnohem náchylnější k apoptóze

Angiogenní marker –
Kaspáza 3 +
Fragmentace jádra +

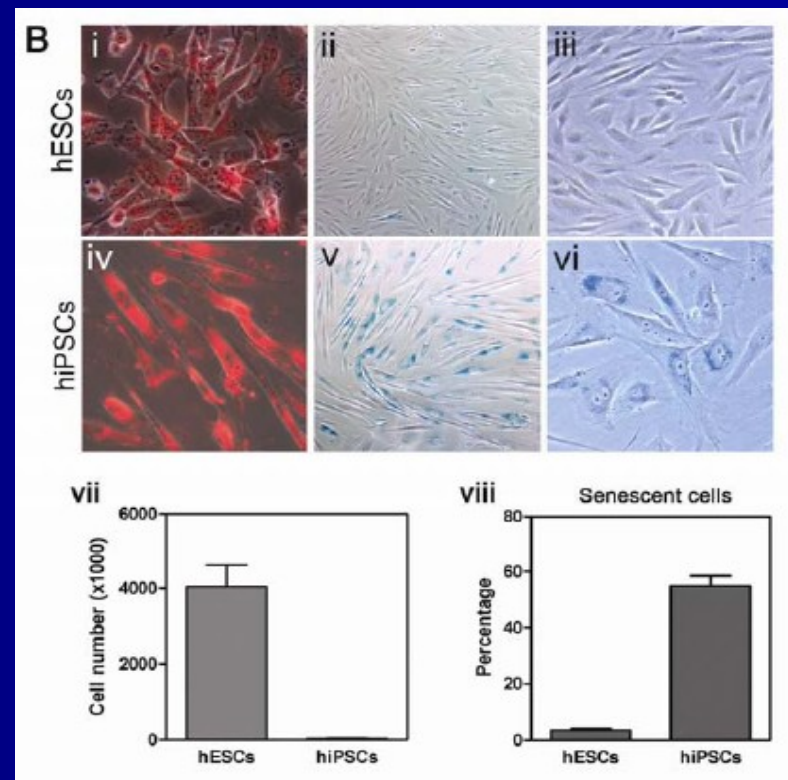
Apoptotická
buňka →



Porovnání potenciálu hESC a hiPSC

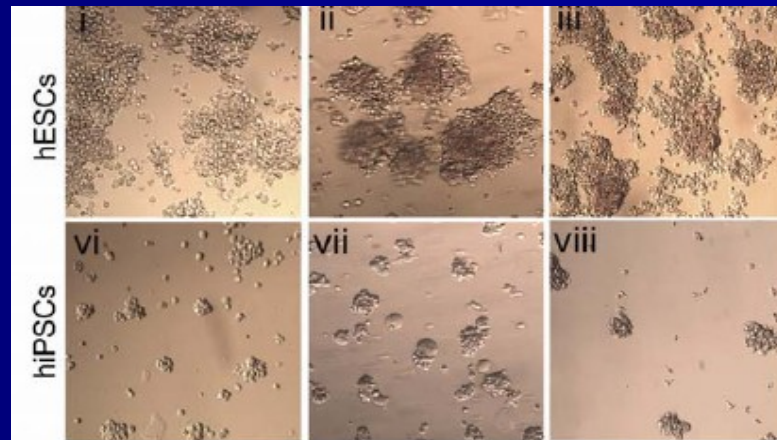
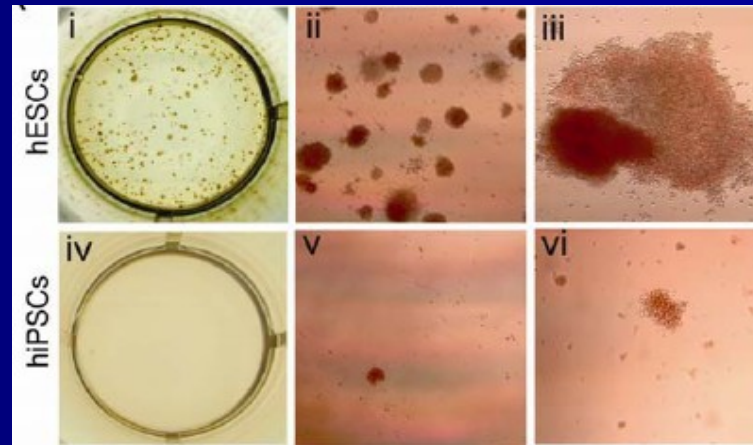
Buňky z hiPSC

Omezené dělení
Progresivní stárnutí



Porovnání potenciálu hESC a hiPSC

Množení buněk
diferencovaných
na erytrocyty



Imunologicky univerzální lidské iPSC

Vytvoření linie iPSC

- náročné, zdlouhavé, nízká úspěšnost

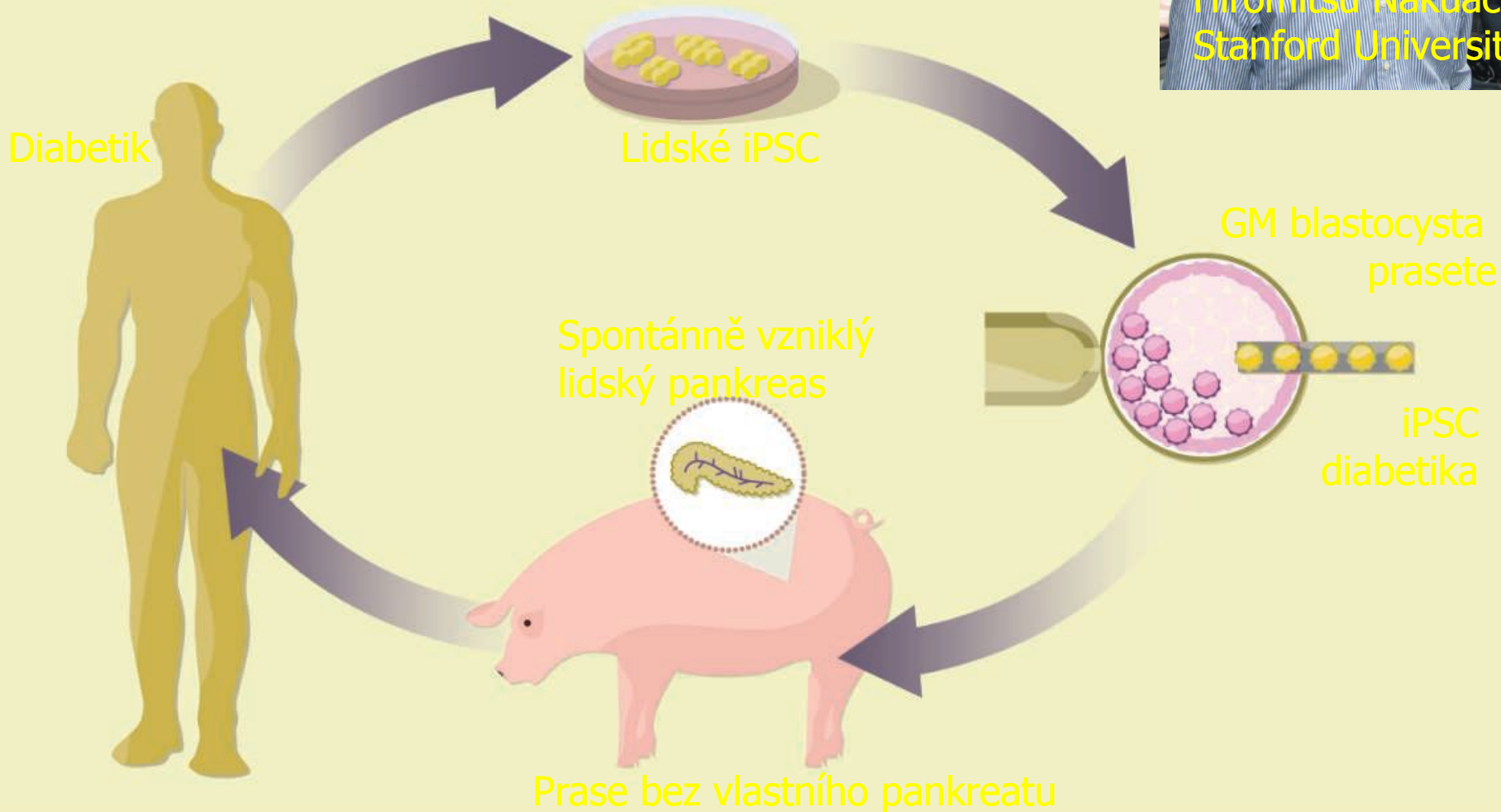
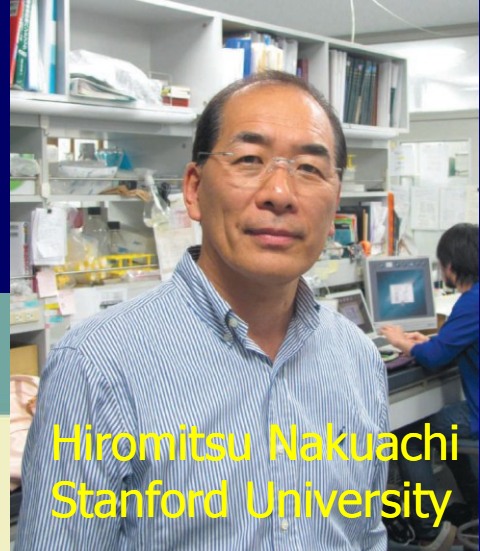
Univerzální linie

- Delece genů nutných pro expresi MHC 1 a MHC 2 (B2M a CIIT)
- Likviduje je imunitní systém - NK cells
- Zvýšení exprese genu CD47
 - rezistence k NK cells

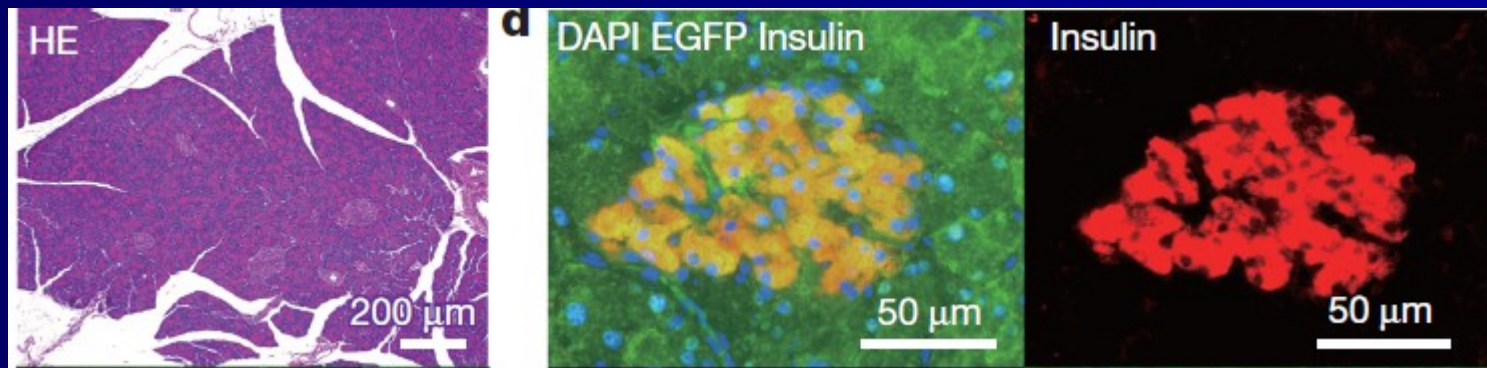
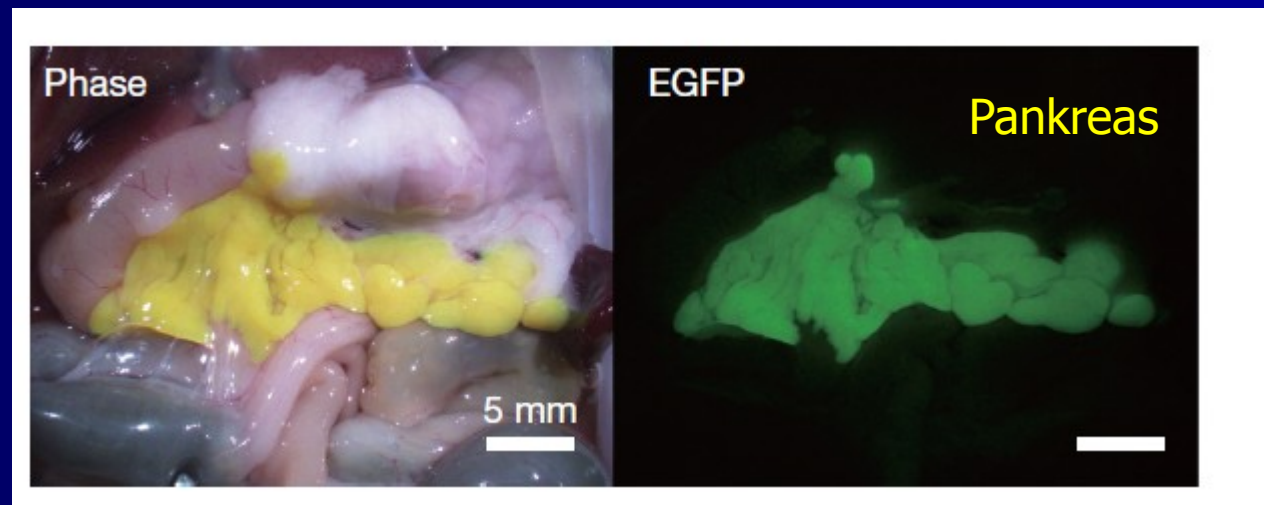
Imunologicky univerzální lidské iPSC

- Přenos modifikovaných h iPSC myším s humanizovaným imunitním systémem
- Bez imunitní reakce.
- Diferenciace na kardiomyocyty
- Přenos myším s humanizovaným imunitním systémem – bez reakce

Orgány z lidsko-prasečí chiméry

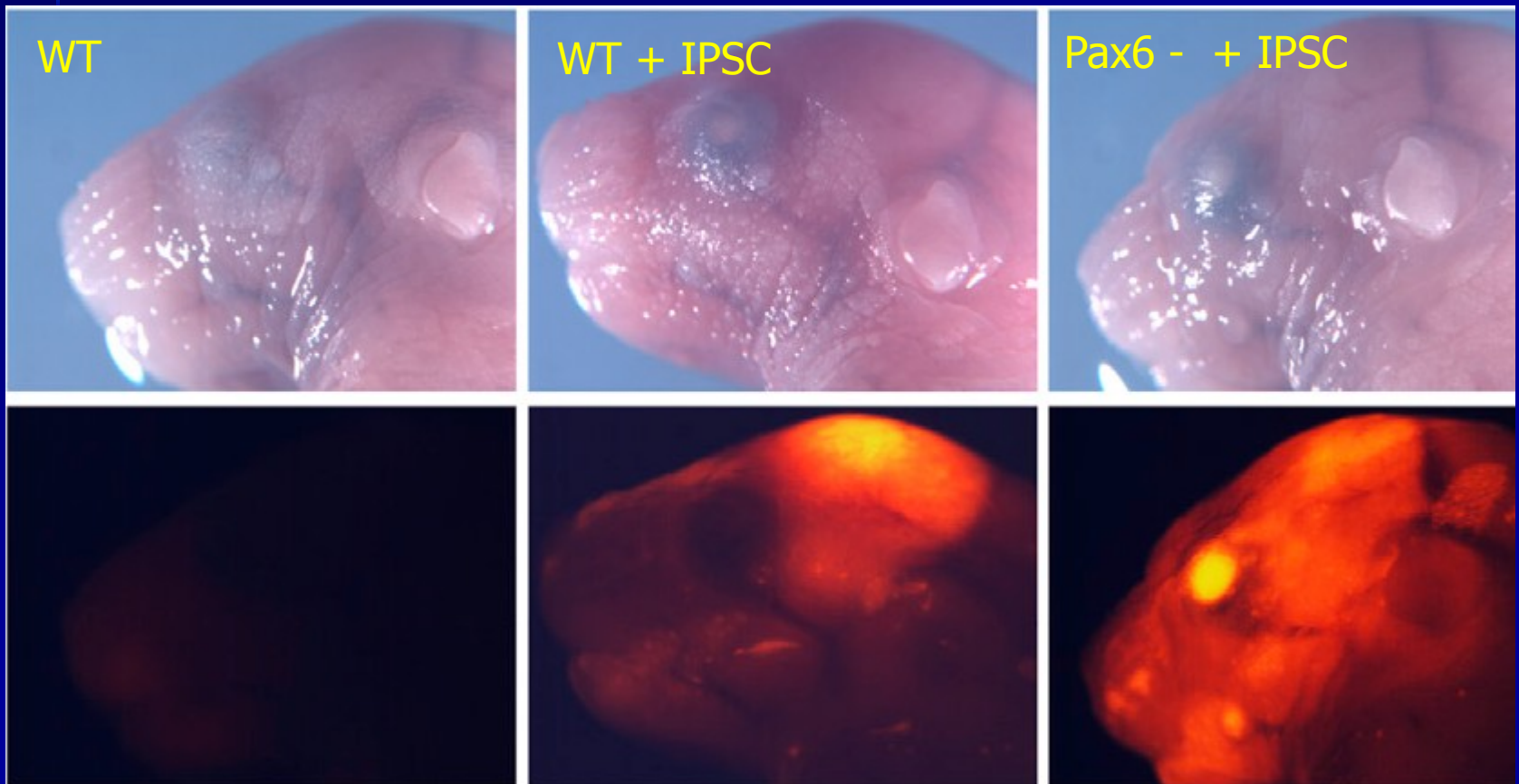


Potkan PDX1- s IPSC myši



Oko z IPSC

- Blok gen Pax6 + přenos IPSC potkana



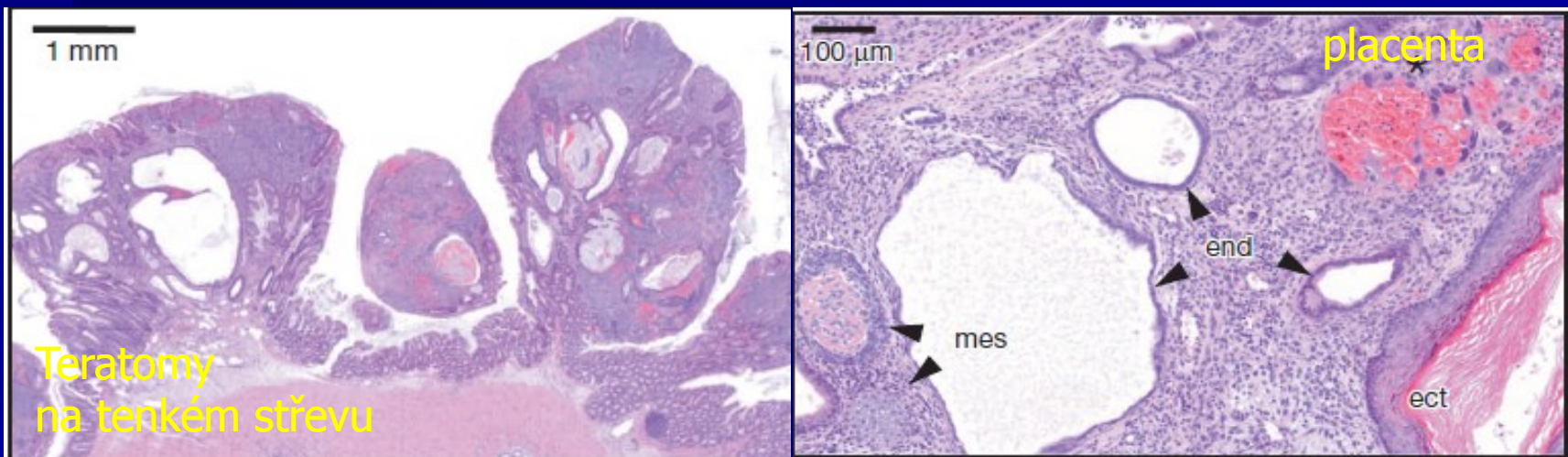
Exprese rediferenciačních faktorů in vivo

- Pokud jsou geny Oct4, Sox2, c-Myc, Klf4 aktivovány in vivo (v buňkách v těle zvířete) dochází ke spontánnímu vzniku teratomů



Exprese rediferenciačních faktorů in vivo

- In vivo dochází k rediferenciaci na totipotentní buňky.
- V teratomech se objevují i buňky placenty.



Korigovaná exprese in vivo - omlazení

- Krátkodobá
cyklická exprese

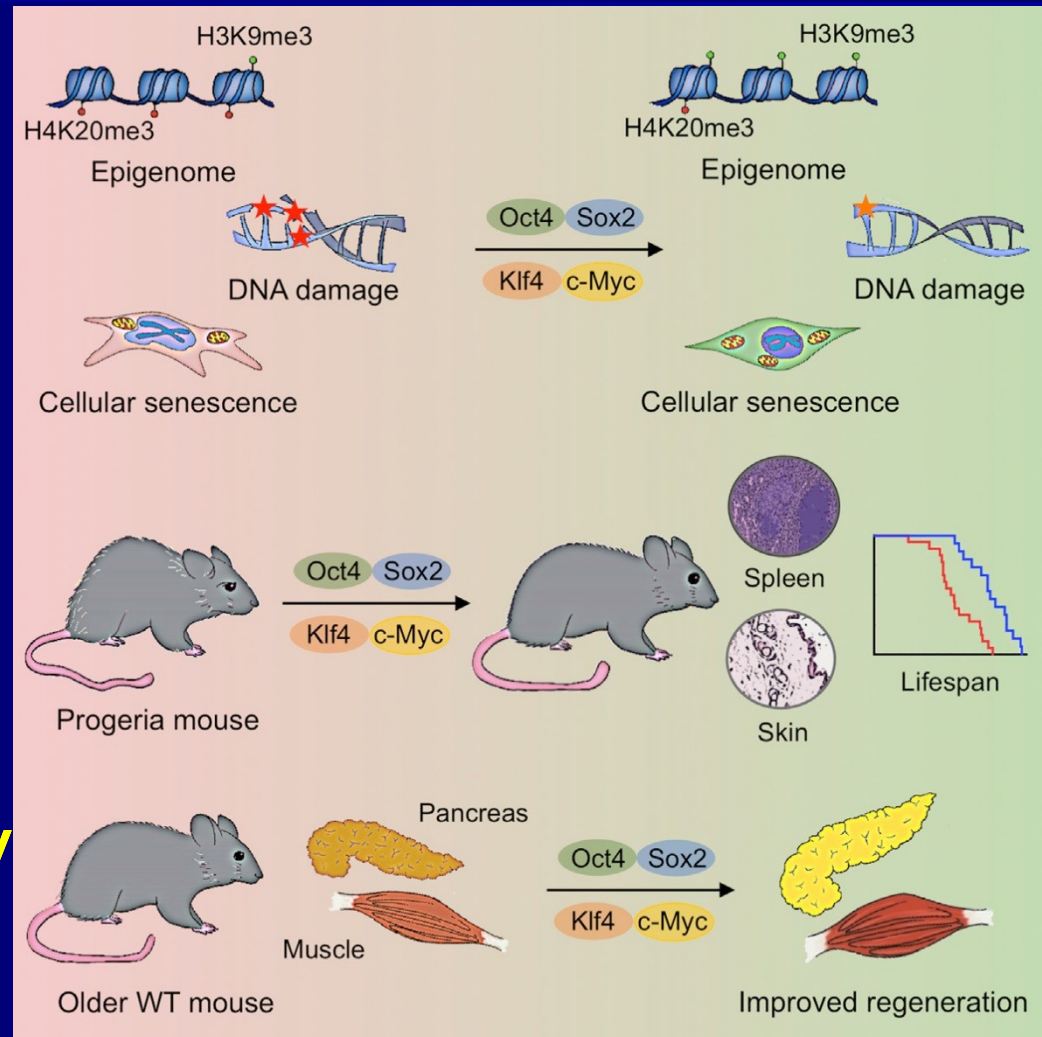
Oct4

Sox2

Klf4

c-Myc

- Epigenetické změny



Korigované exprese in vivo - omlazení

Myši s dědičnou progerií

- Zlepšení zdravotního stavu
- Prodloužení života



Progerie

Progerie + faktory

WT

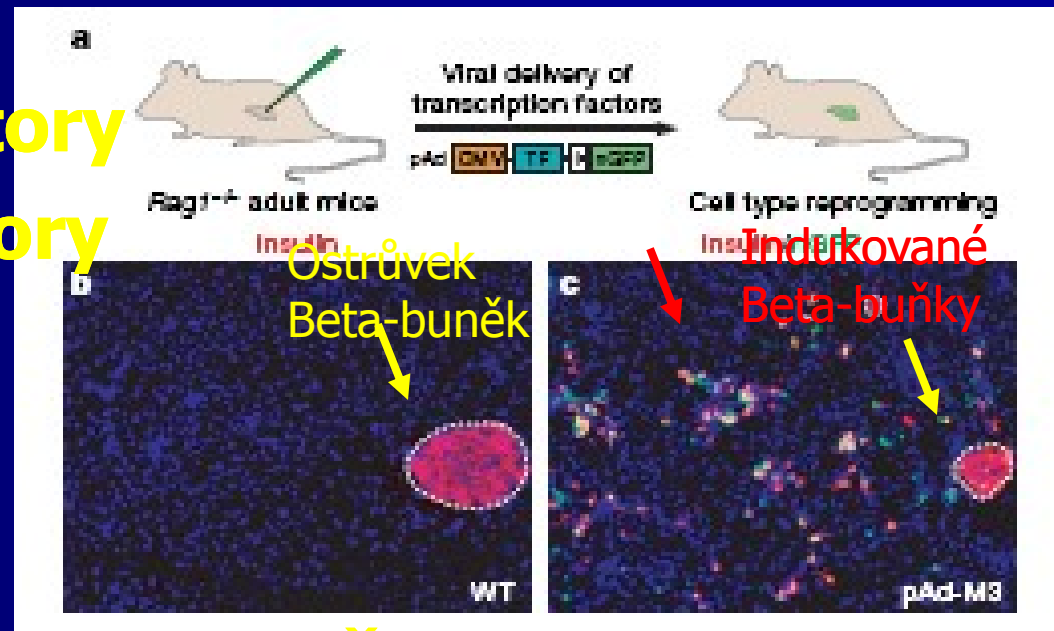
Korigované exprese in vivo - omlazení

Myši s dědičnou progerií
Zlepšený stav orgánů



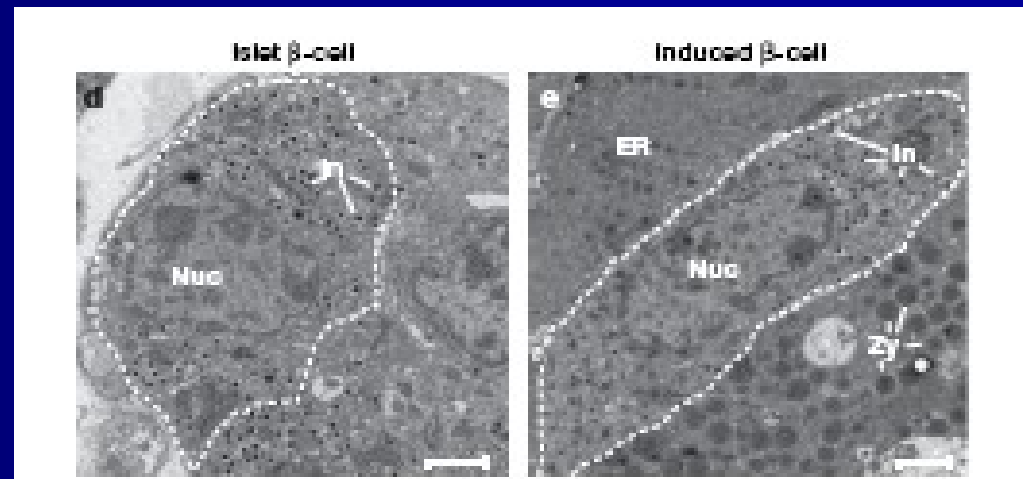
Rediferenciace buněk in vivo

- **Adenovirové vektory**
- **Transkripční faktory**
 - Neurog3
 - Pdx1
 - Mafa
- **Rediferenciace na beta-buňky**
- **Indukce tvorby inzulinu**



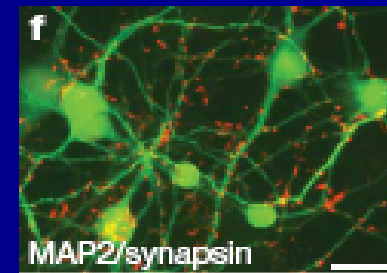
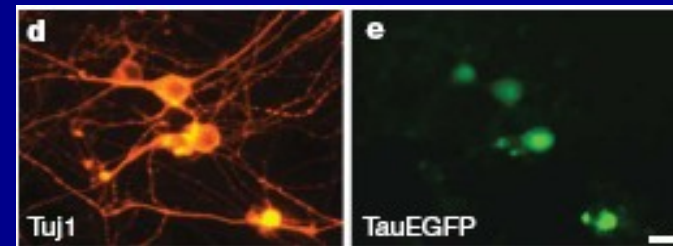
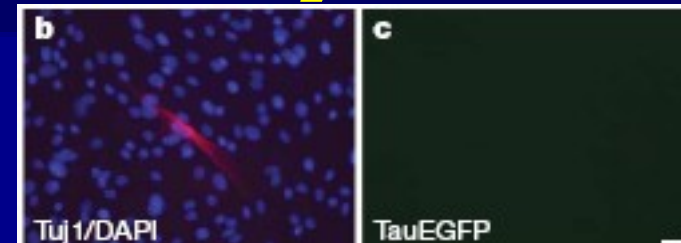
Rediferenciace buněk in vivo

- Indukované buňky jsou morfologicky i fyziologicky neodlišitelné normálních beta-buněk



Přímá rediferenciace fibroblastů na neurony

- Fetální fibroblasty
- Transfekce 3 geny
transkripční faktory *Ascl1*, *Brn2*, *Myt1l*
- Diferenciace na neurony
- Neurony jsou funkční
tvoří synapse



Přímá diferenciaci fibroblastů srdce na kardiomyocyty

Po infarktu vneseny do fibroblastů srdce myši pomocí retrovirů geny

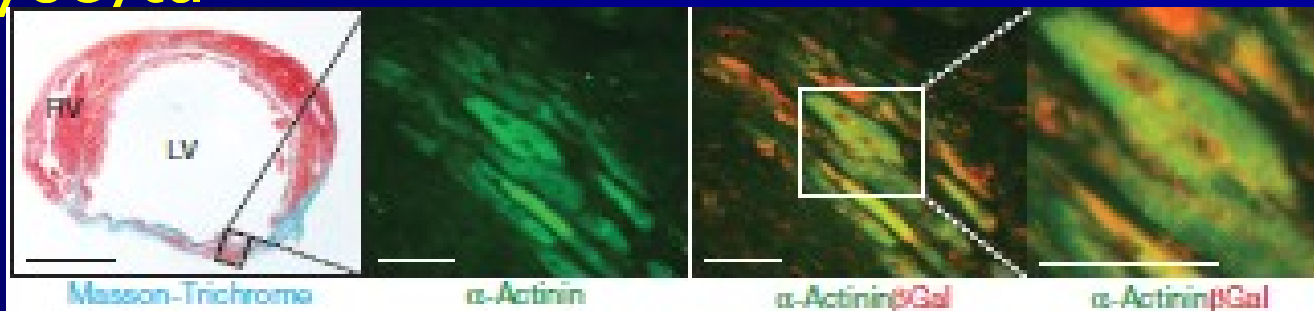
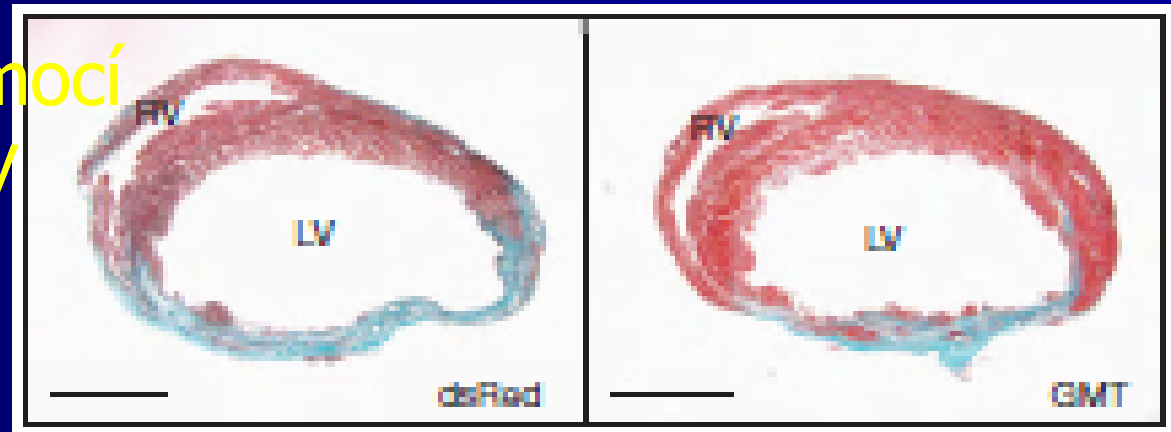
Gata4

Mef2c

Tbx5

Vznik kardiomyocytů

(2 jádra)



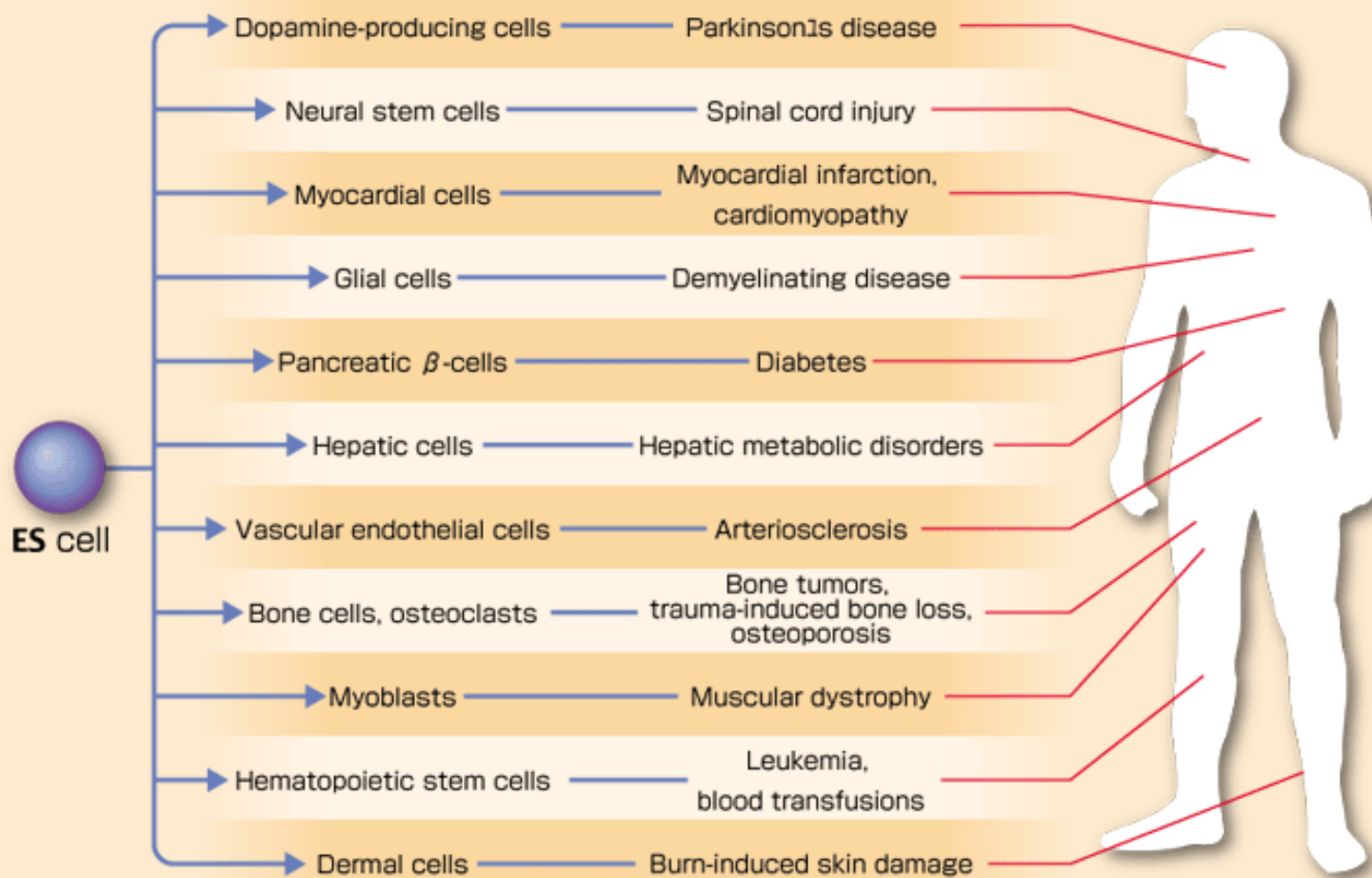
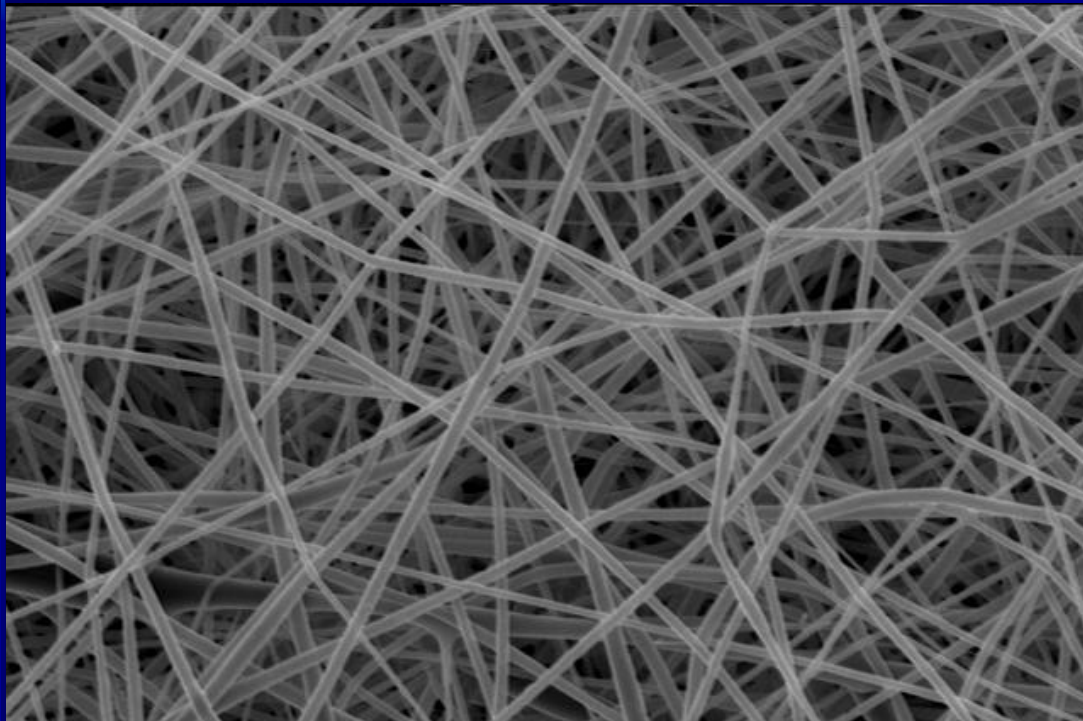


Figure 2: Differentiation of a mouse ES cell and potential future treatments for diseases

Tkáňové a orgánové inženýrství



Základem jsou vhodné polymery



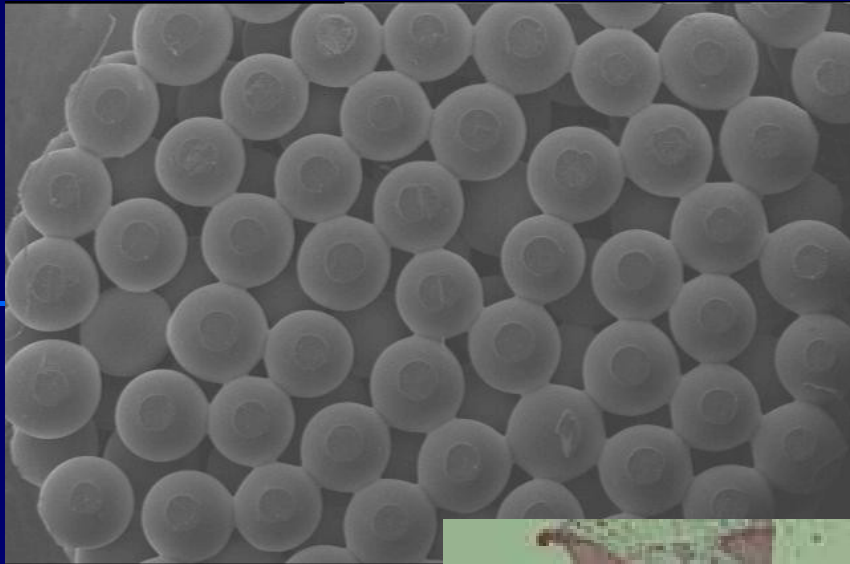
500x

20.0 kV

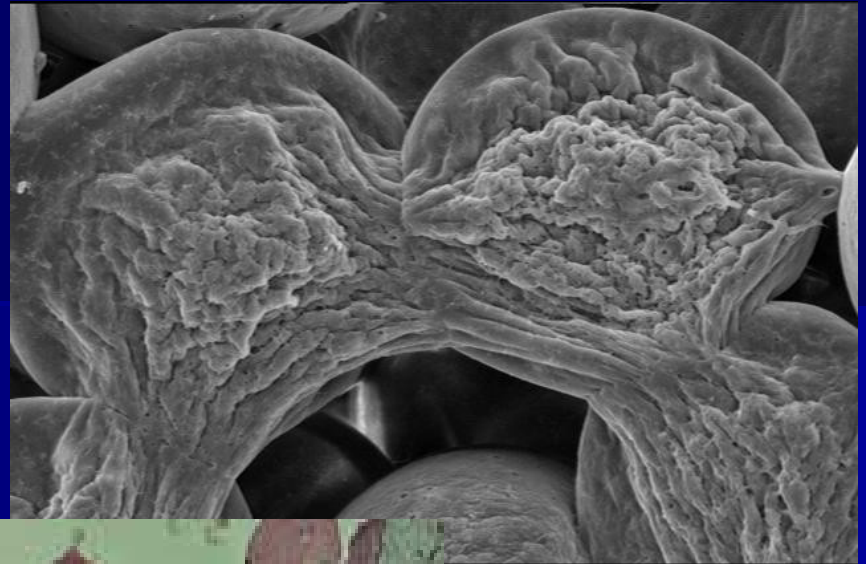
10μm

DREXEL U.

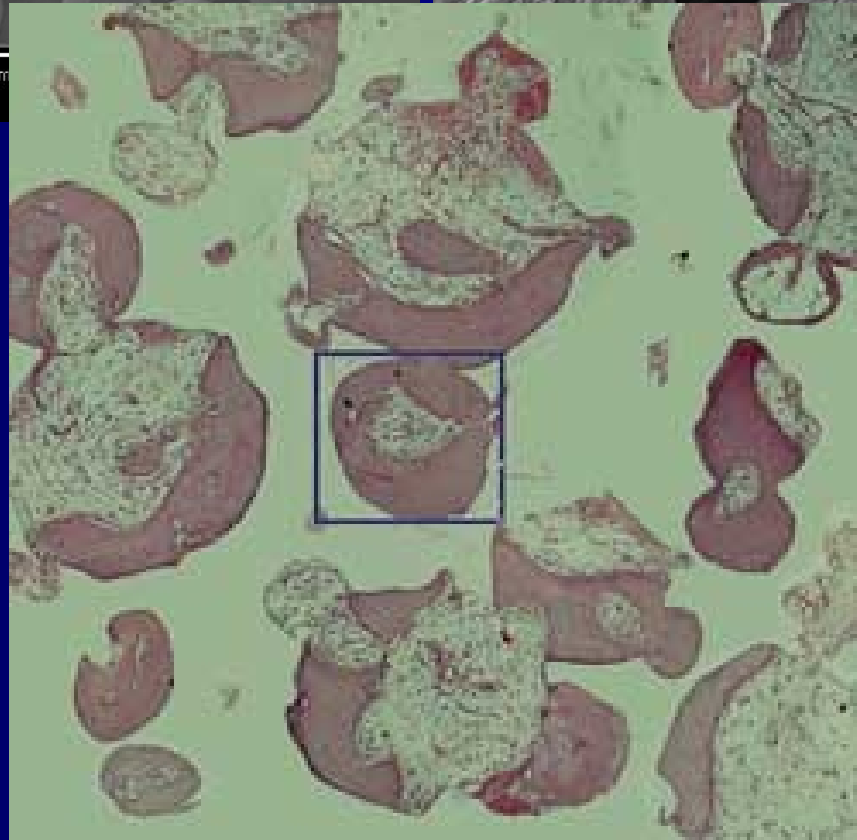
#0010*



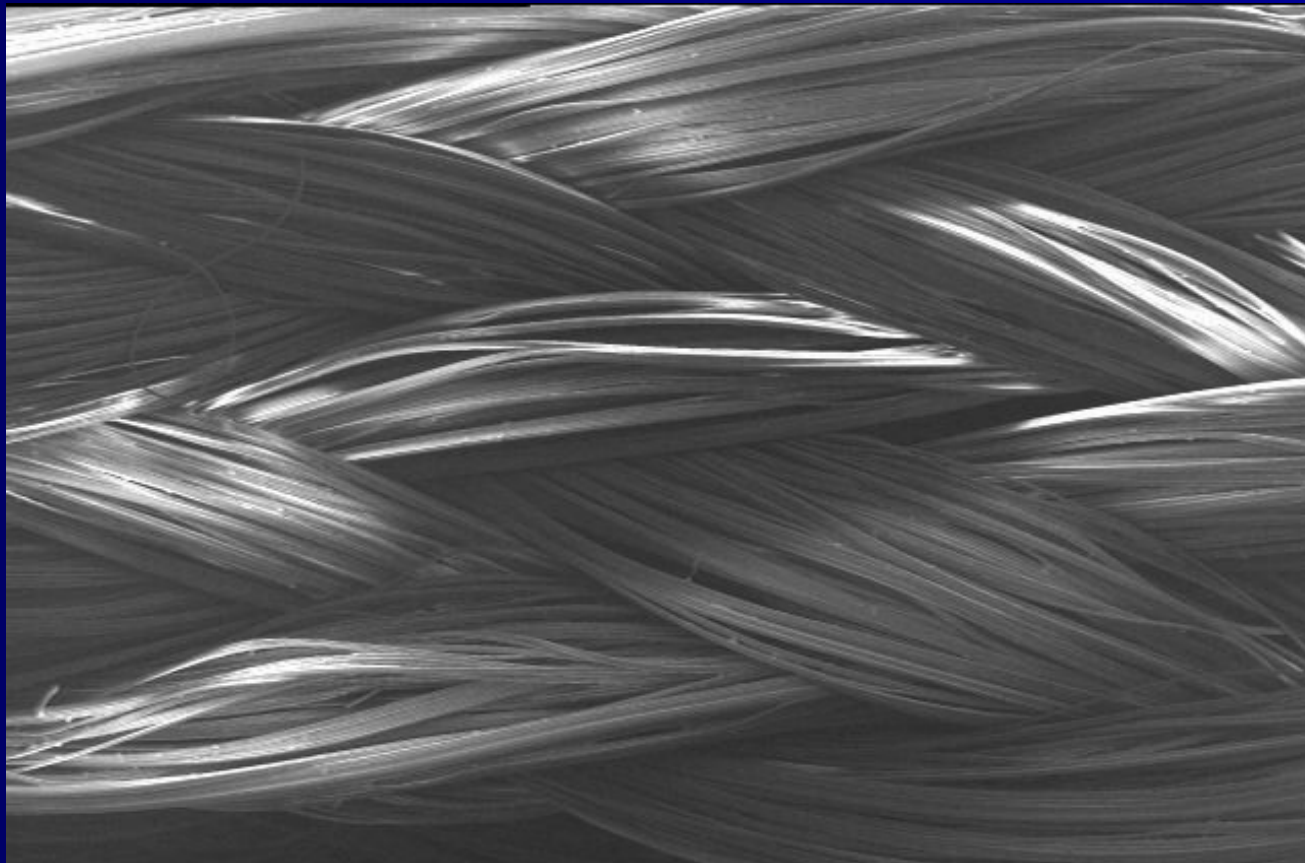
25.0x 20.0 kV 1m



0μm DREXEL U. #0021*



Polymerové vazy a šlachy



20.0x

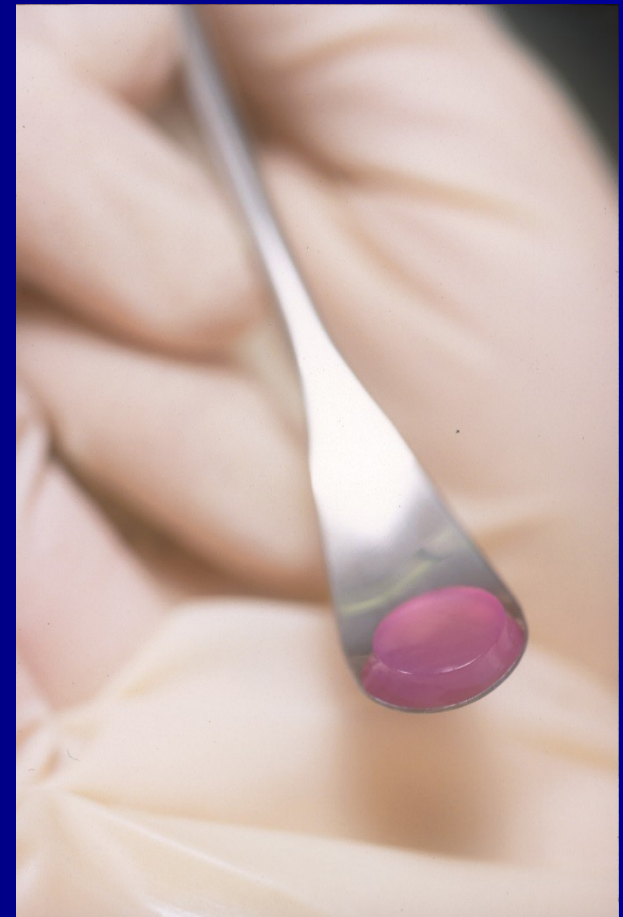
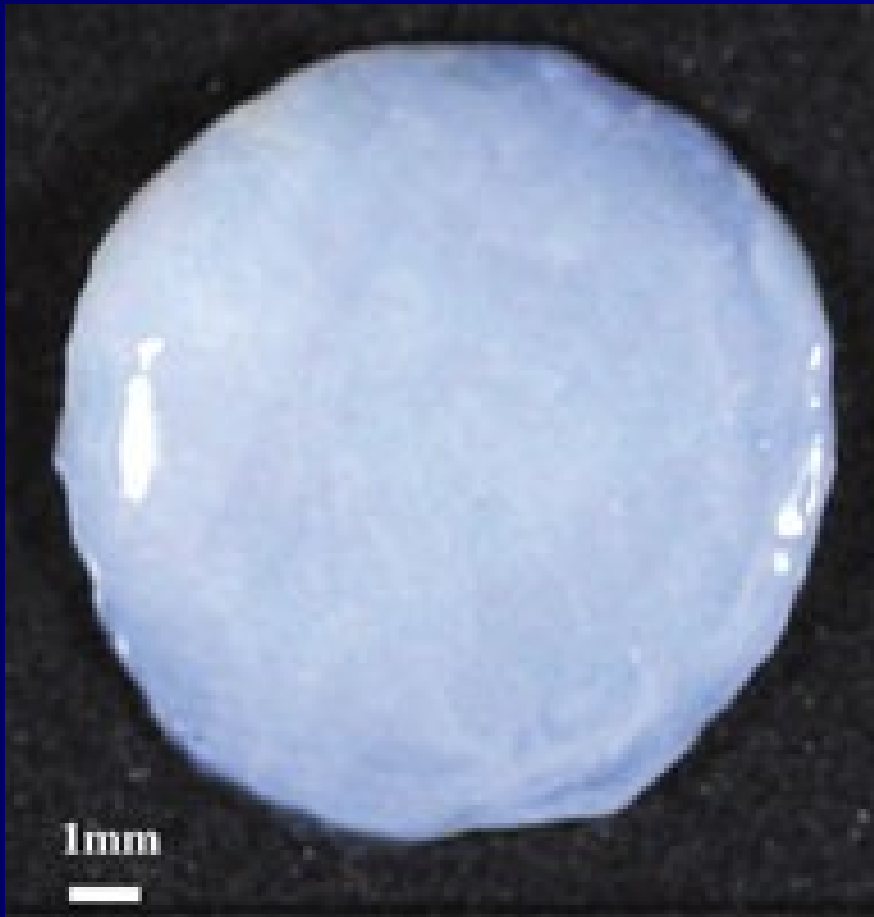
20.0 kV

1mm

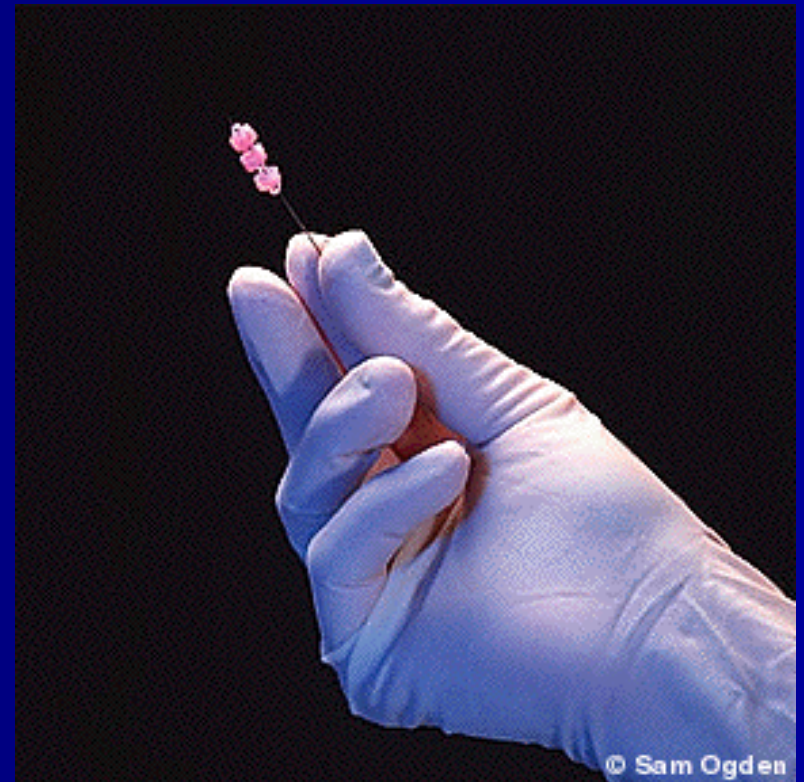
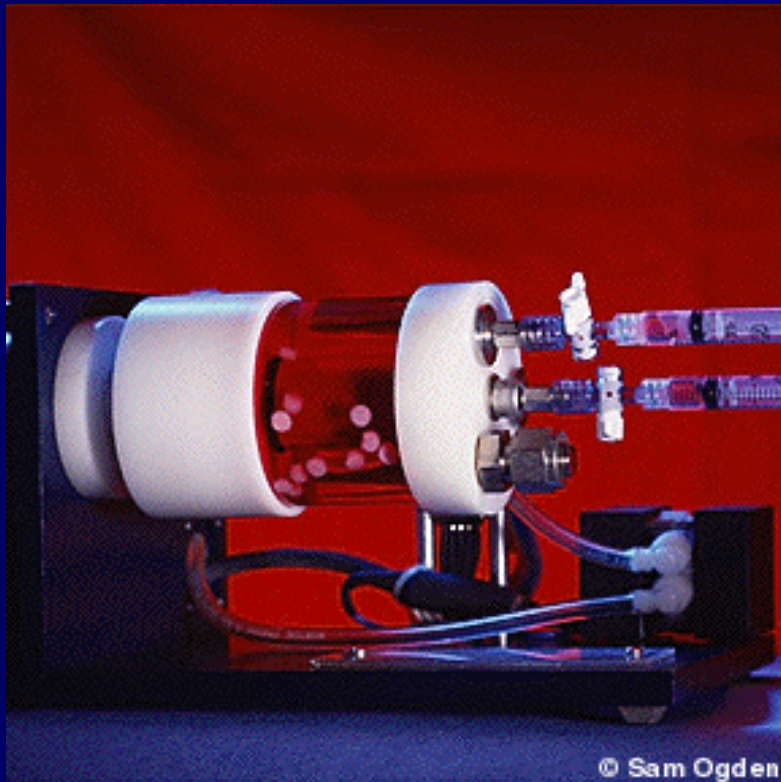
DREXEL U.

#0049*

Chrupavky z pacientových chondrocytů



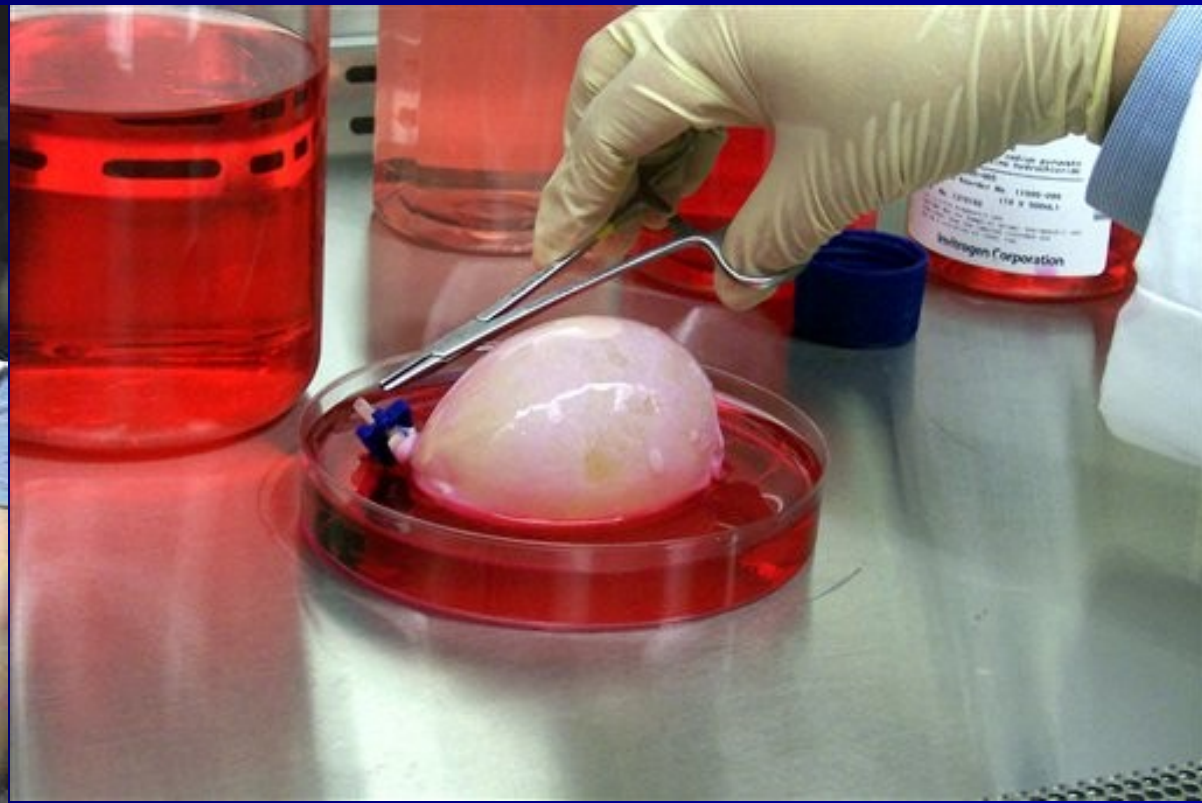
Pěstování chrupavky



Umělý močový měchýř

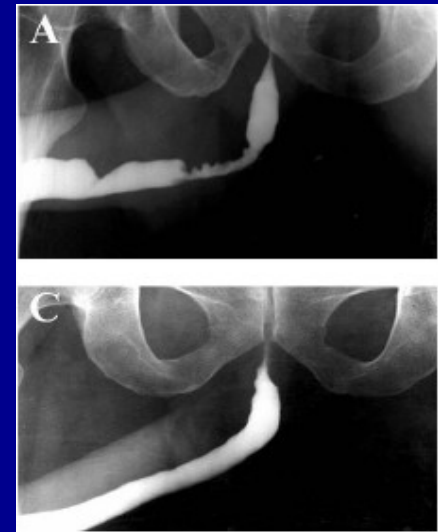


In vitro kultivovaný močový měchýř pacientům se spina bifida



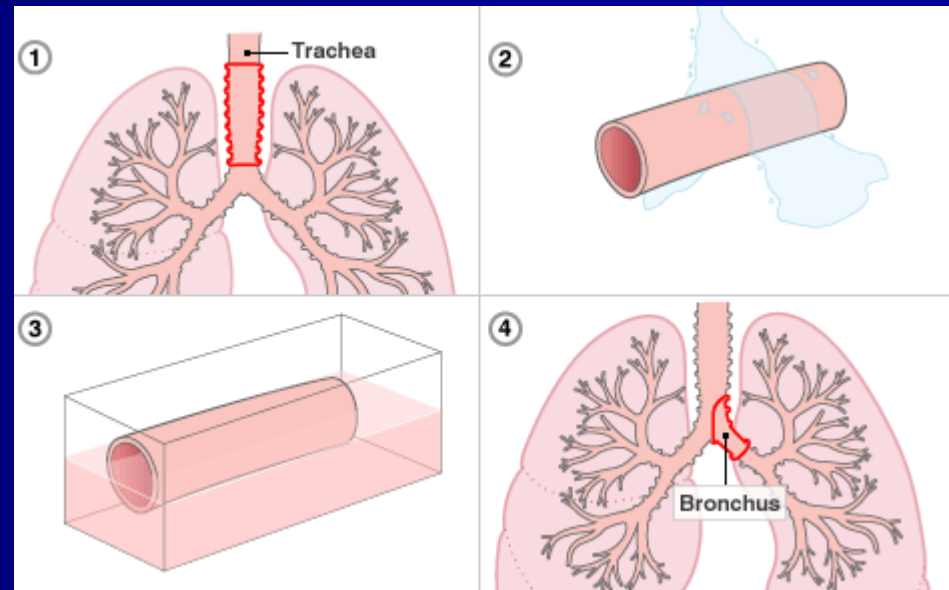
Močová trubice

- Vývojový defekt močovétubice
- Nahrazena trubicí vypěstovanou na polymerovém scafoldu in vitro



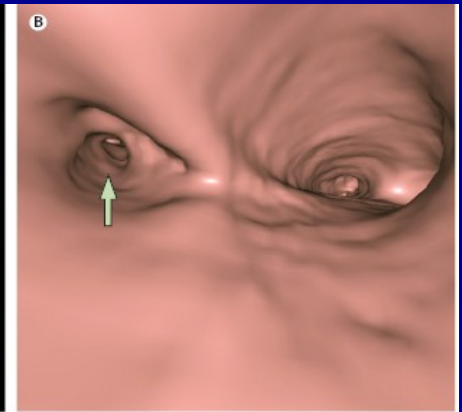
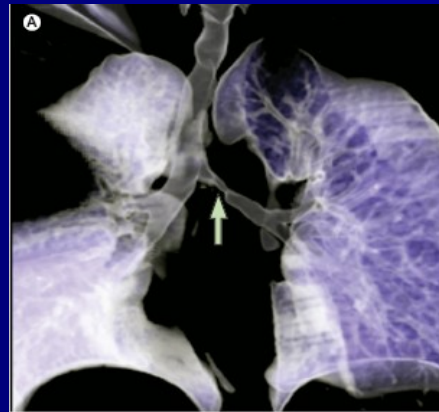
Průduška

- **Kolaps průdušky následkem TBC**
- **Základ implantátu - trachea dárce zbavená všech jeho buněk**
- **In vitro narostly na průdušnici pacientčiny buňky z kmenových buněk kostní dřeně**
- **Pacientka žije bez imunosupresiv**

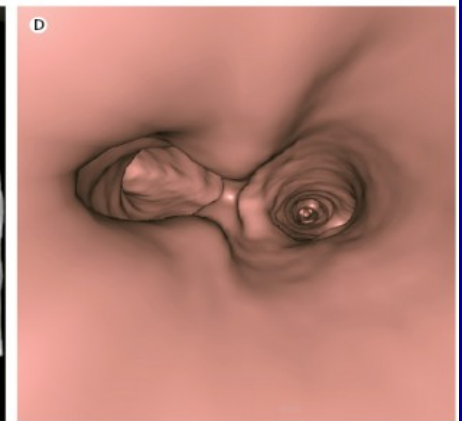
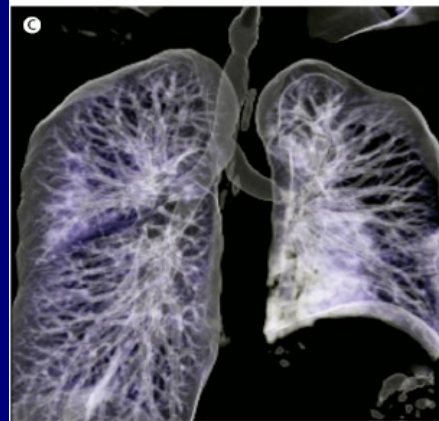


Průduška

Před zákrokem



Po zákroku



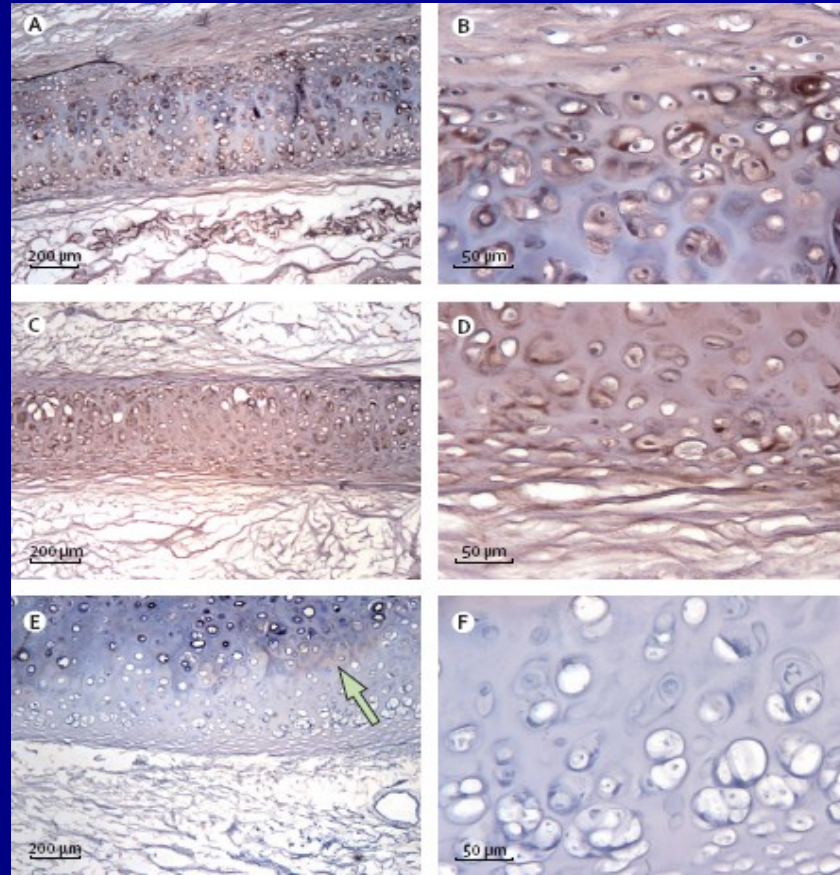
Průduška

■ Příprava průdušnice dárce

začátek

15 cyklů odmyváání
detergentem

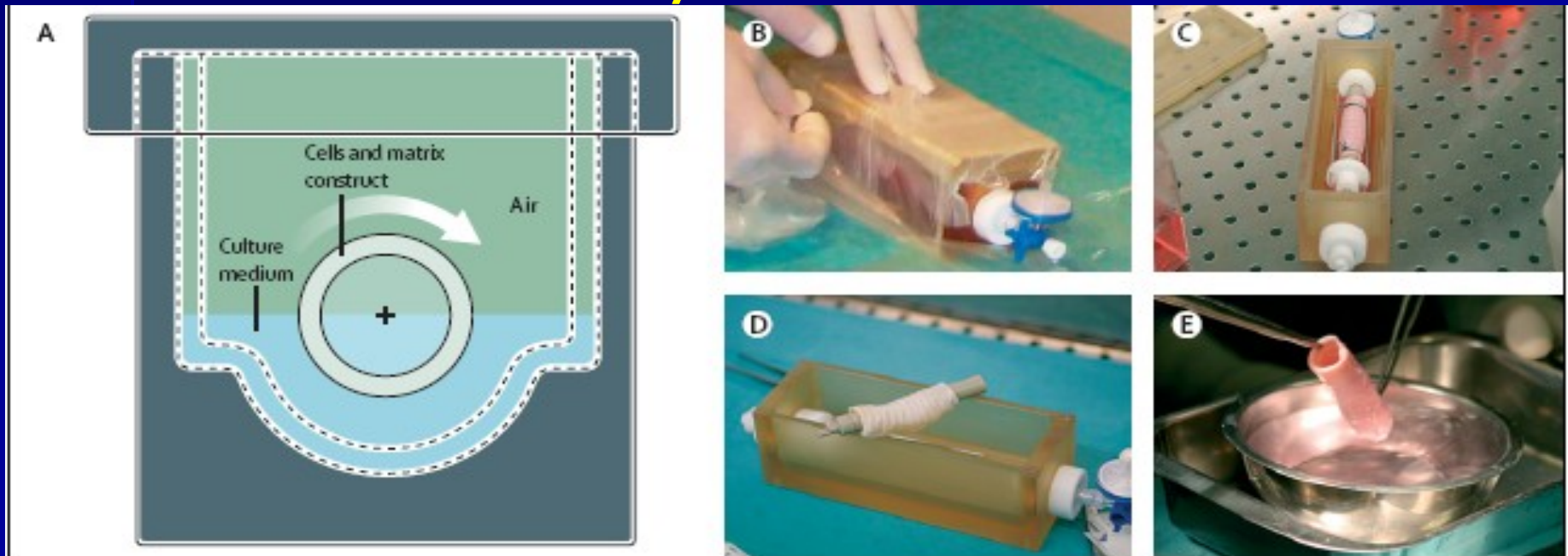
27 cyklů odmyváání
detergentem



Průduška

■ Bioreaktor

Kultivace probíhá z poloviny na vzduchu, aby byly buňky schopny existence v dýchacích cestách.

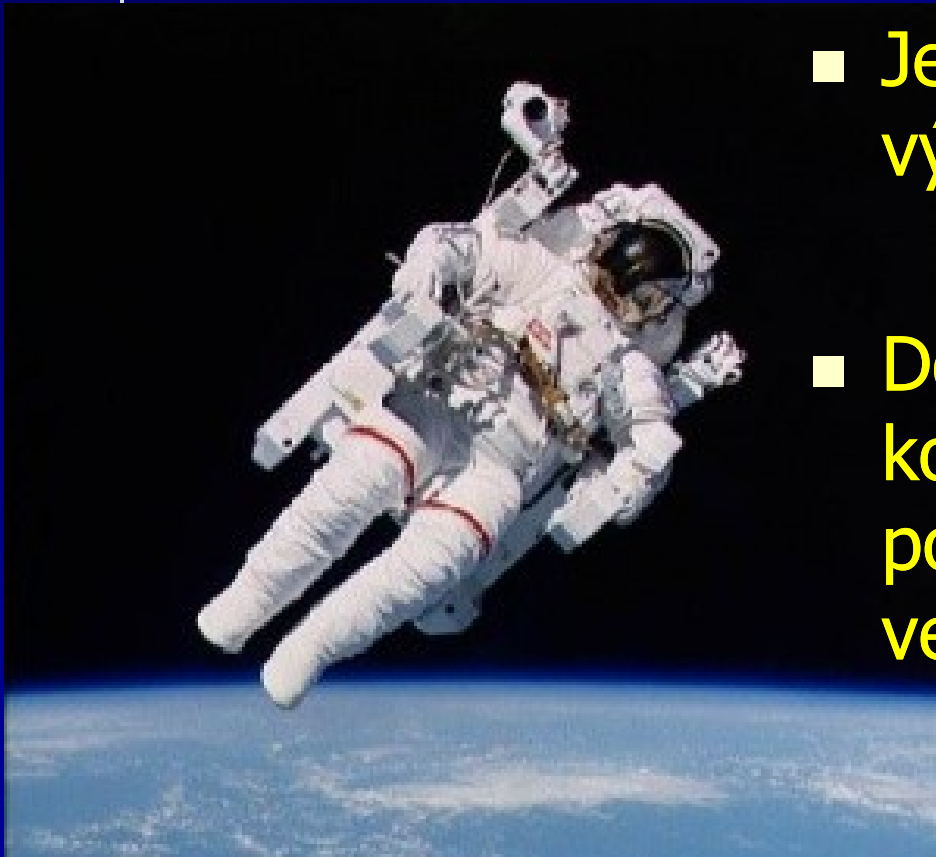


Uměle pěstované cévy

- Pěstují se na trubicích
- Vnější vrstva hladké svaloviny
- Vnitřní vrstva endotelu
- Do trubice je přiváděn živný roztok pod tlakem v pulsech

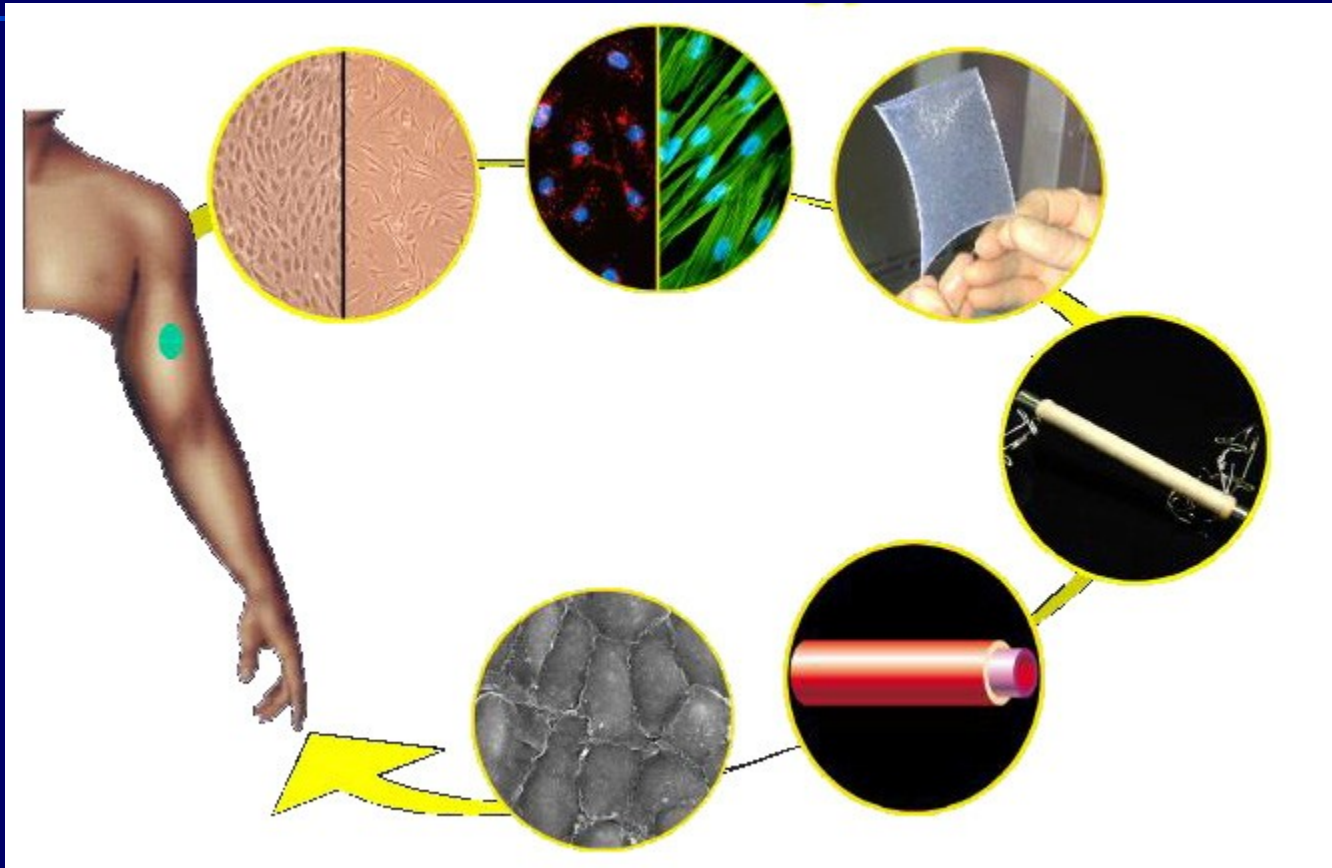


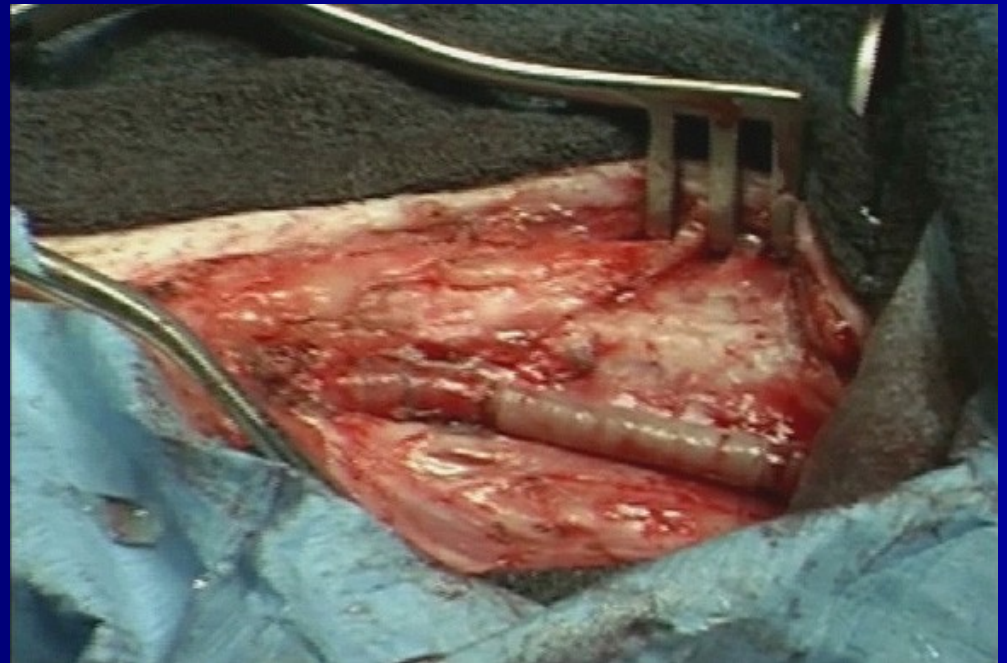
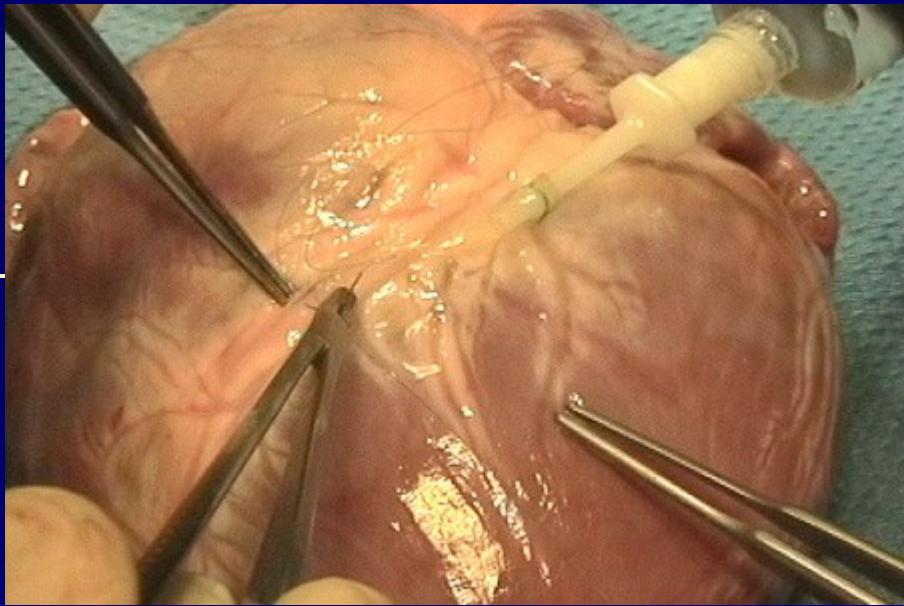
Mechanická stimulace buněk



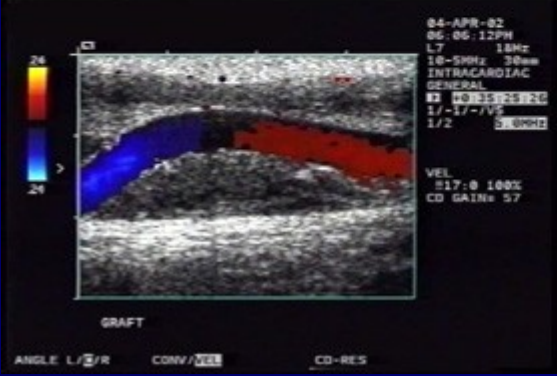
- Je důležitá pro správný vývoj tkání a orgánů
- Dokládá to např. řídnutí kostí u astronautů pobývajících delší dobu ve stavu beztíže

Umělé cévy bez polymeru





Sonografie umělé cévy



Integra- vyrobená pokožka - kolageny



Popáleniny na velké ploše



Organogenesis

- vypěstovaná kůže
- živé buňky



Kultivace keratinocytů a fibroblastů na polymerových membránách



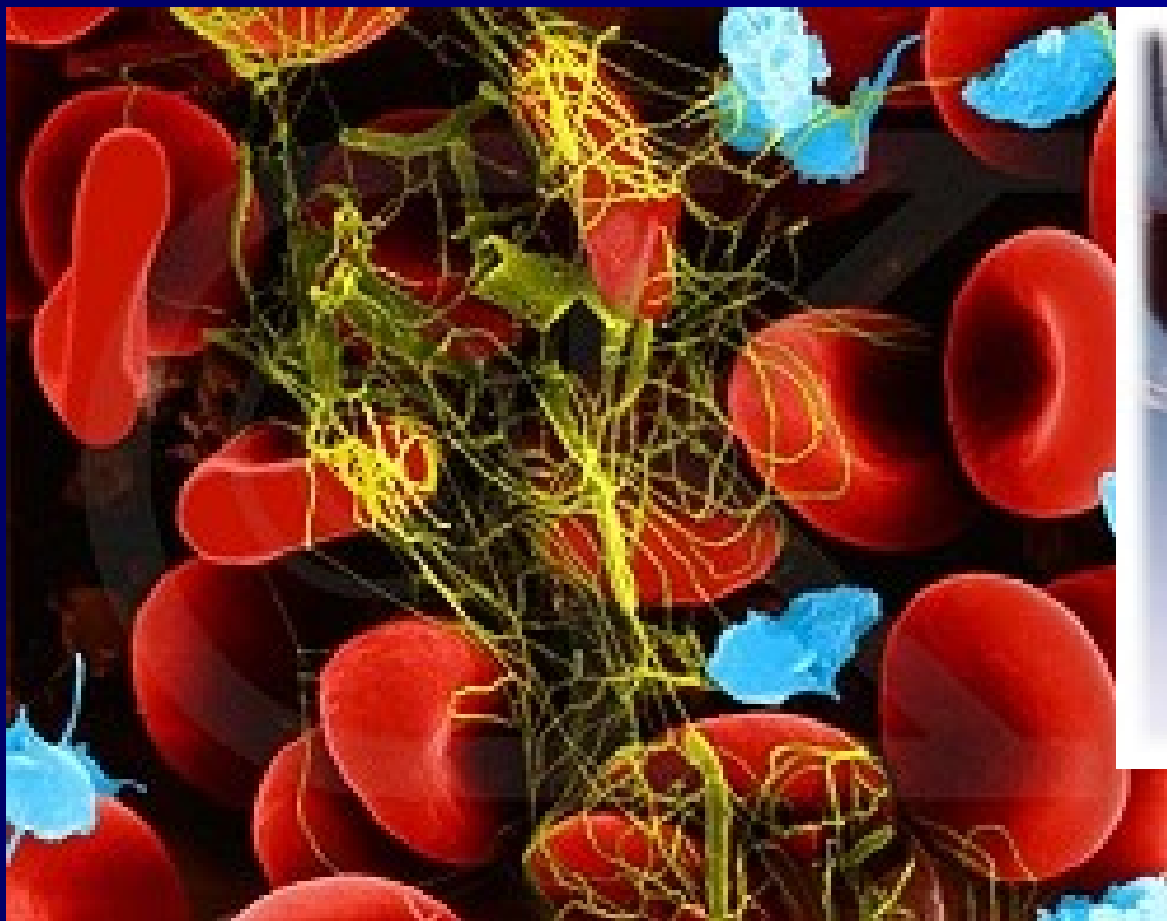
Dermagraft



Na vředy vyvolané nedokrvením



Umělé náhražky krve

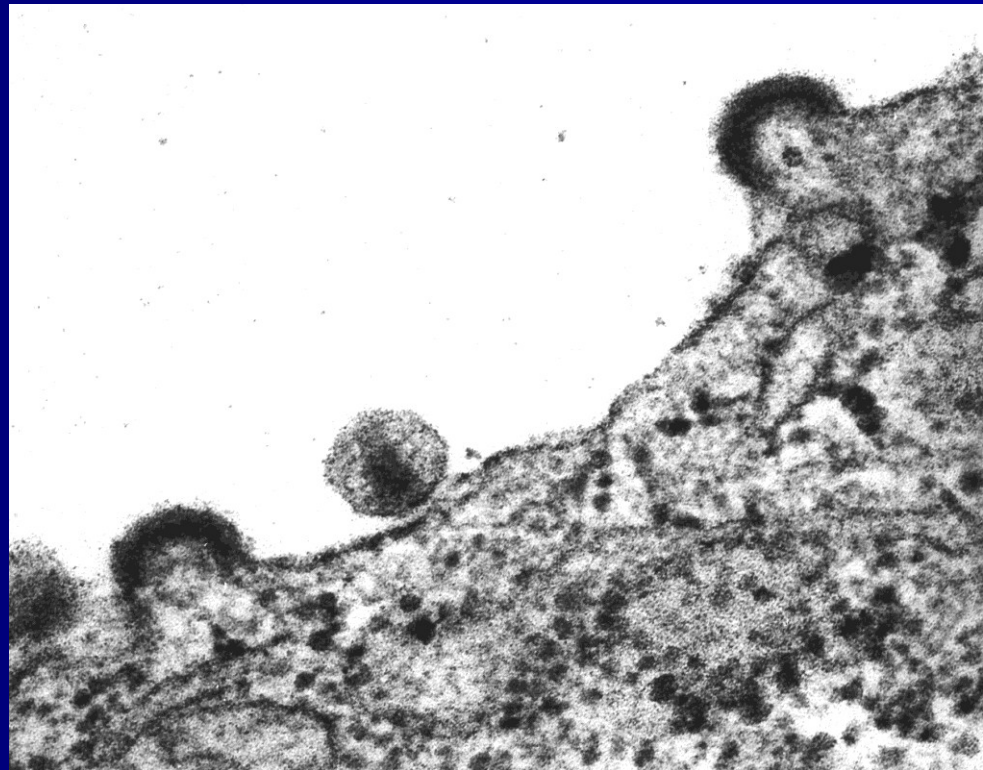


Podnět – virové nákazy při transfuzi



HIV- AIDS

hepatitidy



Perfluorokarbons



Hemoglobiny

Helical Model for α -Carbons of Deoxy Hemoglobin



Red -- Beta subunits
Yellow -- Alpha subunits
Green -- Heme



**Problém se stabilitou
Poškozuji ledviny**

Umělé erytrocyty

Polymer kys. mléčné a glykolové – PLGA

- Biokompatibilní, biodegradovatelný
- Sférické „balónky“ po kontaktu s rozpouštědlem kolabují do tvaru krvinky
- Potažení proteinem
- Odmytí PLGA
- Vznik nosiče s vlastnostmi erytrocytu
- Lze jej plnit hemoglobinem ale i léky

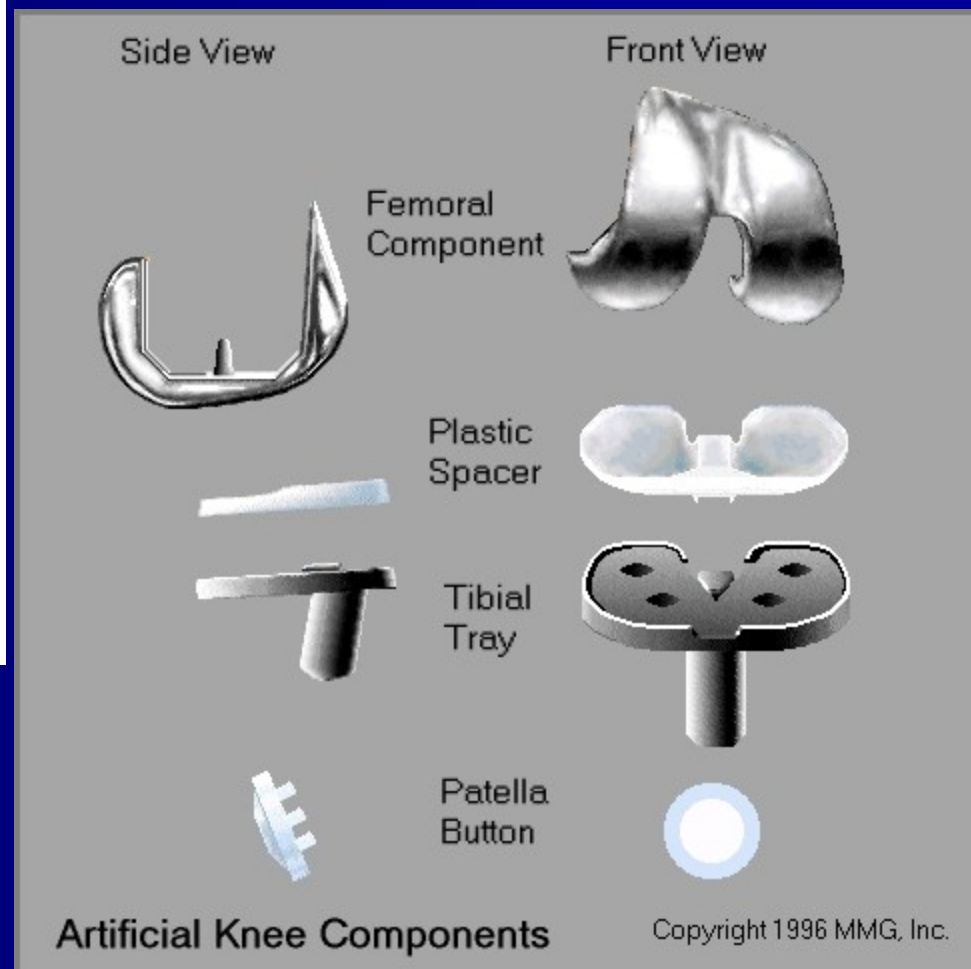
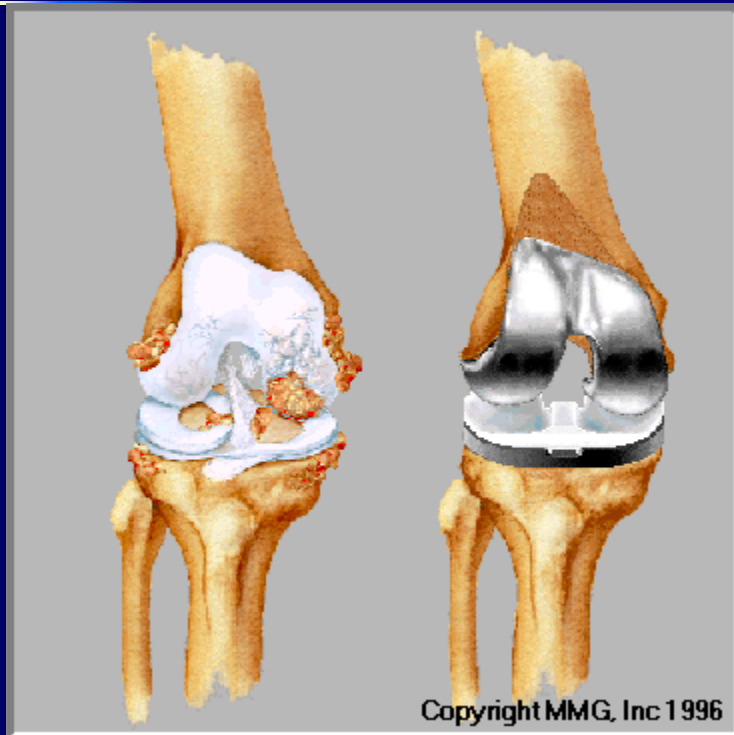


Náhrady kostí

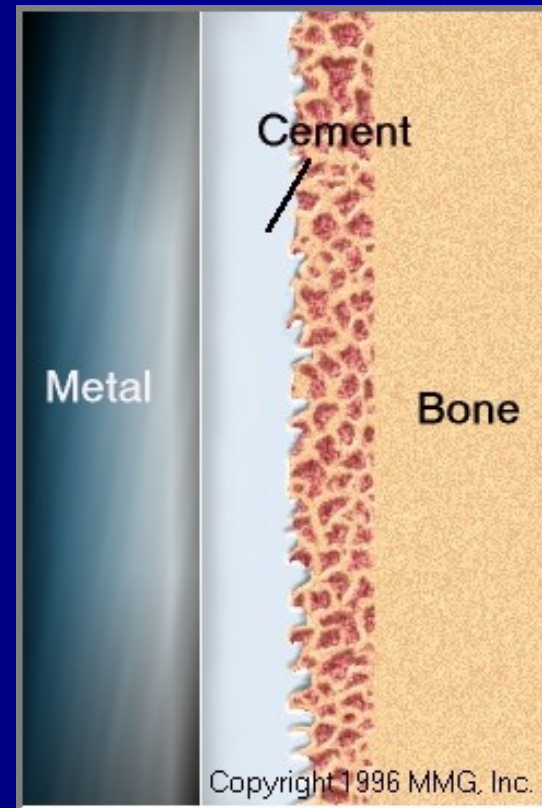
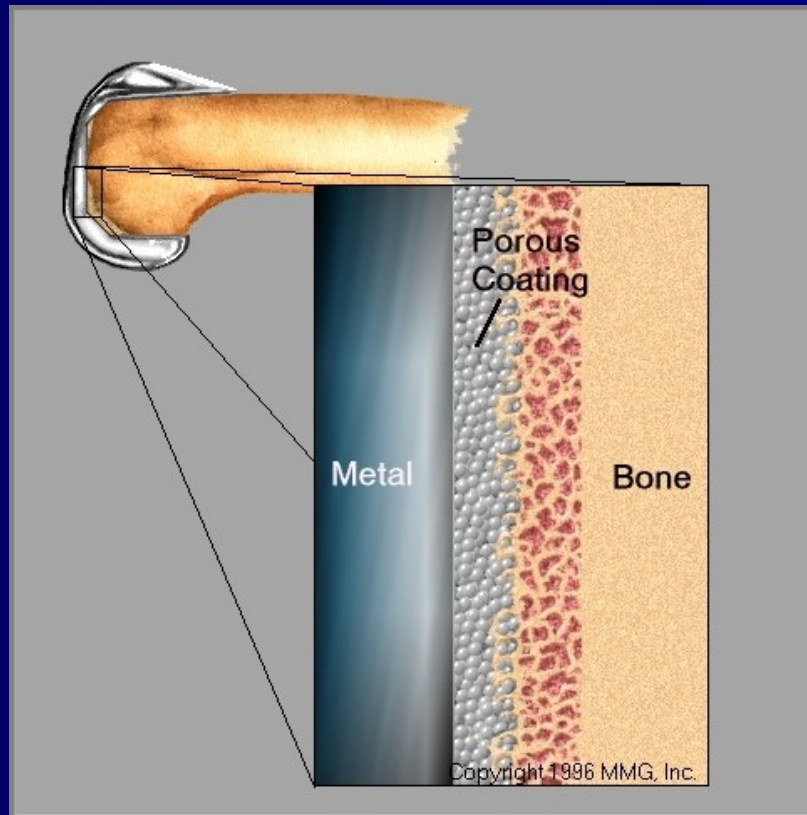


„umělé klouby“

Kolenní kloub



Upevnění umělého kloubu

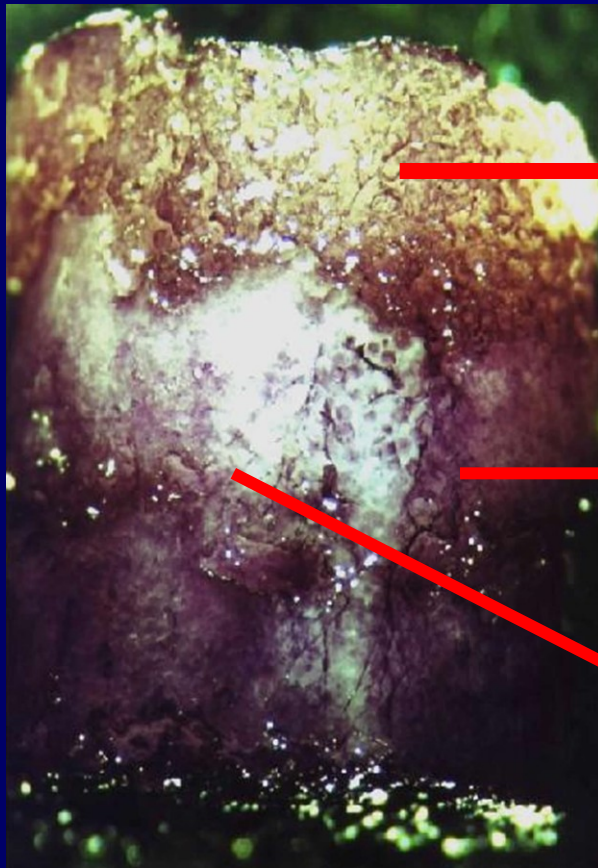


Umělá kost



- 80. léta
 - syntetický hydroxyapatit
- 2. generace
 - syntetická skla
(kůstky středního ucha,
zuby, obratle)
- 3. generace resorbovatelné
pěny uvolňující růstové
faktory

Kost a chrupavka z kmenových buněk



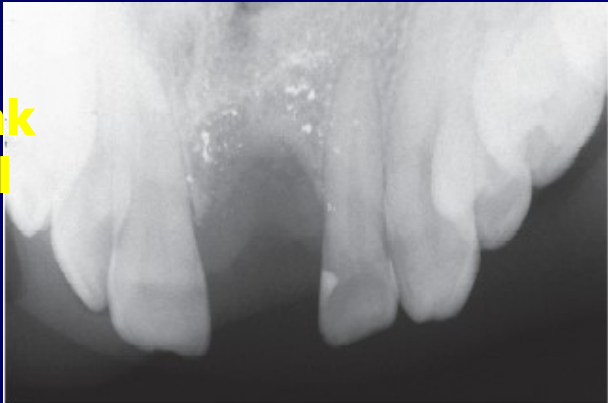
chrupavka

kost

polymer

Rekonstrukce zubního alveolu

**Vyražený řezák
Zničený alveol**

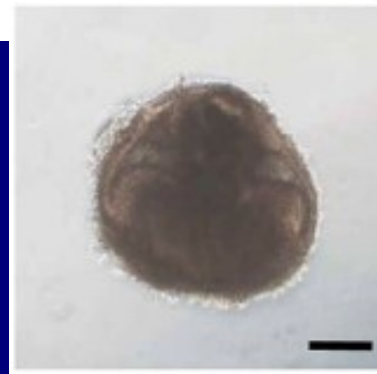
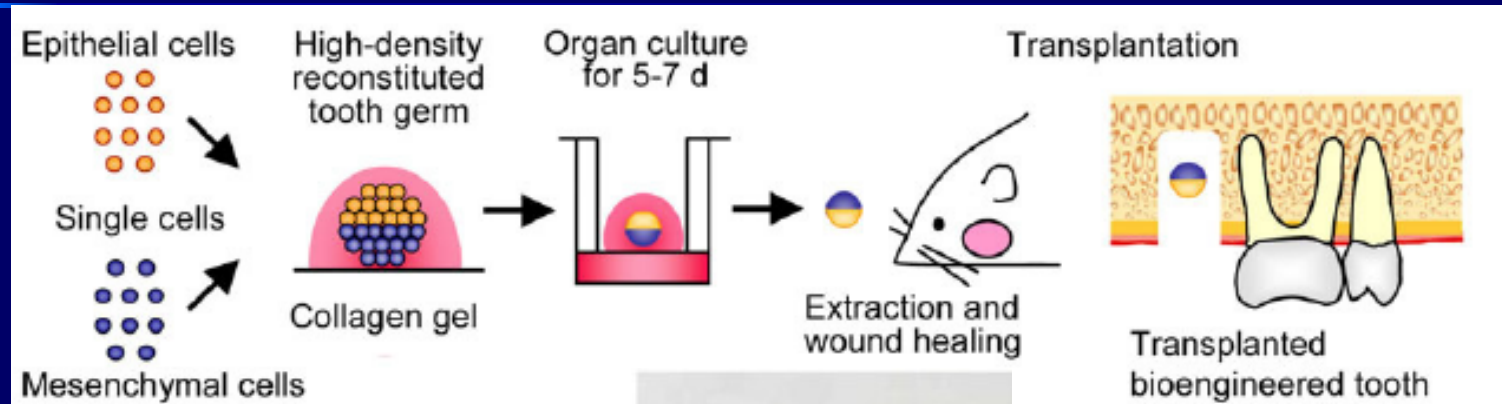


**Rekonstrukce alveolu
Scaffold a buňky**

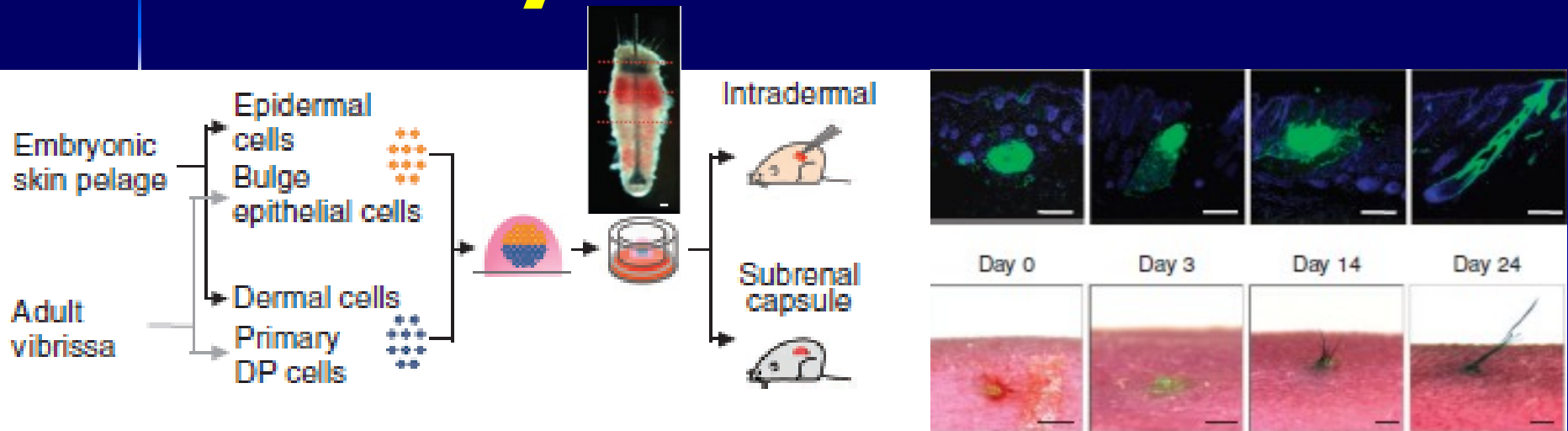
Zubní implantát



In vitro vytvořený germon zubu (Ikeda, 2009)



Vlasový folikul (Toyoshoma 2012)



- Buňky lidské kůže
- Kultivace in vitro
- Vznik zárodečného folikulu
- Po transplantaci – lidský vlas

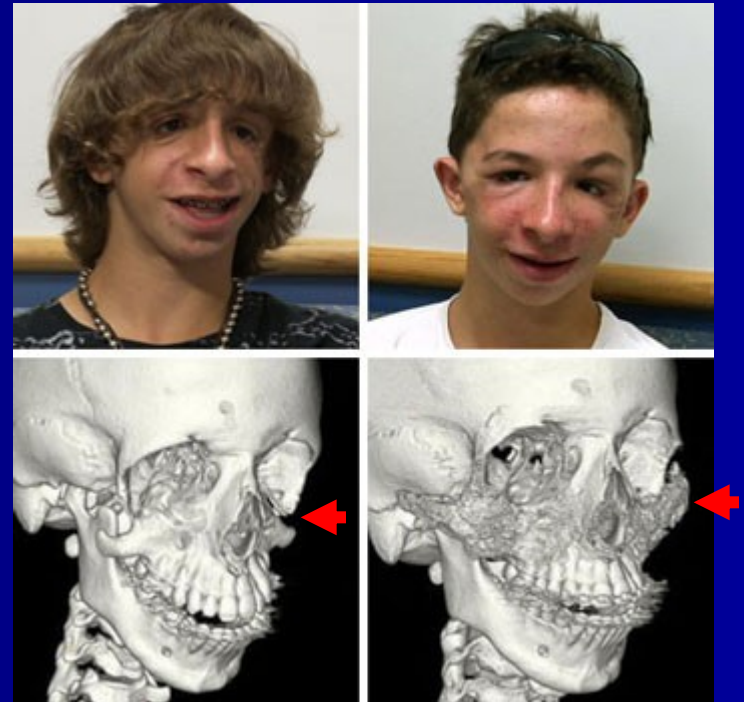


Čelist



Rekonstrukce líčnicích kostí

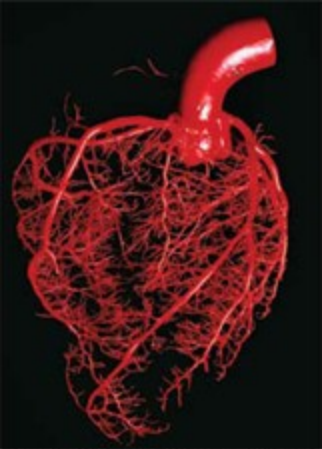
- Pacient s Treacher-Collinsovým syndromem
 - absence líčnicích kostí
 - ohrožení oka při pádu
- Použita
 - minerální komponenta z kosti dárce
 - vlastní kmenové buňky tukové tkáně
 - BMP2



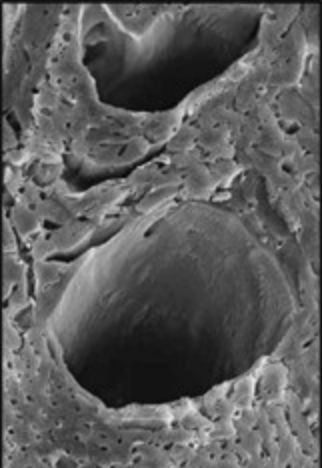
Srdce

- **Ročně umírá na selhání srdce nebo infarkt 12 milionů lidí**
- **V USA**
 - **infarkt 800 000 lidí ročně**
 - **celkem 8 milionů lidí po infarktu**
 - **500 000 ročně umírá na selhání srdce**

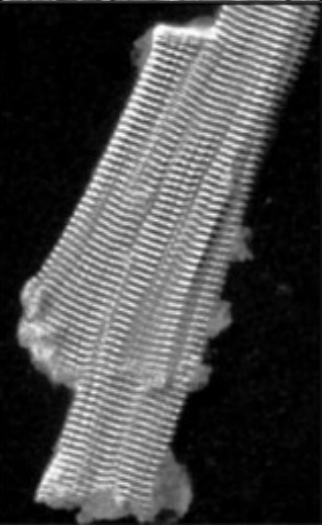




- Hustá síť cév, které dodávají srdci kyslík a živiny a odvádějí zplodiny látkové výměny



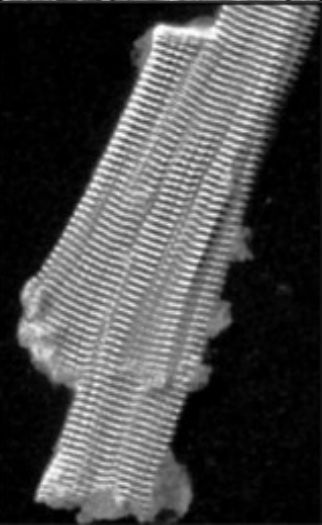
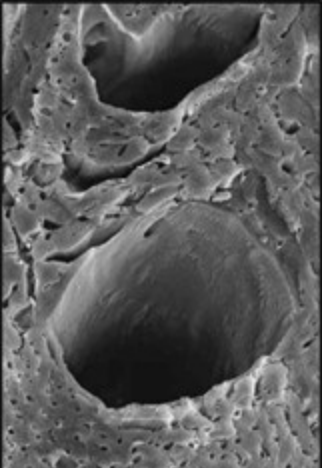
- Velké množství metabolicky vysoce aktivních buněk naměstnaných v malém prostoru



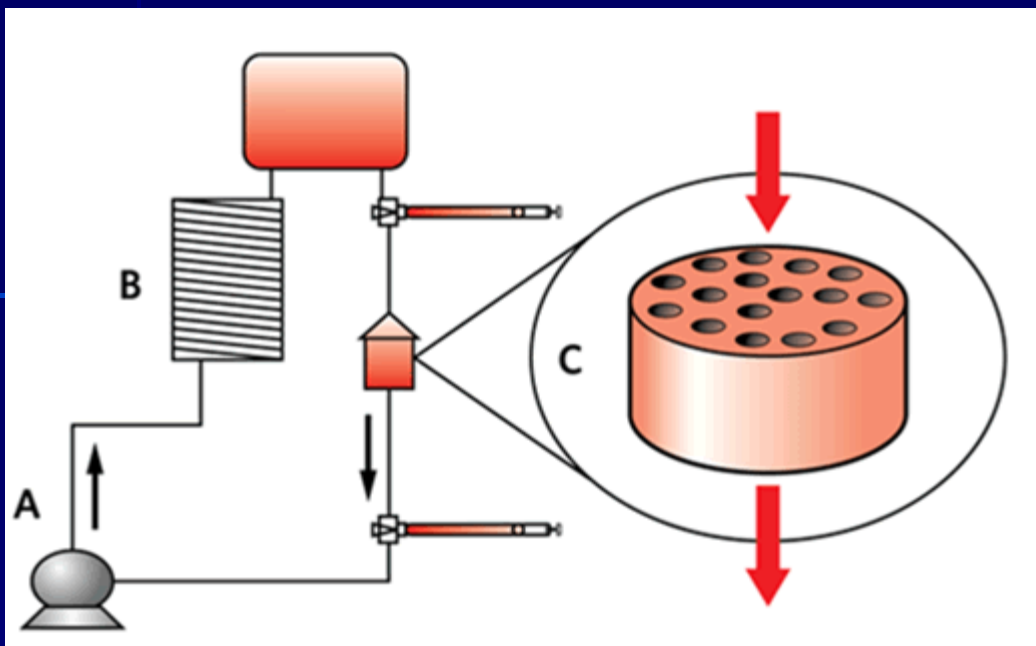
- Akce buněk je vzájemně velmi dobře koordinovaná



Srdce - přírodní vs. umělé

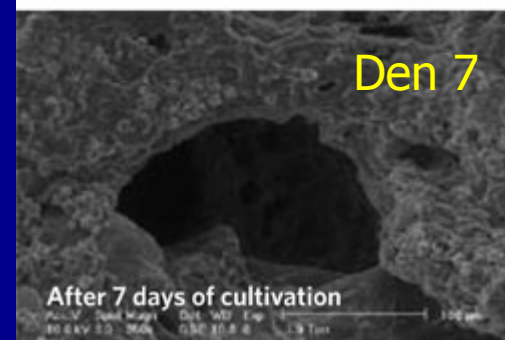
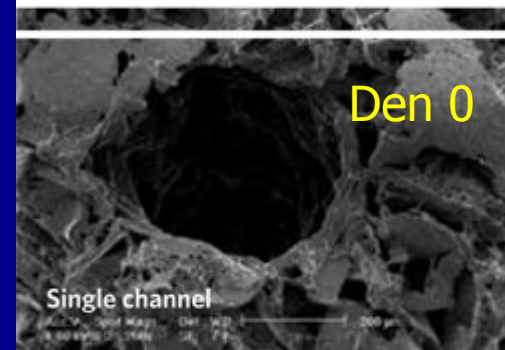
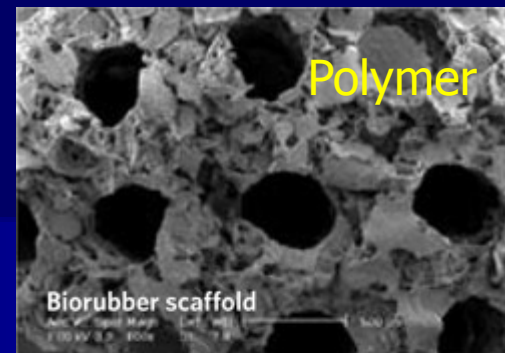


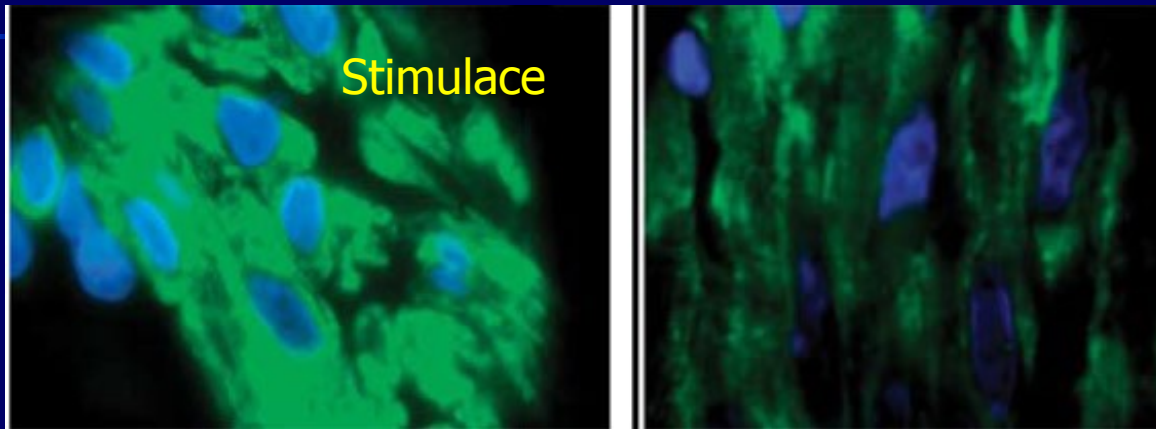
| | NATIVE MYOCARDIUM | ENGINEERED CONSTRUCTS |
|-----------------|--|--|
| Cells | ~ 500 million cells/cm ³ Multiple cell types | ~ 500 million cells/cm ³ ; 1-5 mm thick Multiple cell types |
| Oxygen supply | Blood flow Capillary network Hemoglobin | Medium perfusion Channel arrays Perfluorocarbons |
| Physical forces | Excitation - contraction coupling | Electrical stimulation of contractions |



A – pumpa pro živný roztok
 B – výměník plynů
 C – polymerová „kostra“

Osazení buňkami srdeční svaloviny
 (100 milionů buněk na 1 ml)
 Tok média 0,1 ml/min
 Elektrická stimulace buněk



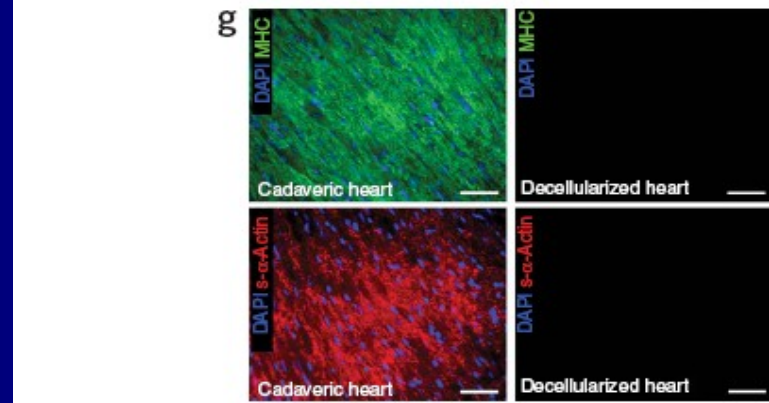
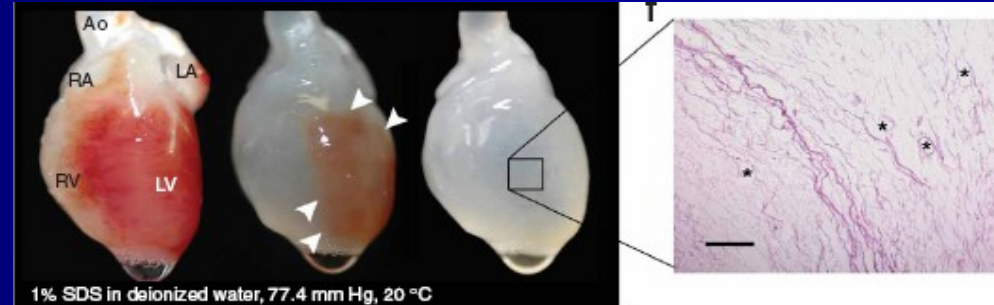


Elektrická stimulace buněk vede ke změně ultrastruktury kultivovaných buněk. Tvorba sarkomer, buněčných spojů. Exprese myosinu (zeleně).

Umělé bio-srdce (potkan)

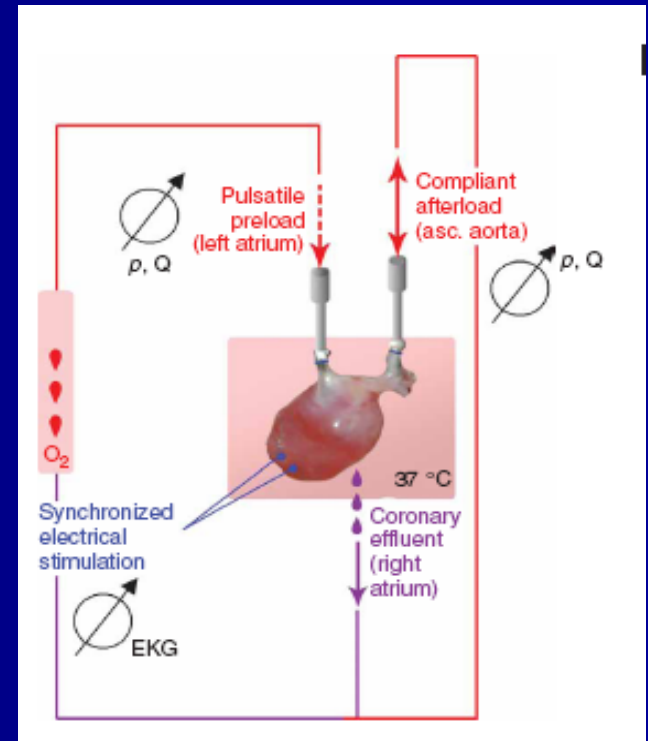
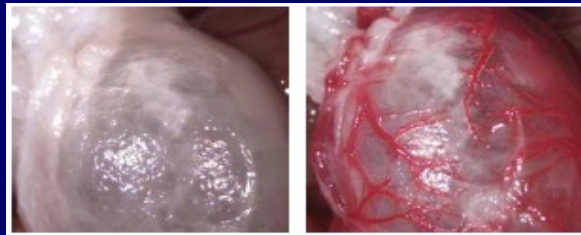
Decelularizace srdce

- zbaví se buněk
- zbude jen extracelulární matrix



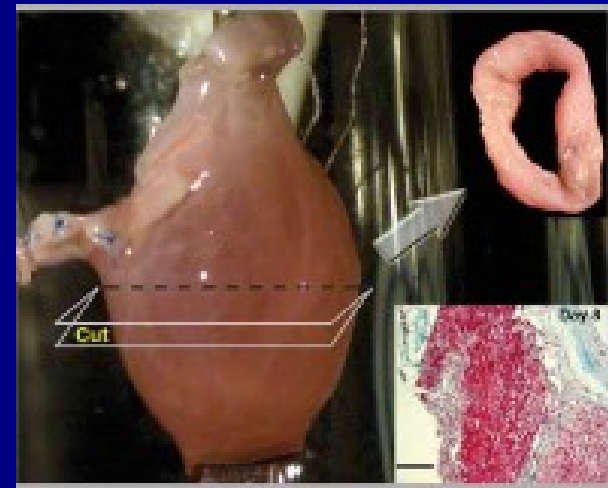
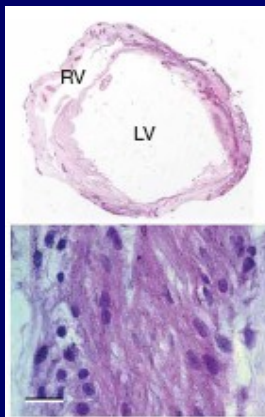
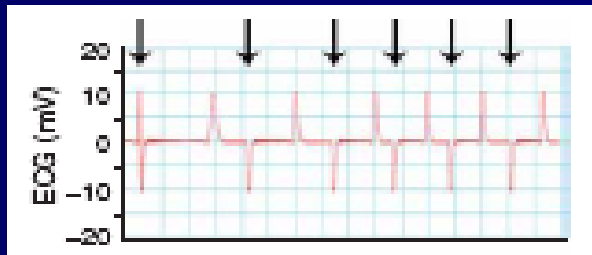
Umělé bio-srdce

- Napojení na krevní oběh
- Recelularizace – buňky srdce plodu a novorozených mláďat



Umělé bio-srdce

Výsledek



Umělé bio-srdce

- **Lidské srdce**

Decelularizovaný scaffold

lidský

prasečí

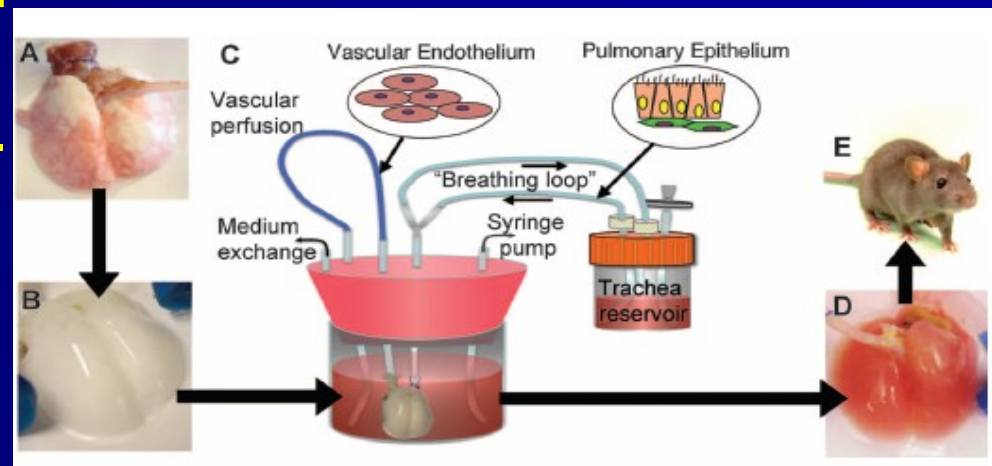
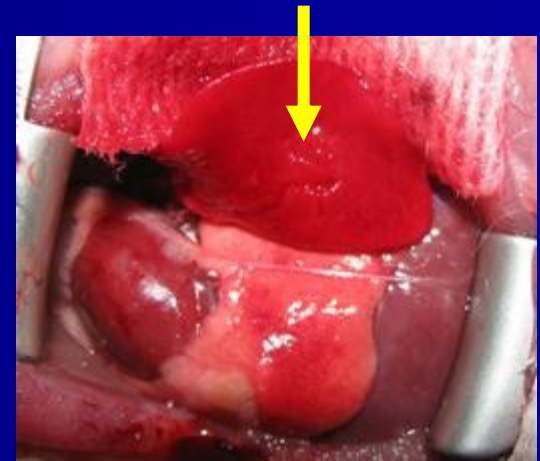
Lidské buňky



Prasečí „základ“

Plíce narostlé na extracelulární matrix

- Decelularizace plic
- Nasazení 9 typů plicních buněk na extracelulární matrix
- Při kultivaci in vitro se obnoví struktura plic i funkce.
- Po transplantaci - fungují



Končetina



- Injekce svalových kmenových buněk do decelularizované končetiny potkana

ITOP - integrated tissue – organ printer

- 3D tisk velkých a složitých objektů
- Scaffold + různé typy buněk
- Následně se vytvářejí

Cévy

Nervy



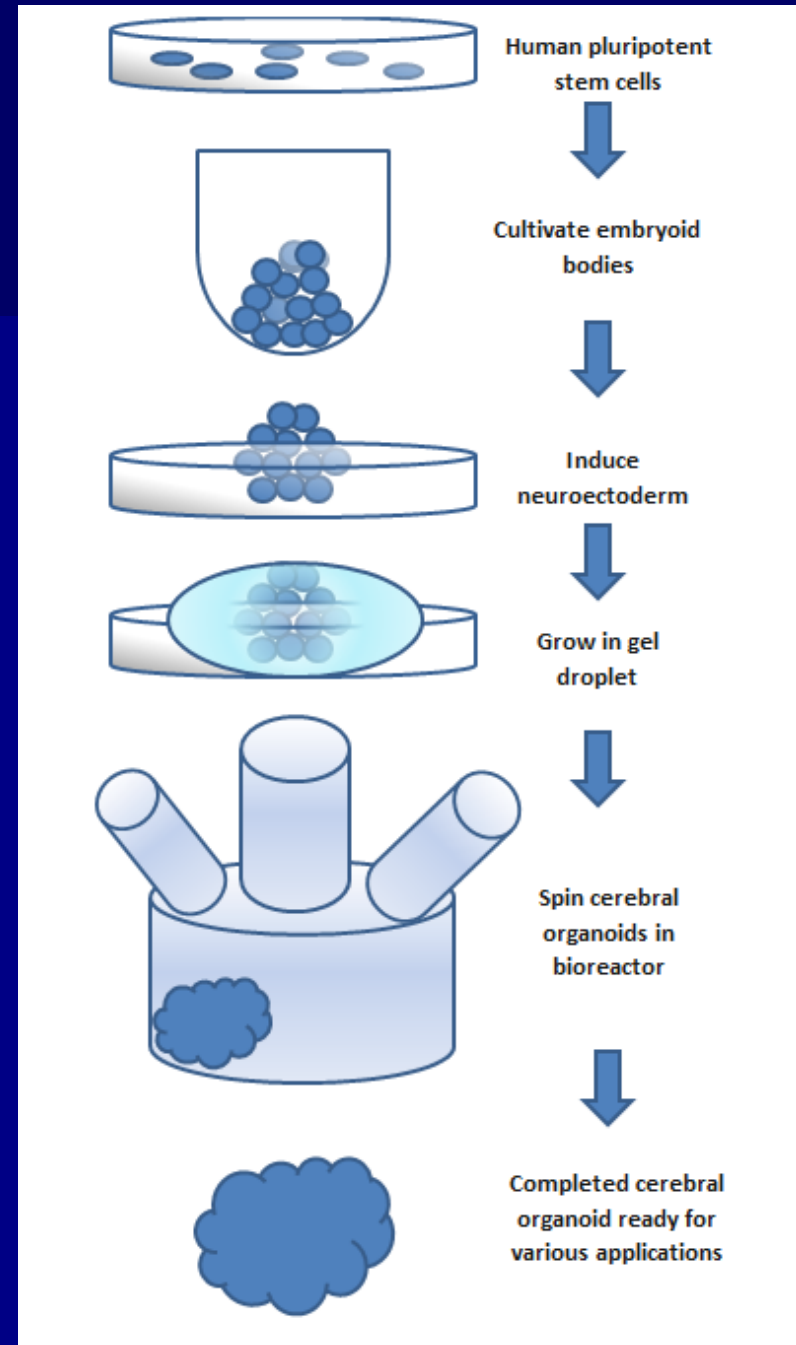
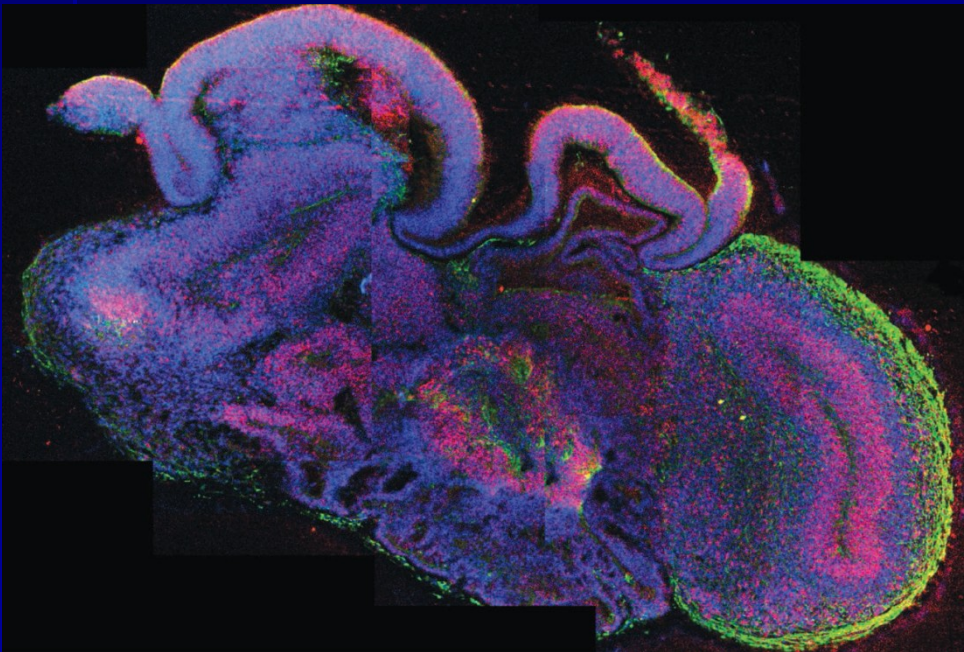
Organoidy

- In vitro spontánně vzniklá 3D struktura
- Obsahuje
 - odpovídající typy diferencovaných b.
 - odpovídající typy progenitorových b.
- Vykazuje aspoň část funkcí, které plní orgán v podmínkách in vivo

Organoidy

Mozek

- nervové kmenové buňky
- neurony



Regenerace orgánů



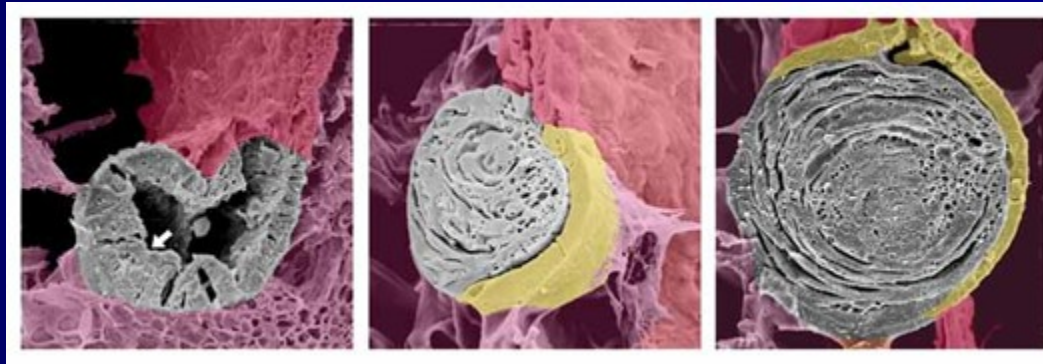
- **Obojživelníci dediferencují specializované buňky**



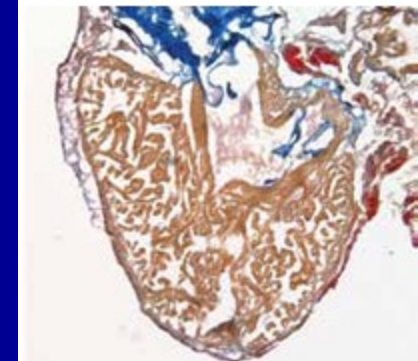
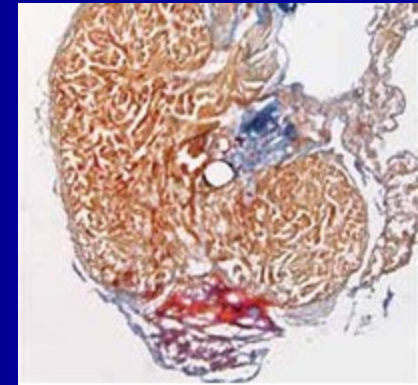
- **Ploštěnky mobilizují rozptýlené nediferencované buňky signálem z poškozené tkáně**

Regenerace orgánů

- Obnova oční čočky čočka



- Obnova srdeční svaloviny daniel



Regenerace obojživelníci

- Musí dojít k apoptóze některých buněk v poraněném místě
- Tyto buňky brání množení ostatních buněk a jejich diferenciaci v nenarušené tkáni
- Po jejich zániku je umožněno
- Množení buněk
- Diferenciace
- Regenerace

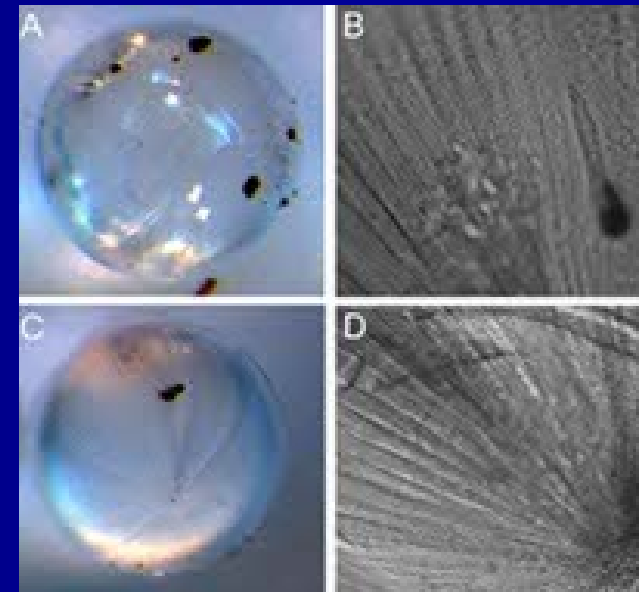


Regenerace ojojživelníků

Čolek ohňobřichý
(*Cynops pyrrhogaster*)



Regenerace oční čočky
Nenarušena po 18 amputacích
Nenarušena ve věku 30 let



Kmen myši MRL

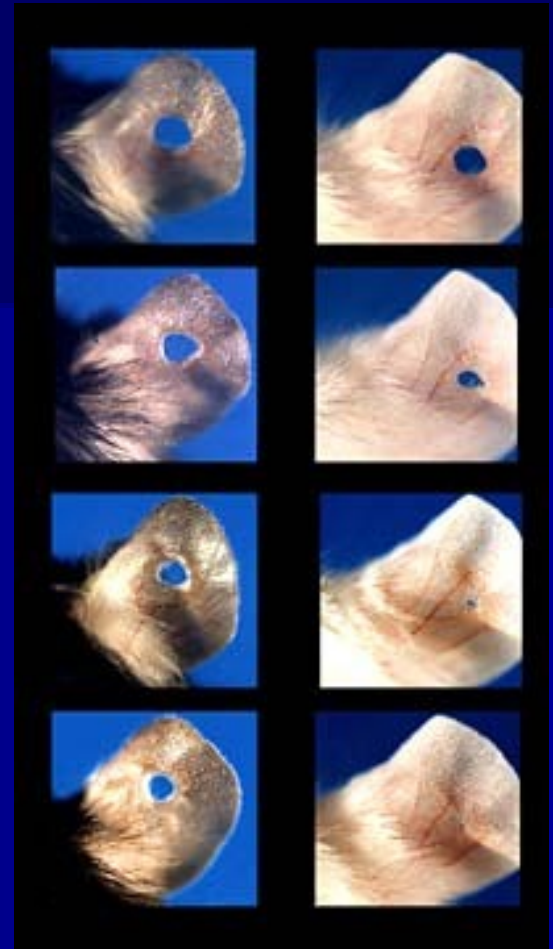
- Geneticky podmíněná schopnost vysoké regenerace tkání



- Kůže se hojí bez jizev
- Srdce regeneruje po spálení tekutým dusíkem



**Ellen Heber-Katz
Wistar Institute**



**MRL - Murphy Roths Large
mutace pro autoimunitní onemocnění
Regenerace – mutace genu p21 – kontrola buněčného cyklu
p21 – je regulován p53
alely genů mmp2, mmp9 a řada dalších**

Bodlinaté myši rodu *Acomys*

Myš Kempova (*Acomys kempfi*)

Myš *Acomys percivali*

- Mechanicky málo odolná kůže
- Trhá se při napadení predátorem
- Dovoluje únik



Bodlinaté myši rodu *Acomys*

Na kůži se vytváří útvar
podobný blastemu obojživelníků

Regeneruje bez zjizvení

- Kůže
- Chlupy
- Chrupavka ucha



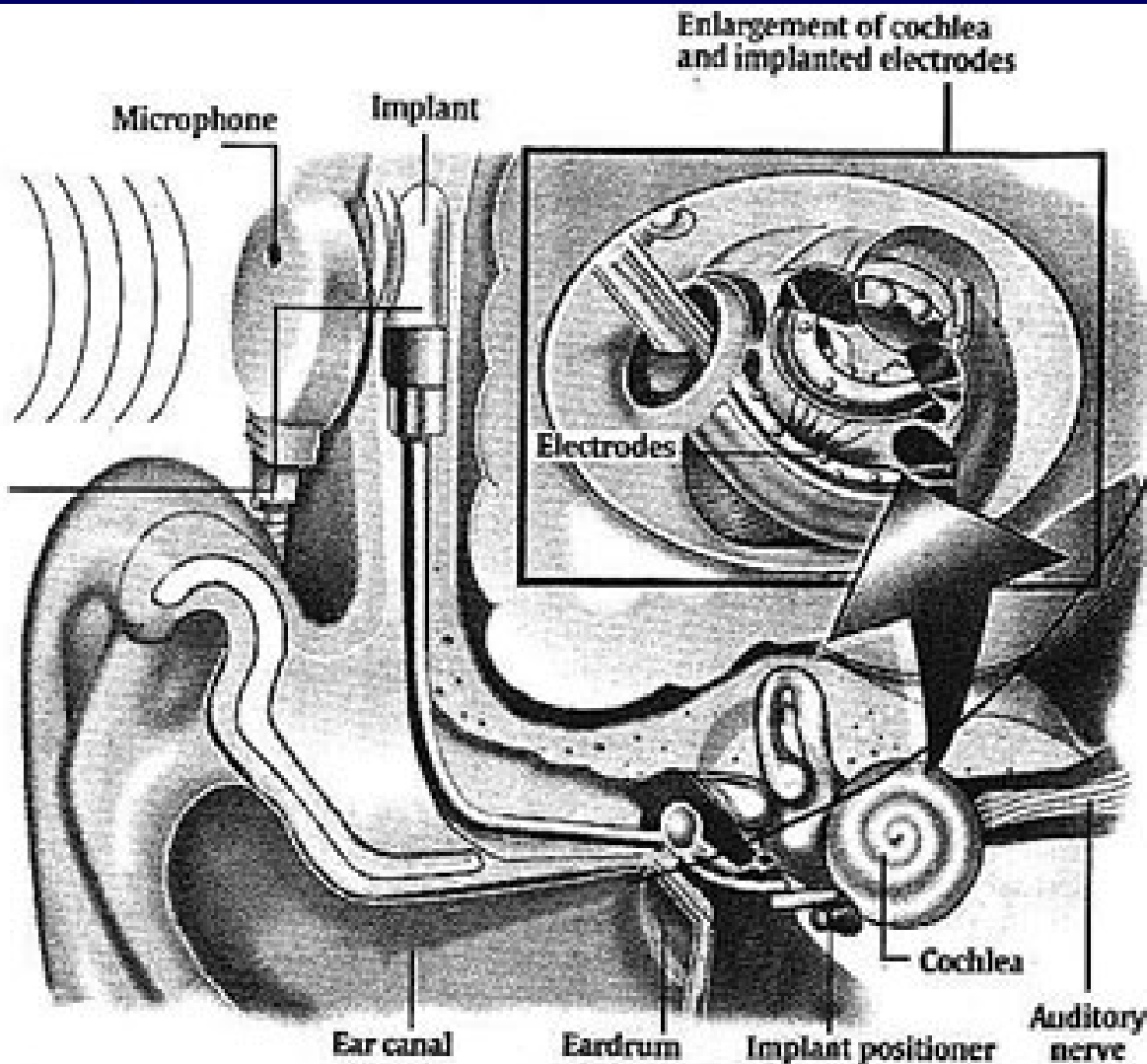
Technická řešení



Kochleární implantáty

- Stimulace buněk v hlemýždi
- Nestimuluje jeho nejužší část
- Část zvukového spektra chybí
- Nevadí pro pochopení řeči



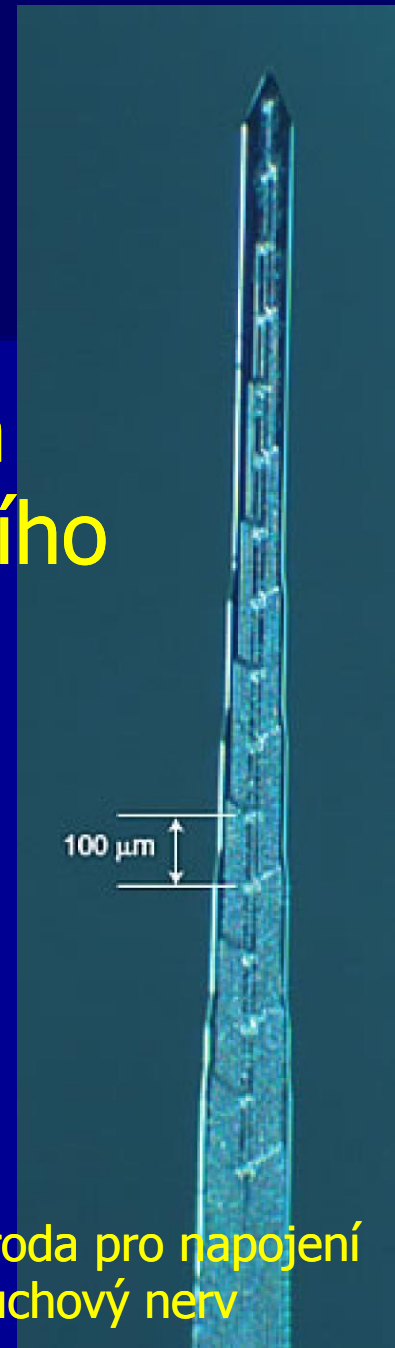


How the implant works

- **Zvuk zachytí mikrofon**
- **Jde do dekodéru**
- **Kódovaný signál přes kůži do přijímače**
- **Impulzy dráždí vnitřní ucho**

Přímé dráždění sluchového nervu

- Lze zajistit vnímání jen určitých frekvencí při zachování původního sluchu – např. pro lidi neslyšící vysoké tóny
- Lze využít i po lidech, kteří mají těžce poškozené vnitřní ucho



Elektroda pro napojení
na sluchový nerv

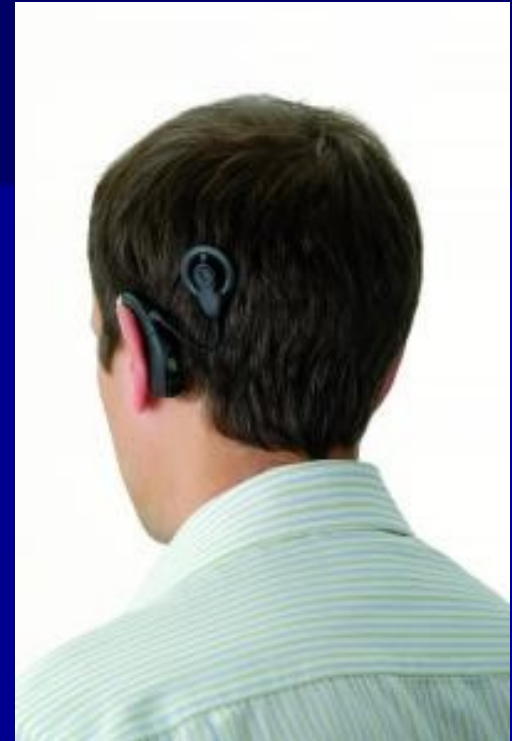
Auditory brainstem implant



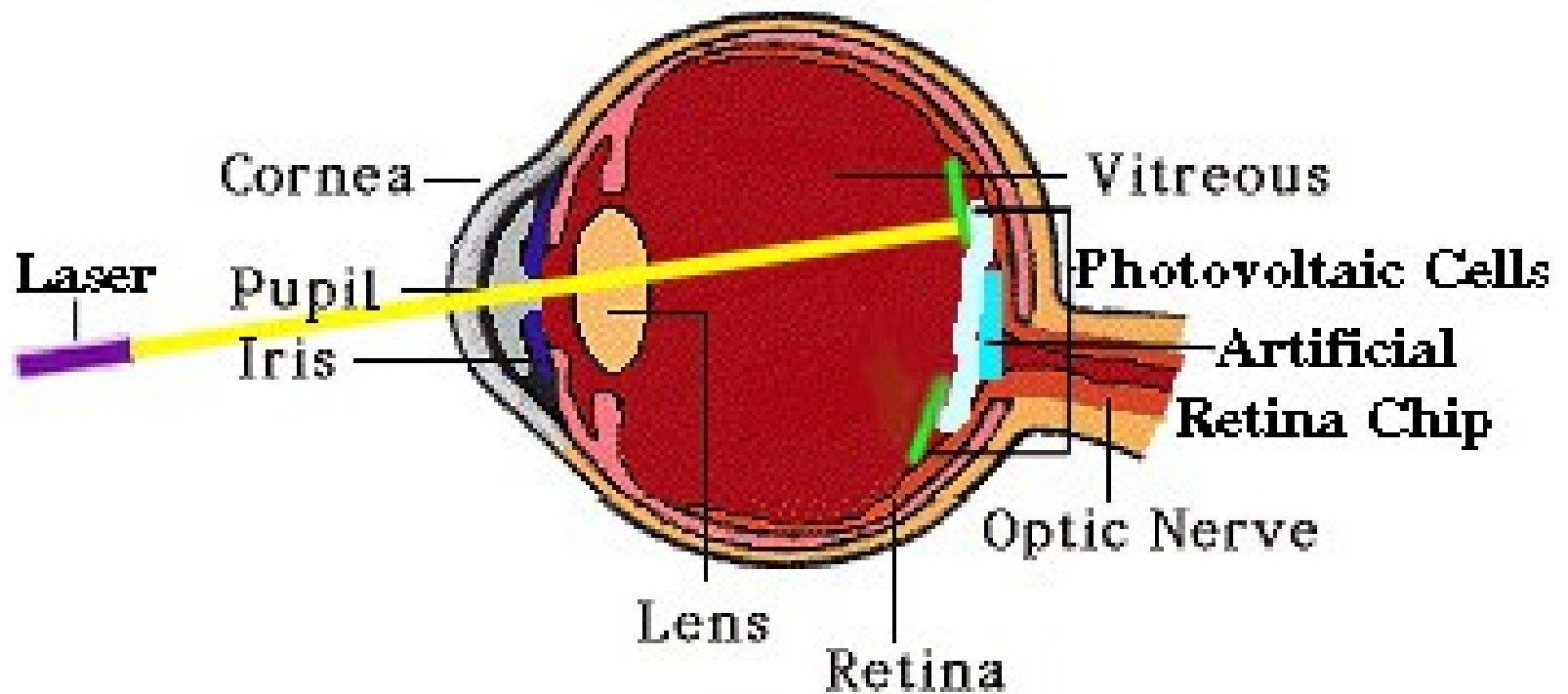
- **Elektrická
stimulace mozku
v cochlear nucleus**

Implantát pro korekci závratí

- Konceptně je podobný kochleárnímu implantátu.
- 3 elektrody - zavedeny do kanálek labyrintu vnitřního ucha
- Dráždí kanálek a navozují pocit rovnováhy
- Vzor impulsů určuje mikroprocesor analyzující pohyby
- Např. pro pacienty s Menierovou chorobou – prasknutí stěny labyrintu a výtok tekutiny

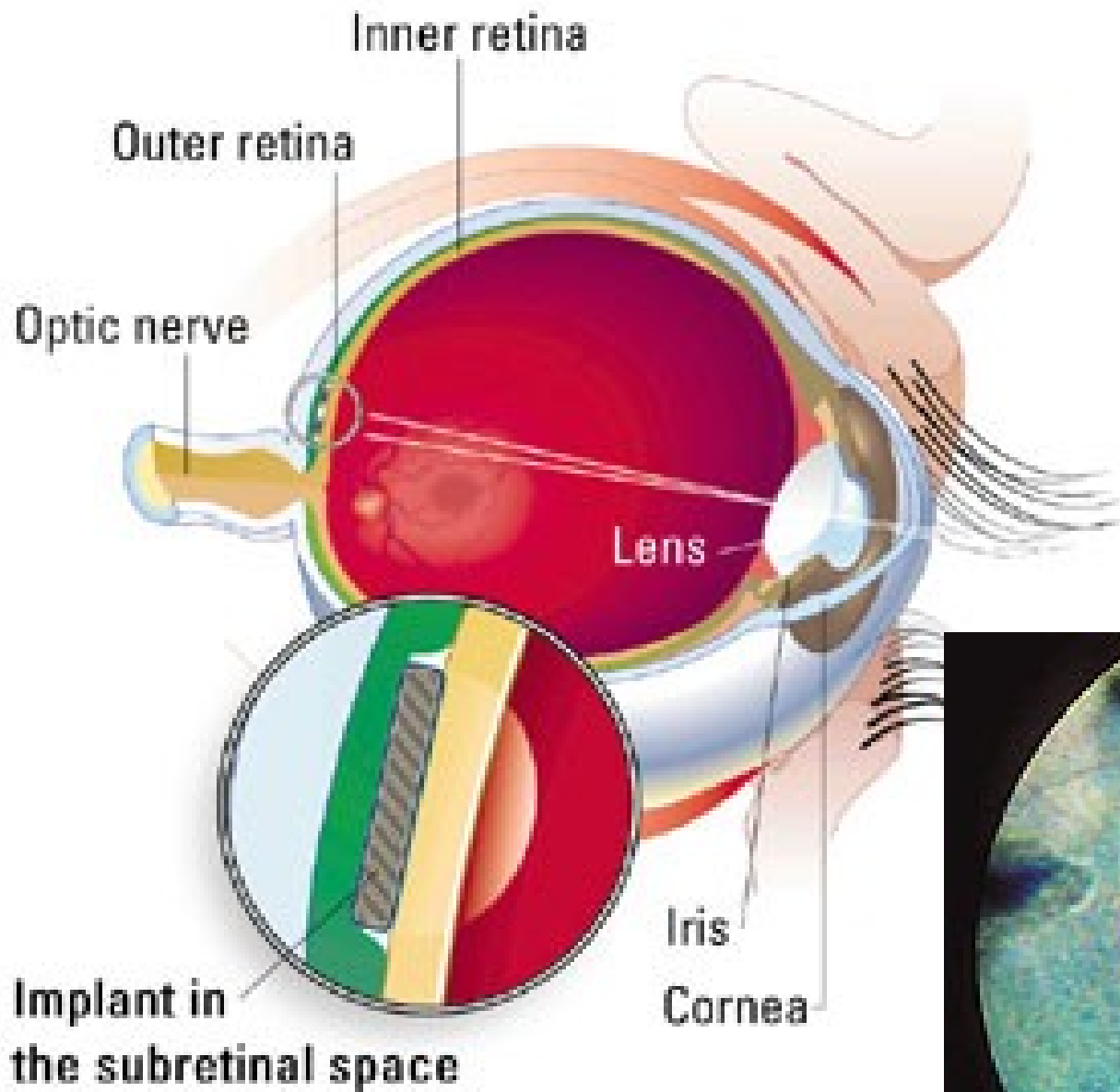


Umělá sítnice



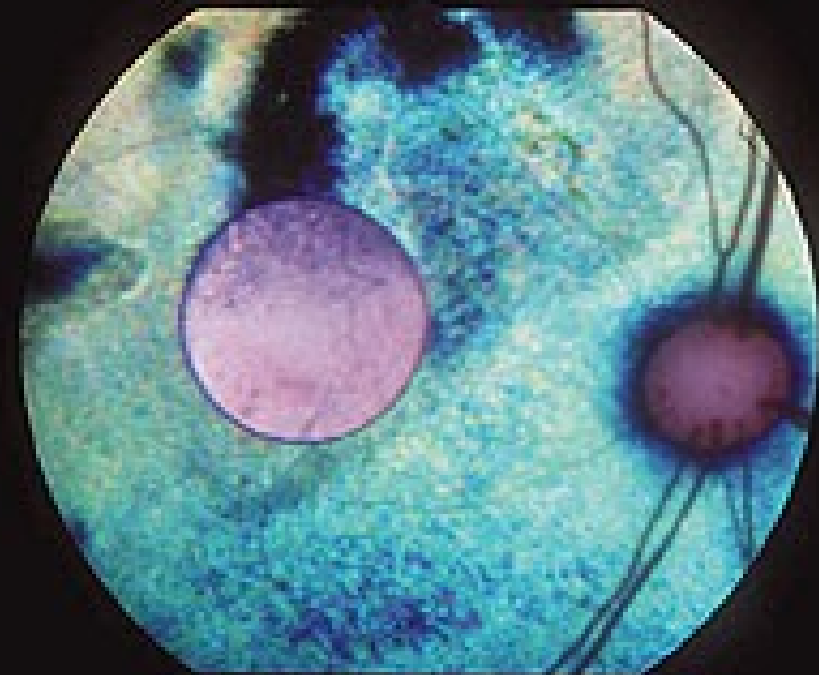
Lidské oko

- 
- 130 milionů světločivných buněk
 - 1,2 milionu gangliových buněk
 - ty vytvářejí zrakový nerv
 - Signál jde do zrakové kůry, ale zpracovávají ho i další centra
-
- Narušení kterékoli části - slepota



Umístění

- Na sítnici
- Pod sítnici



Co může být asi vidět?





Kareem Zaghloul

Umělá sítnice Univ. Penn.

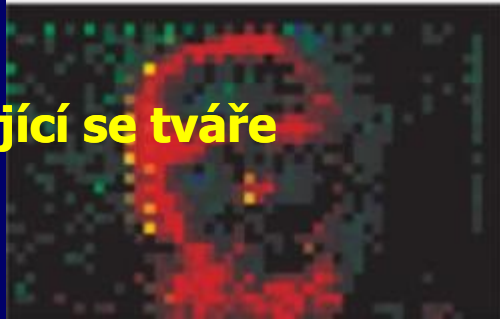
Signál na umělé sítnici



Generovaný obraz



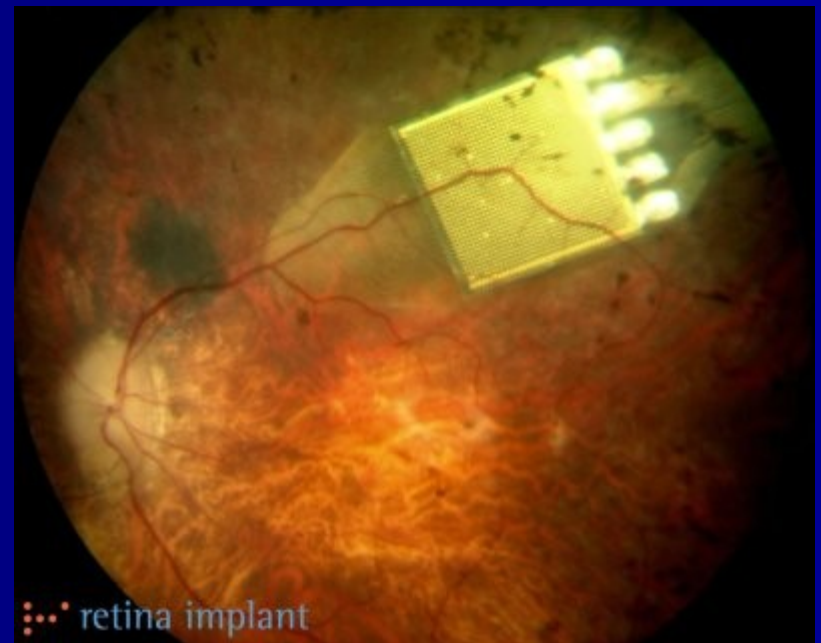
Obraz pohybující se tváře



- 3,5 x 3,3 mm
- 5760 fototranzistorů
- 3 600 tranzistorů pro generování signálu do očního nervu
- 13 různých typů tranzistorů
- Sama se přizpůsobí světlu a kontrastu

V klinických zkouškách

- Retinal Implant AG - Tübingen
- 1500 fotodiod
- Zesilovače
- Rozměr 3 x 3 mm
- Zorné pole 10°
- Černobílý obraz



Umělé srdce



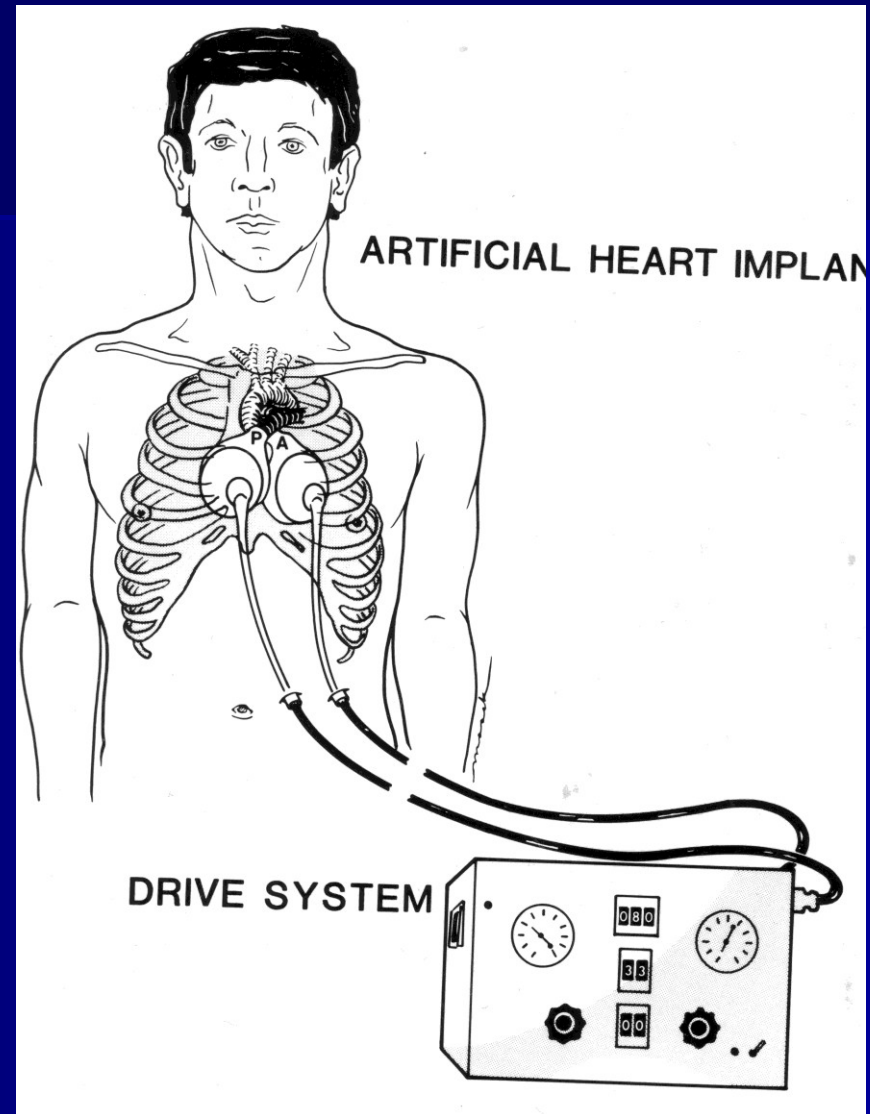
Jarvik 7 (1982)



Barney Clark

Jarvik 7

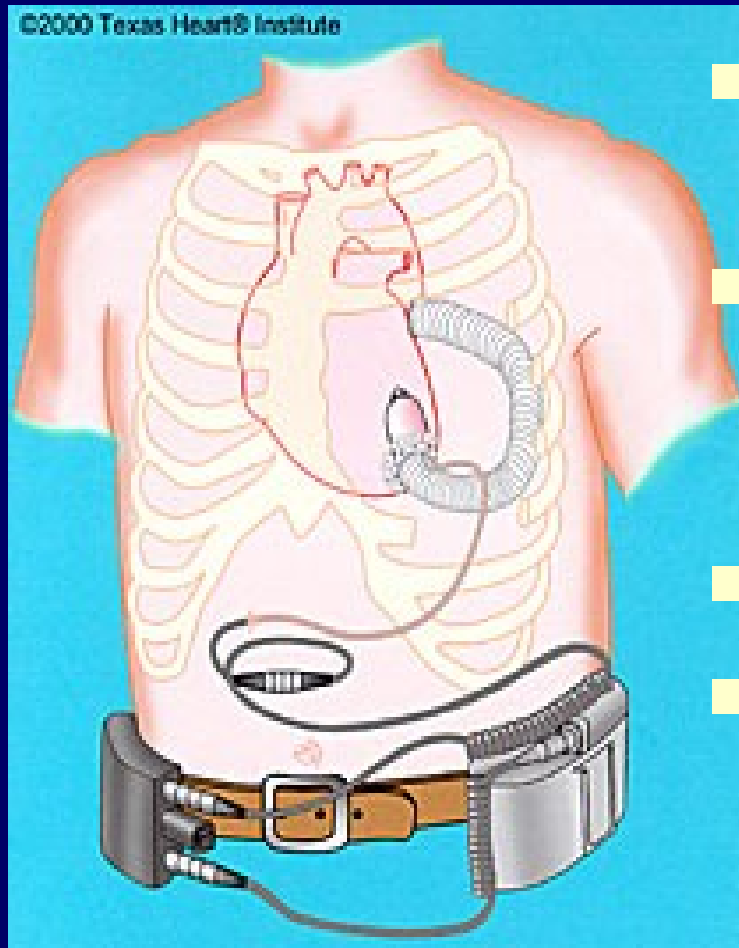
- Dálkové ovládání
- Vnější zdroj napájení



Jarvik 2000

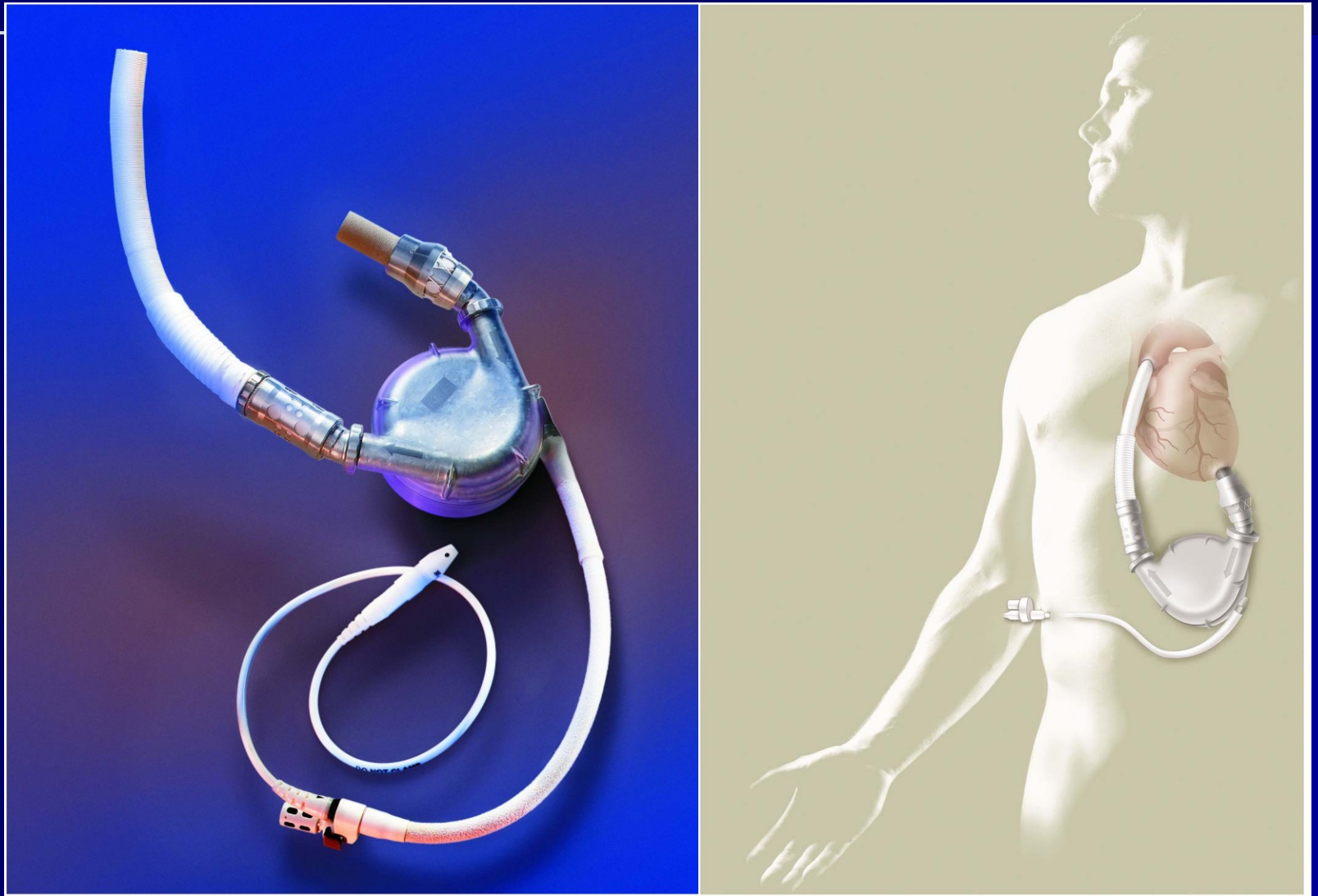


„Pomocná pumpa“



- **Voperuje se do nemocného srdce**
- **Pacient s ním může dlouhodobě žít**
- **Indukční dobíjení**
- **Jeho vlastní srdce přitom regeneruje**

HeartMate (Thoratec)



The New England Journal of Medicine (Birks et al. 2006)

- 15 pacientů s těžkým postižením srdce
- Operace HeartMate + léky
- U 11 - HeartMate po roce (320 ± 186 dní) vyňat
- U jednoho arytmie a smrt do 24 hod.
- Ostatní návrat stavu srdce k normálu



Patient Jon Bayman (pictured above with his partner) was given two weeks to live after suffering catastrophic heart failure in 2001. Since taking part in the trial he is almost back to full strength

Abiocor - r. 2001



Mike Simons

– první pacient



- **Úplná náhrada**
- **Zcela autonomní**
- **Pokud selže,**
je konec
- **Pacient nemá tep**

Bionické protézy

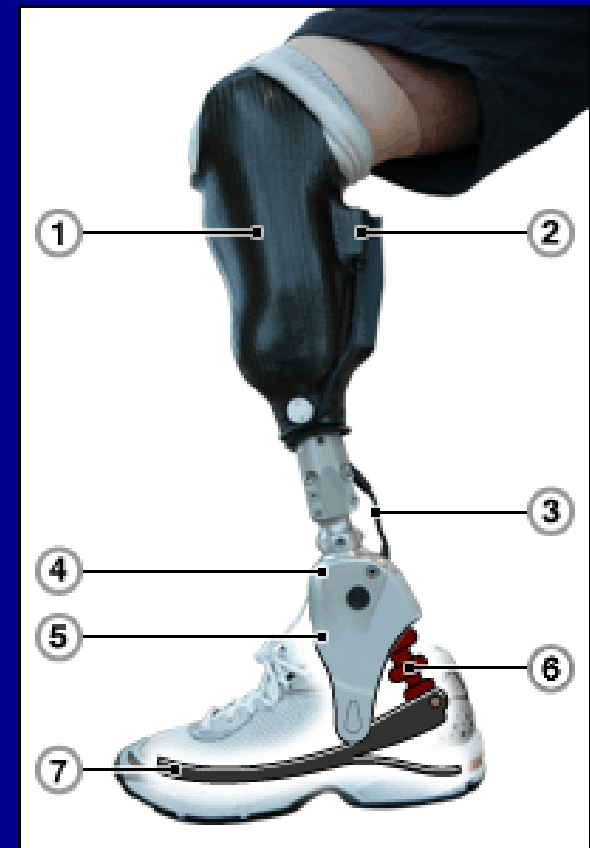
- Obsahují
 - senzory
 - svaly
 - terén
 - mikroprocesor
 - motor
- Šetří námahu
- Jistější pohyb



Mark Inglis – NZ
Everest - 2006



- 1 - manžeta
- 2 – baterie
- 3 – kabel napájení
- 4 – ovládací klávesnice
- 5 – senzory akcelerace,
sklonu, detekce schodů
- 6 – pohon pro patu
- 7 - při každém kroku
vedeny do pohybu „prsty“



60 000 liber

SenzorHand Speed

- Pracuje do -20°C (i v rukavicích)
- Napětí: 6/7.2 V
- Rozevření 100 mm
- Rychlost pohybu prstů 15-300 mm/sec
- Síla stisku 0-100 N
- Hmotnost 460 g
- Levá, pravá
- Velikosti: 7 1/4, 7 3/4, 8 1/4





Elektronické zápěstí

Elektronický loket

- Udrží asi 20 kg
- Zvedne asi 6 kg
- Plný rozsah pohybu za 0,5 sekundy
- Přirozené „komíhání“ za chůze



Programování

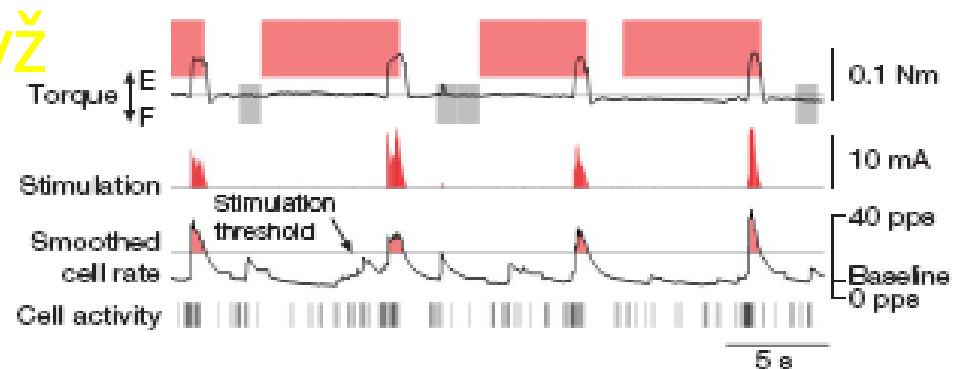
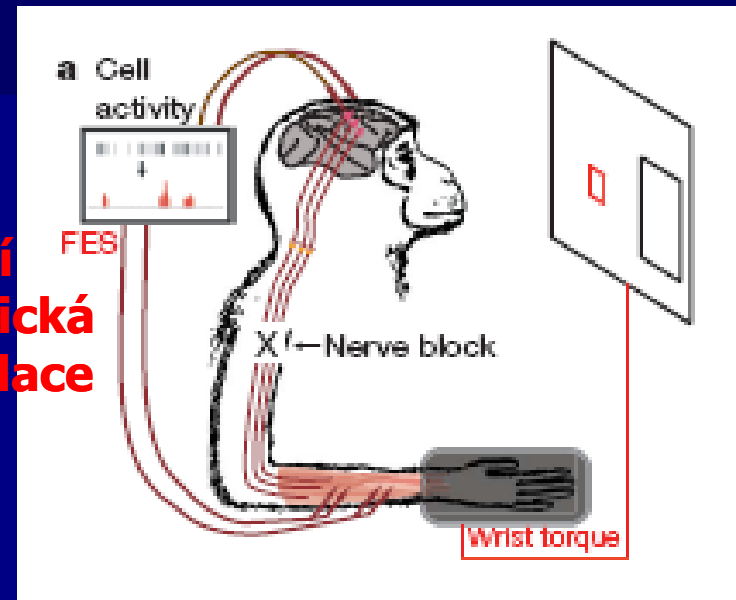
- Protézy lze uzpůsobit
 - pacientovi
 - podle podmínek



Ovládání ochromené ruky

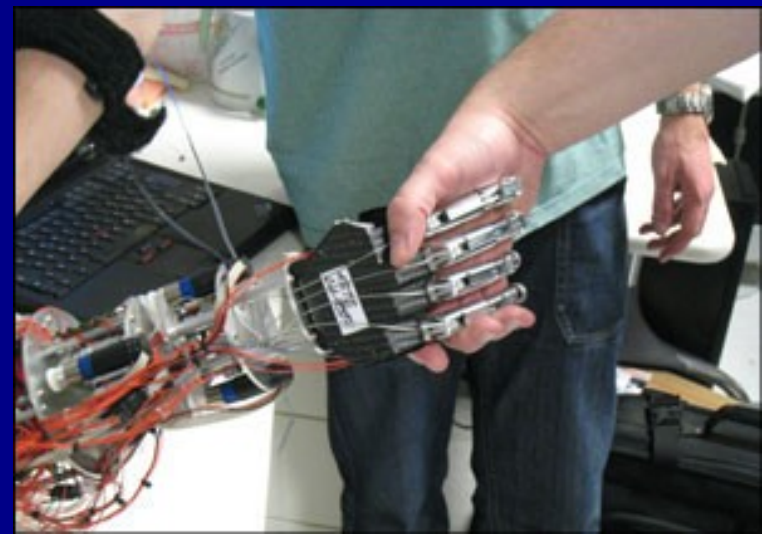
- Vyřazení nervů ruky z činnosti
- Transport signálů z pohybového centra mozku do svalů ruky
- Ruka se pohybuje podle instrukcí mozku, i když její nervy nevedou signál

Fukční
Elektrická
Stimulace



SmartHand

- Napojení elektrod přímo na nervy končetiny
problémy s udržením funkčního spoje
- Zpětná vazba (hmat)
- Vyvíjená v EU ve spolupráci s dalšími zeměmi (Izrael)



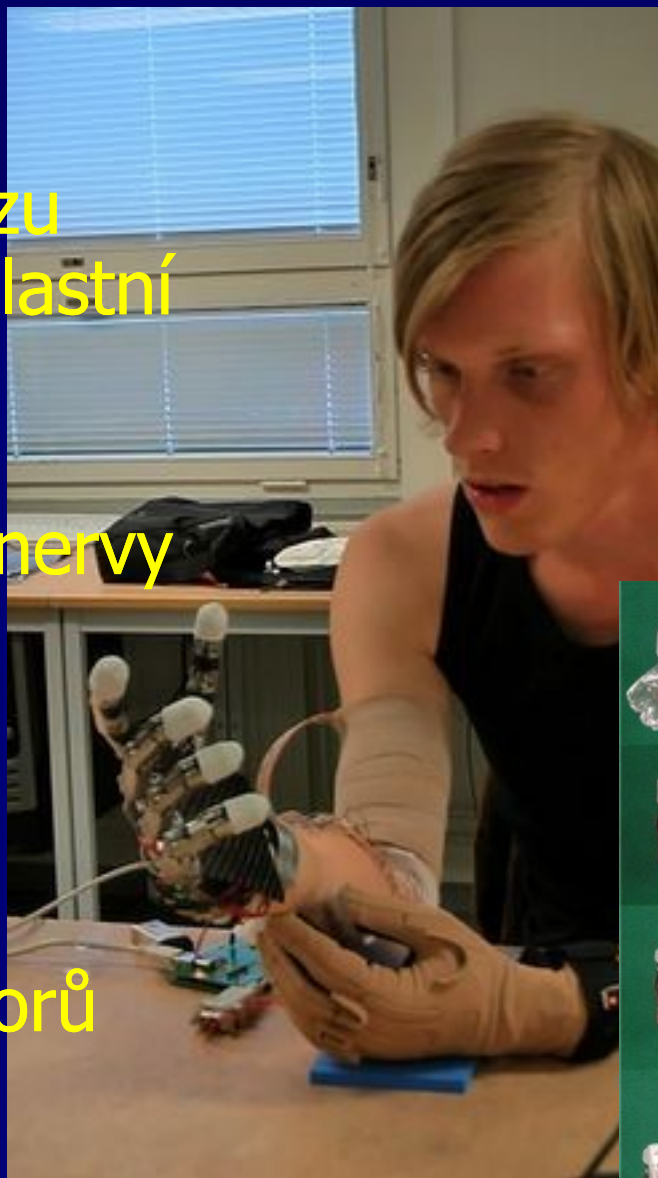
SmartHand

Pacient vnímá protézu subjektivně jako vlastní končetinu

Interface napojuje protézu přímo na nervy

Elektrická stimulace nervů ulevuje od fantómové bolesti

- 4 servopohony
- 40 tlakových senzorů
- Lze psát tužkou
- Funguje hmat



eLEGS – Berkeley Bionics

- Programovatelná jednotka řídí servomotor v kyčli a koleně.
- Dovoluje chůzi s využitím pohybových reflexů, které u ochrnutých zůstaly zachovány
- Přístroj může chodit i sám bez člověka

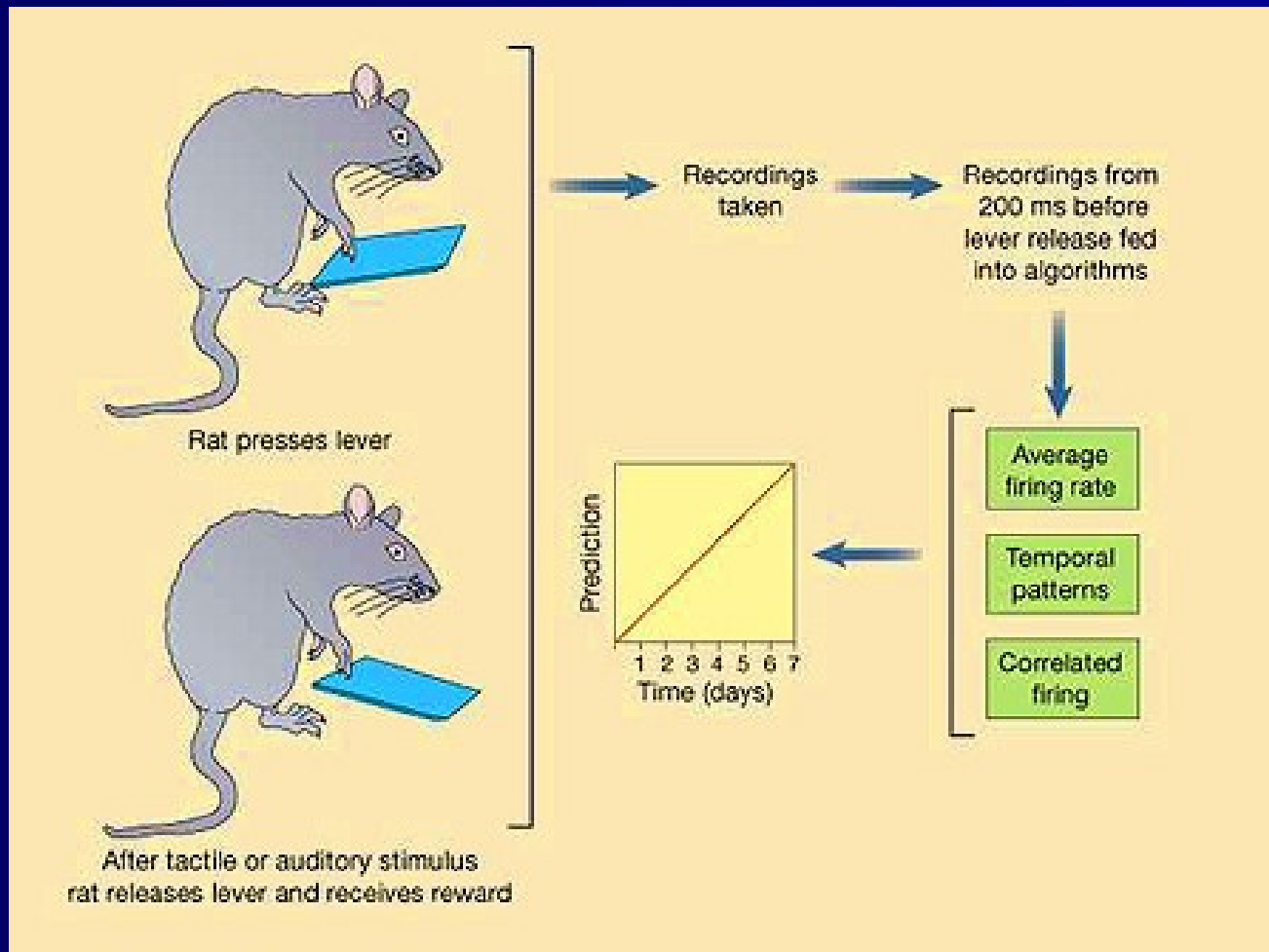


BMI

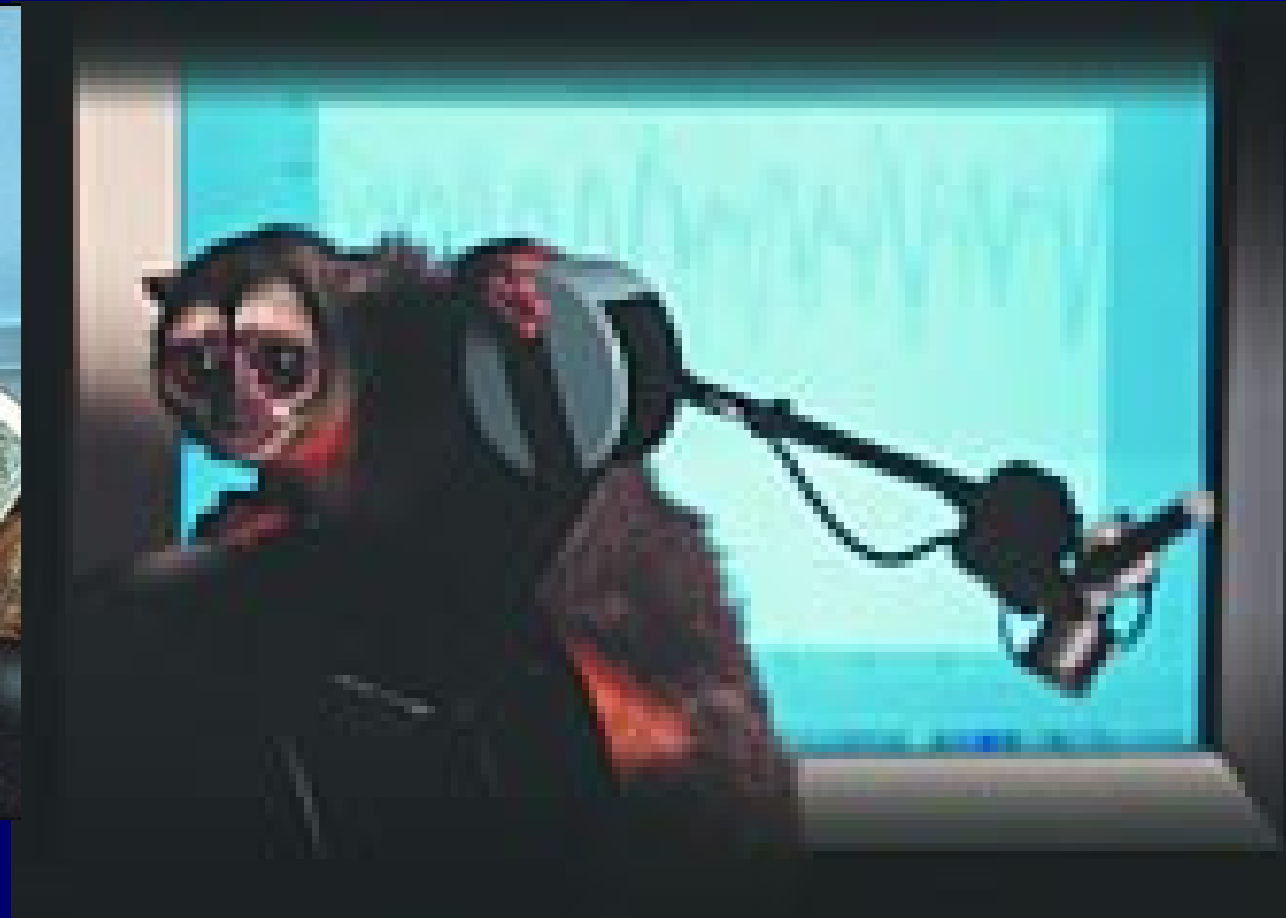
- brain machine interface



Převod nervových vzruchů na povely pro elektronická zařízení

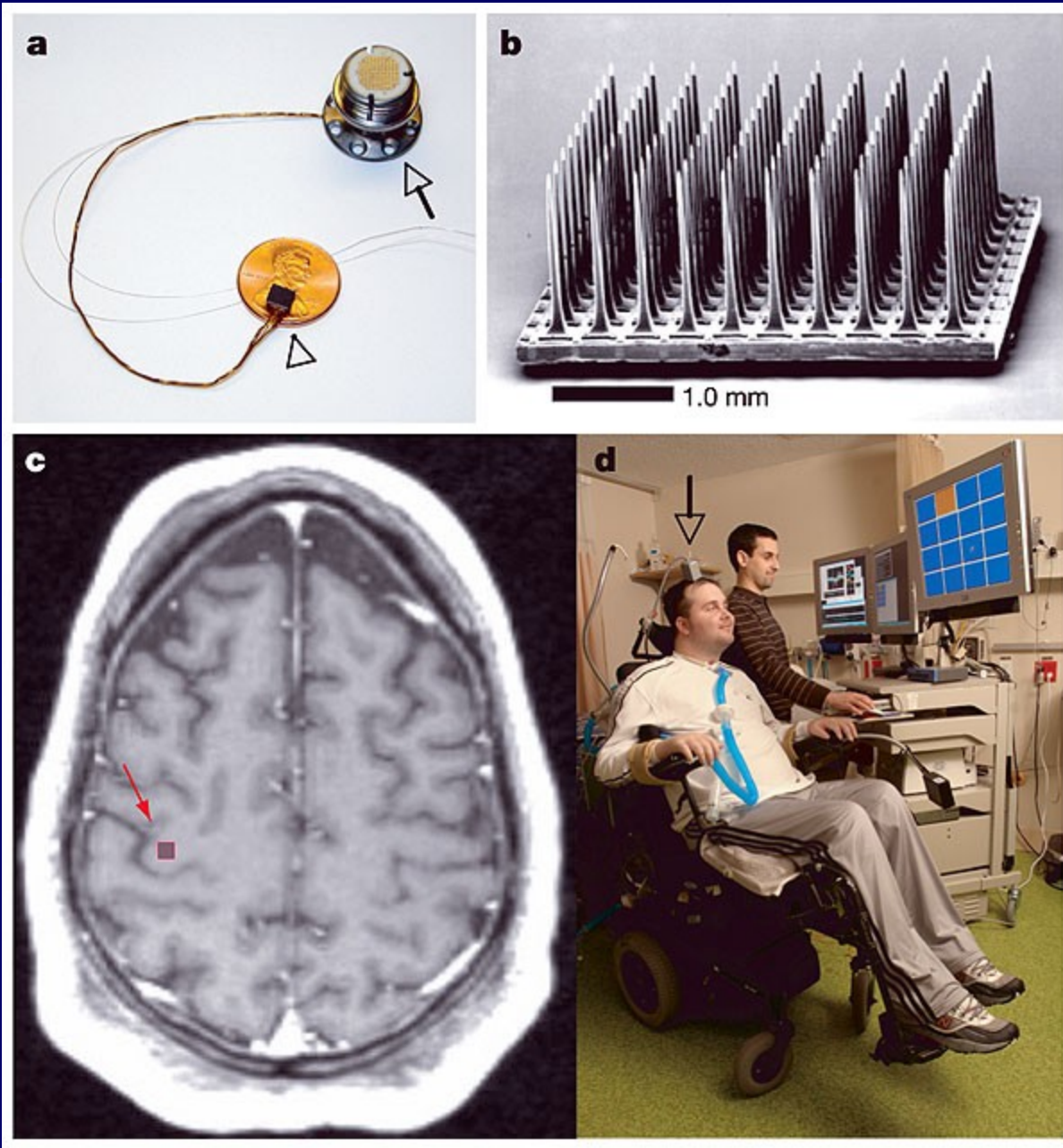


Vývoj protéz ovládaných myslí

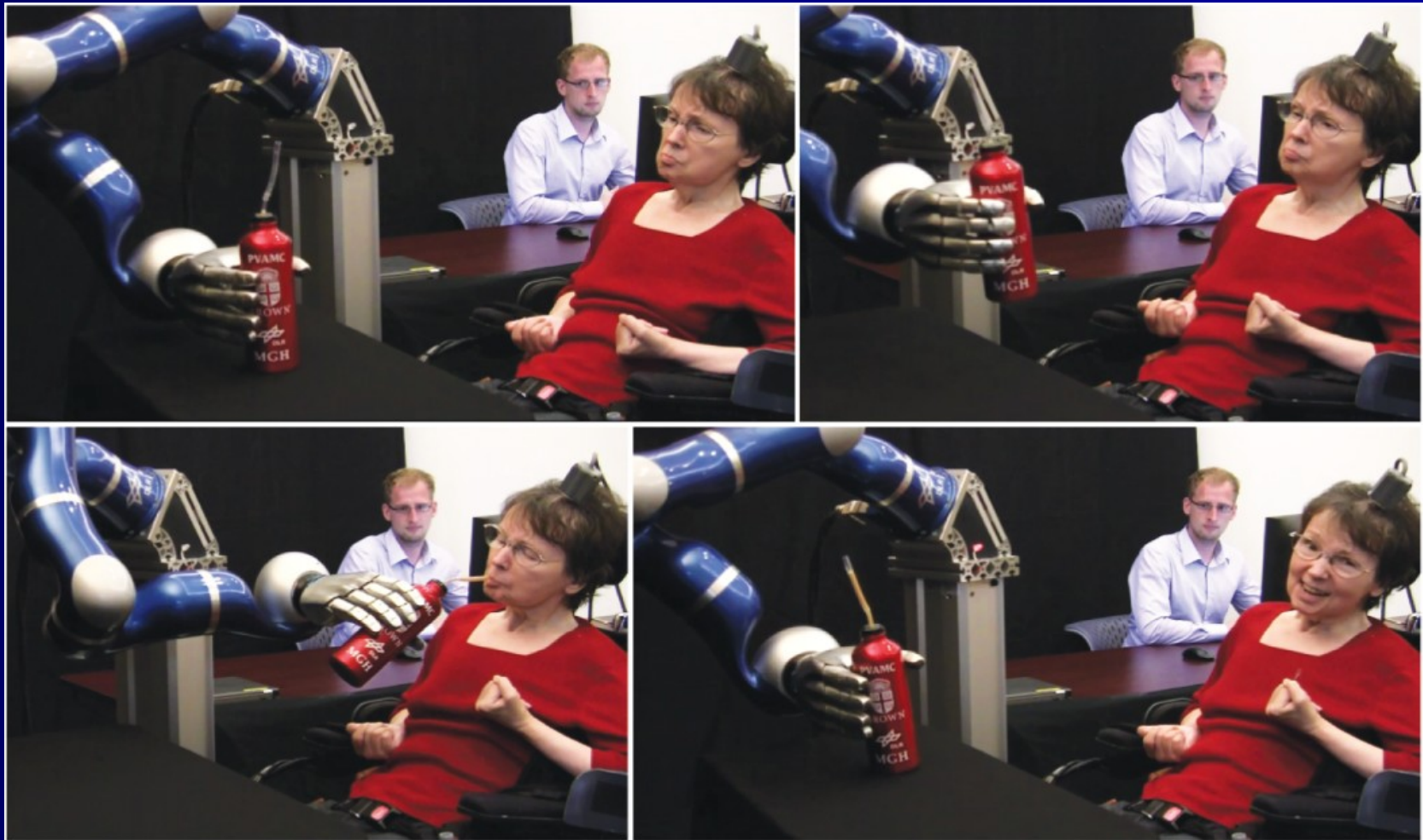


BrainGate





BrainGate – ovládnání robotické ruky (2012)



Ovládání ochrnuté ruky

Pacient ochrnutý od 19 let po úrazu míchy při skoku do vody

Neovládá

- Nohy
- Ruce od lokte



Ovládání ochrnuté ruky

100 elektrod do pohybového centra mozku

Elektronický „rukáv“ pro stimulaci svalů

Trénink 4 hod. 3x týdně po tři roky

- Pohybuje rukou
 - Pohyb jednotlivých prstů
- 70% přesnost pohybů



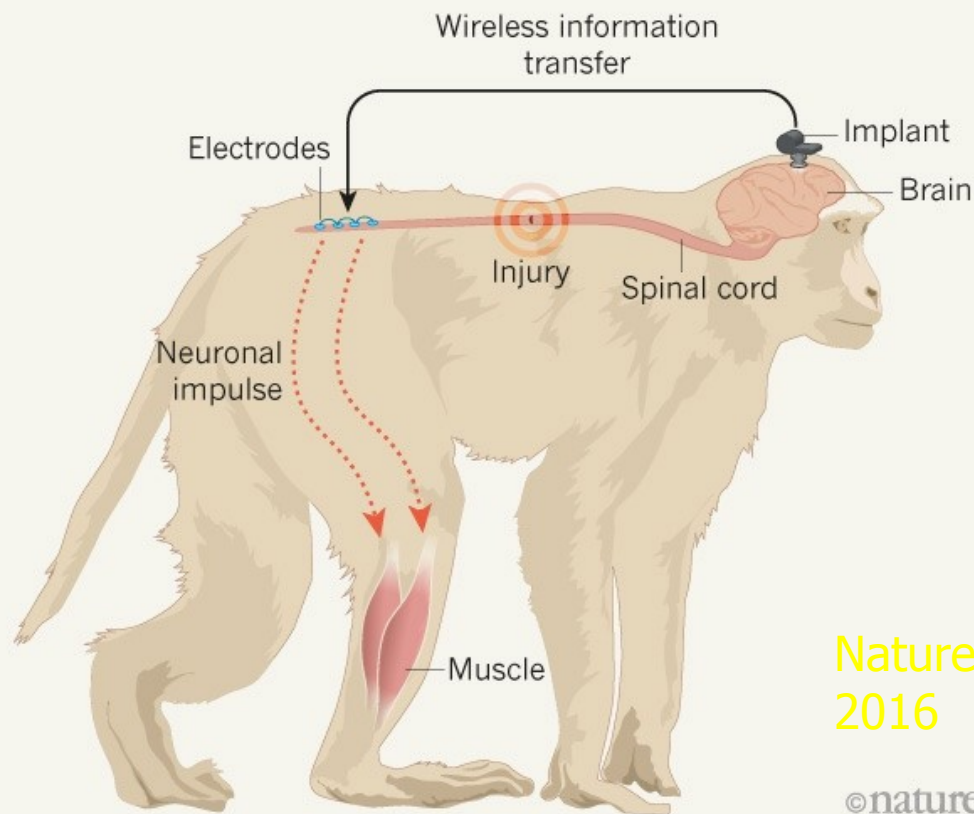
Bezdrátový přenos informace mozek - mícha

Makak s přerušenou
míchou chodí

- Snímání signálu
z mozku
- Vysílání
do přijímače
- Stimulace míchy
elektrodami

PARALYSED PRIMATES WALK

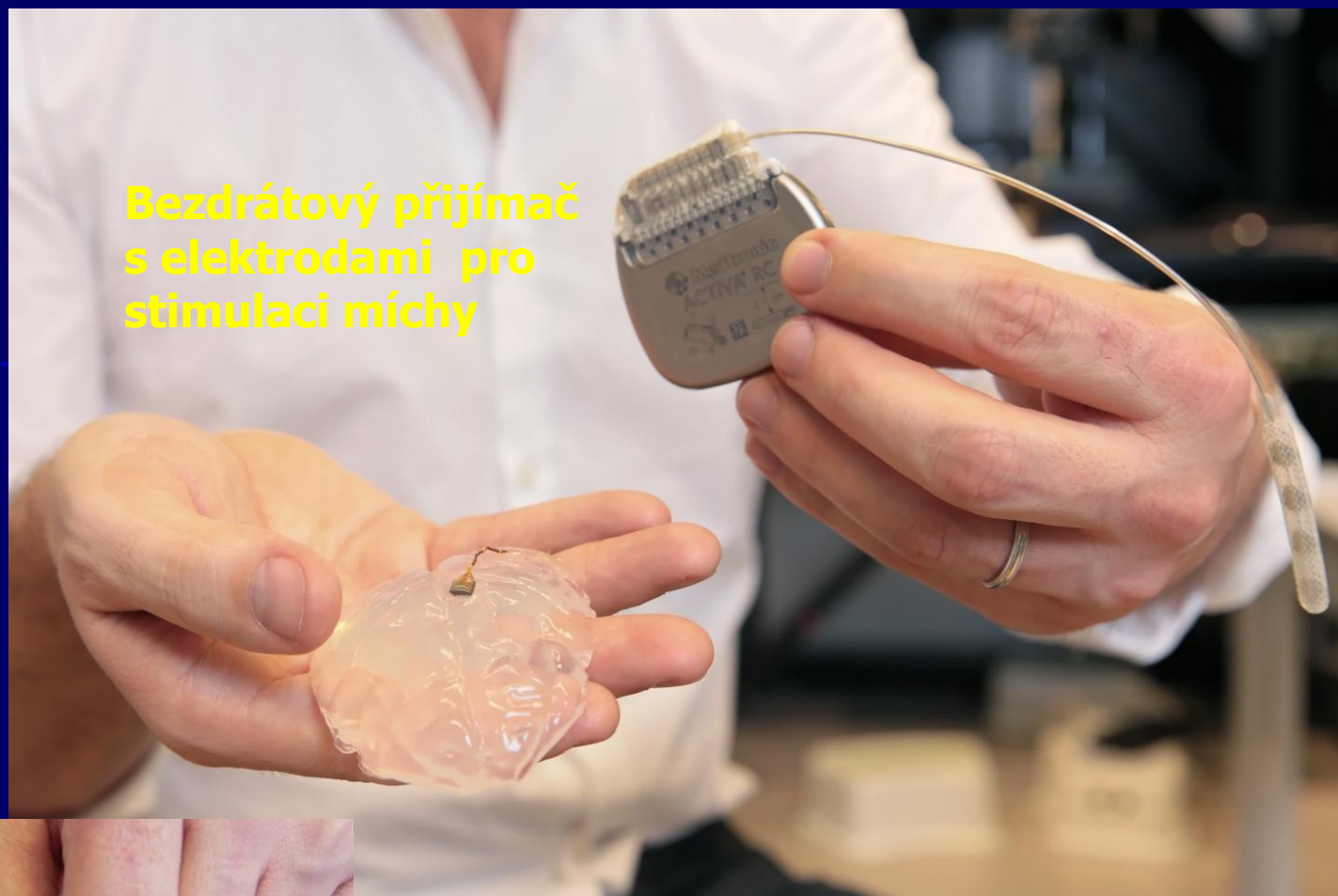
A wireless implant bypasses spinal-cord injuries in monkeys, enabling them to move their legs.



Nature
2016

©nature

**Bezdrátový přijímač
s elektrodami pro
stimulaci míchy**



Elektrody pro snímání vzruchů z mozku



José Delgado – Yale Univ. 1965



Roborat

– elektronicky ovládaný potkan



Kortiko-spinální protéza

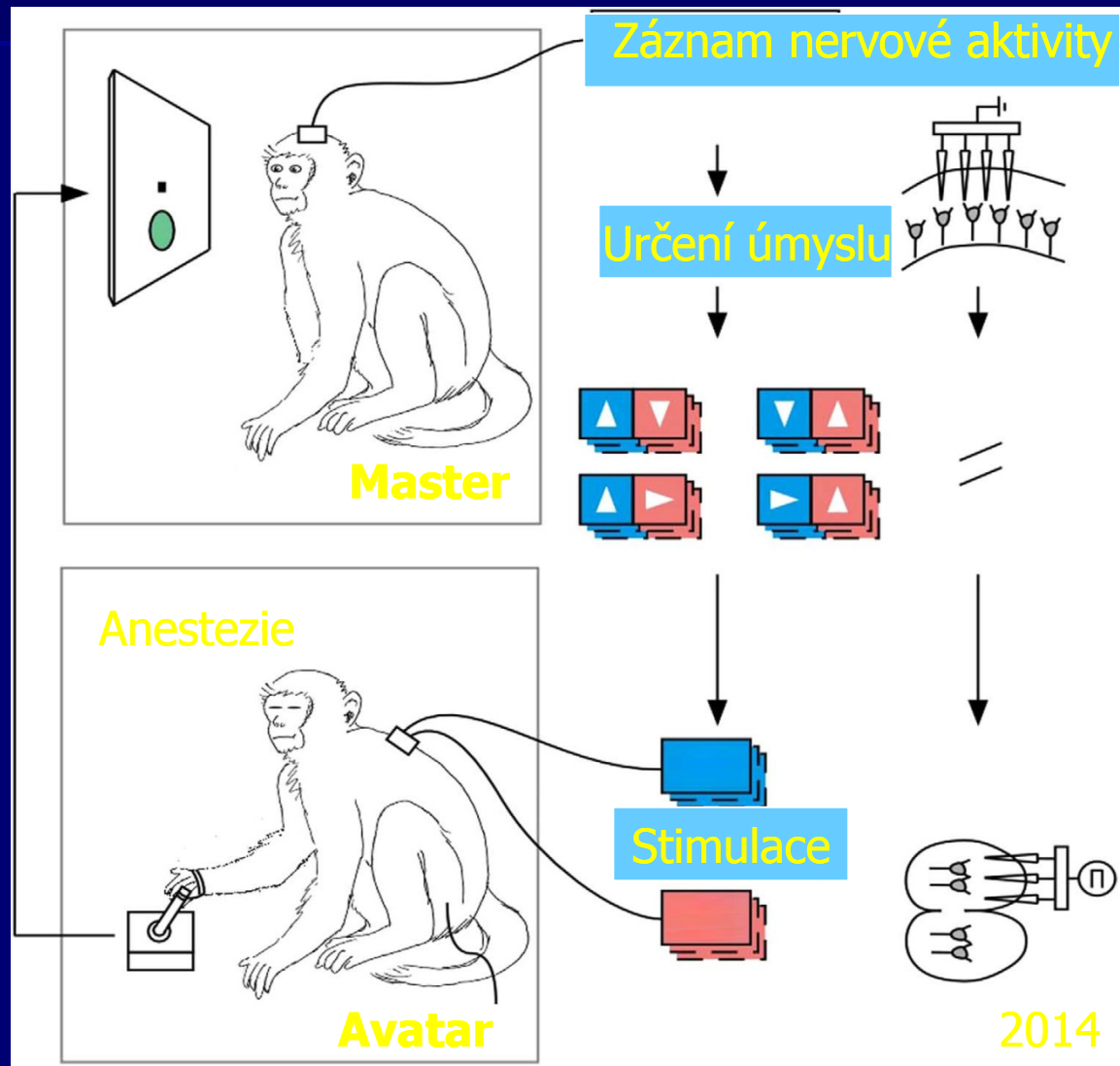


Master

- Představuje si pohyb končetiny pro pohyb kurzoru
- Kontroluje výsledek

Avatar

- Pod anestezií
- Vykonává pohyby po stimulaci míchy i po přímé stimulaci svalu paže



Brain-to-brain interface



Brain-to-brain interface

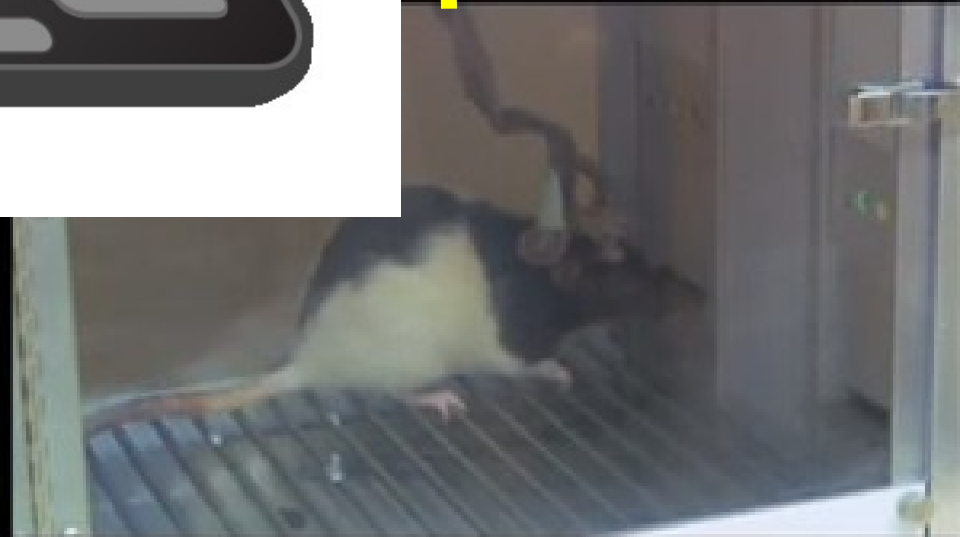
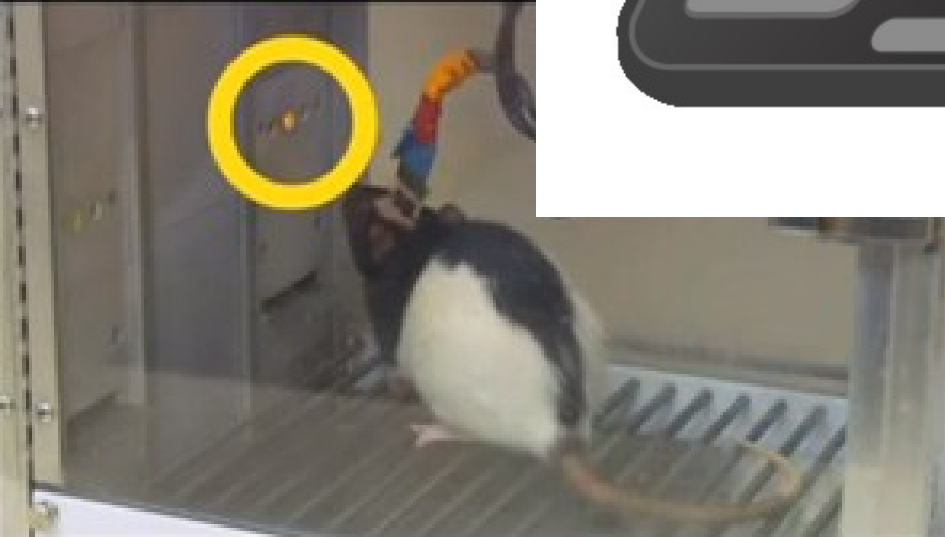


Miguel
Nicolelis

Encoder



Decoder



Brain-to-brain interface

- Potkan „odesílatel“ dostane signál
- Volí naučenou reakci - zmáčkne správnou páku
- Dostane odměnu
- Vzruchy z jeho mozku jsou sejmuty elektrodami a přeneseny do počítače
- Dekódování vzruchů a jejich „překlad“ do stimulačního signálu pro „příjemce“

Brain-to-brain interface



- Potkan „příjemce“ reaguje na vzruchy generované počítačem tak, že volí naučenou správnou odpověď, i když nedostal signál (světlo). Dostane odměnu
- Pokud dostane odměnu za správné řešení „příjemce“ i „odesílatel“, je příští signál z nervového centra „ostřejší“ a pro „příjemce“ snáze „čitelný“

Brainet – síť mozků

- 3 makaci
- Každý ovládá kurzor ve 2 osách
- Výsledný pohyb kurzoru složením povelů od všech 3 opic
- Spoluprací splní úkol a dostanou odměnu (Scientific Reports, 2015)



Etické otázky kolem kmenových buněk

- Primum non nocere
především neublížit
- ESC - obrovský příslib
pro léčbu mnoha chorob
- Výzkum probíhá velmi intenzivně
- Veřejnost má obavy

Etické otázky kolem kmenových buněk

- **Zdroj kmenových buněk**
- **ESC nebo ASC?**
- **Dárcovství oocytů**
- **Máme prodlužovat lidský život buněčnou terapií?**

Zdroj ESC

Vědci

- Embryo
- Rané stádium (blastocysta)
- Nejsou vyvinuty orgány
- Izolovaná ICM – nemůže z ní vzniknout člověk
- Embryo není jedinec, osobnost



Zdroj ESC

Některé církve

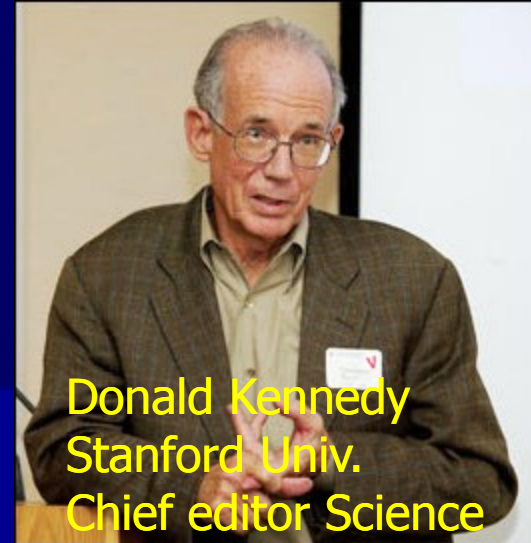
- Embryo
- Člověk je osobností od okamžiku oplození
- Embryo je jedinec, osobnost
- Tvorba ESC je destrukcí člověka



Záchrana nadbytečných embryí z IVF



Donald Kennedy



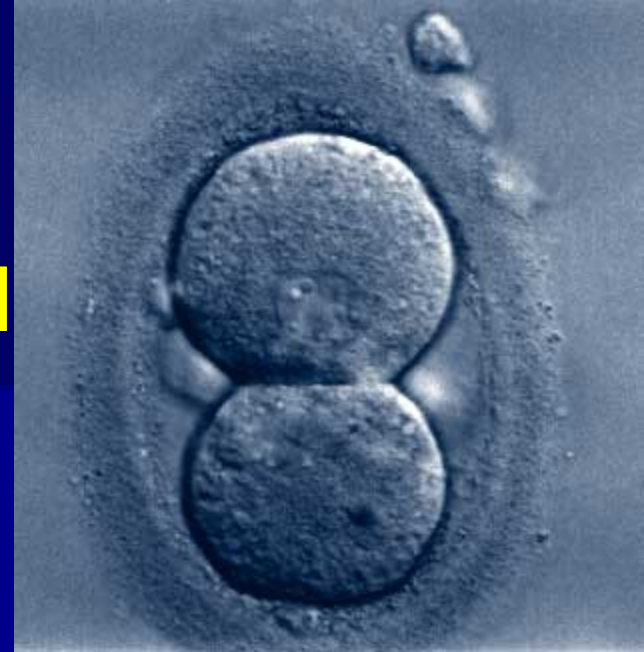
„Toto vyhlášené dilema

(vznik ESC a zničení embrya)
nevzniká konfrontací vědy a
obecných etických zásad.

Naopak, námitky vyvěrají z
určitého názoru – víry – na to,
co je podstatou lidského
života. Tento názor zastávají
jen někteří věřící, ale ostatní
nikoliv.“

Obecná shoda o lidském embryu

- Vyžaduje respekt
- Nakládání s ním nelze komercializovat
- Nesmí se s ním zacházet jako se zbožím
- Získávání embryí je eticky citlivá věc



Zdroj embryí

- Nadbytečná embrya z IVF
- Embrya vytvořená jen pro tvorbu ESC
IVF, terapeutické klonování

Nadbytečná embrya z IVF

- Nakládání s nimi musí provázet respekt k embryu
- Rodiče by měli být informováni o možnosti darovat embrya na ESC až ve chvíli, kdy se rozhodnou pro zničení nadpočetných embryí
- Za embryo by se nemělo platit

Důvody pro tvorbu embryí

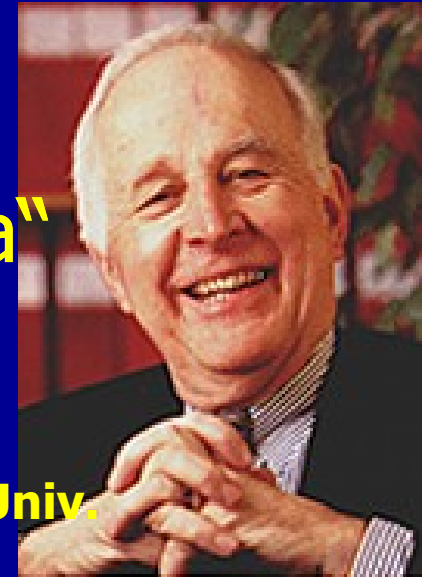
- Embrya z IVF nemají dostatečné spektrum genotypů pro výzkum
- Pro výzkumné účely – vytváření ESC od jedinců s těžkými dědičnými chorobami
- **Mezinárodní konvence zakazují tvorbu lidského embrya pro výzkum**

Statut embrya z IVF a terapeutického klonování

- IVF – kombinace genomu gamet
- Terapeutické klonování – rediferenciace somatické buňky
- **Vzniká terapeutickým klonováním embryo?**

Embryo vzniklé terapeutickým klonováním

- Nevzniklo kombinací genomu gamet
- Nevzniklo s cílem narození člověka
- Jeho vývojová schopnost je snížena
- Oplozením – zygota
- Klonováním – klonota (clonote)
„je vyrobena spíše než zplozena“



Paul McHugh
Johns Hopkins Univ.

„Klonota“



„Zničení lidského embrya vzniklého klonováním a následná tvorba embryonálních kmenových buněk představuje menší etický problém než zničení zamražených embryí na klinikách pro IVF.“

Rudolf Jaenisch

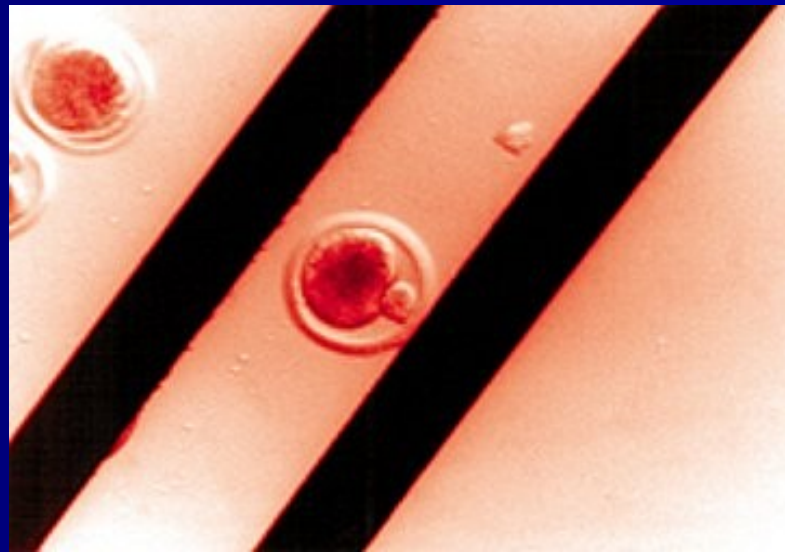
Odpůrci terapeutického klonování

- Výzkum terapeutického klonování otevírá cestu pro reprodukční klonování, protože vede k vylepšení technik přenosu jader
- Reprodukční klonování je nepřijatelné



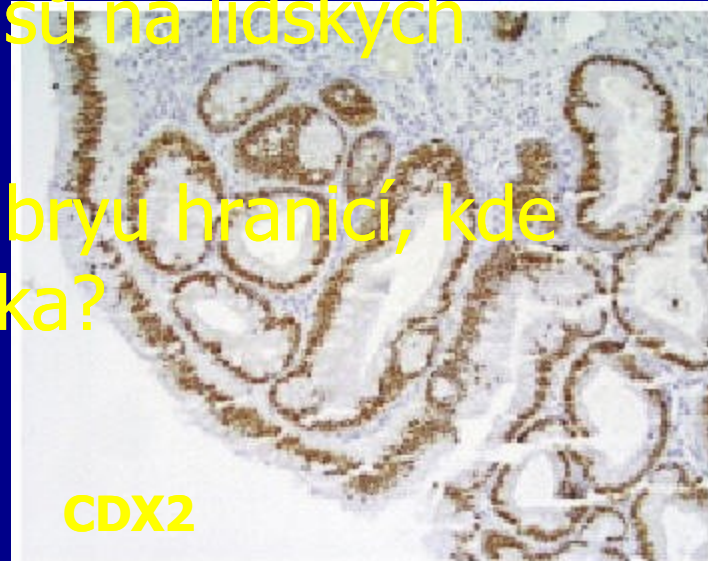
Odpůrci terapeutického klonování

- Lidský život si zaslouží ochranu od okamžiku oplození vajíčka spermií
- Při terapeutickém klonování ale nedochází k početí splynutím vajíčka a spermie



Tvorba ECS z handicapovaných embryí

- Zablokování genu CDX2 nutného pro vývoj trofoblastu - z ICM lze získat ESC
- Zatím jen u myši
- Má gen CDX2 u člověka stejné funkce?
- Ověření – jen pomocí pokusů na lidských embryích
- Je funkce genu CDX2 v embryu hranicí, kde začíná morální statut člověka?



Tvorba ECS z handicapovaných embryí

- Embrya vzniklá fúzí lidské somatické buňky a zvířecího cytoplastu (králík, skot)
- Není to chiméra
- Kombinuje lidský jaderný genom se zvířecí mtDNA
- Je riziková
 - nepovoluje se



Julian Savulescu



Savulescu
University
of Melbourne

„Je z morálního hlediska něco špatného na výzkumu na buňkách, které jsou odvozeny od somatických buněk a nikdy by se nevyvinuly v embryo?“

Dnes produkujeme lidské proteiny vnášením lidské DNA do zvířat. Zdá se, že proti tomu nikdo nic nenamítá. Když tak můžeme vyrábět proteiny, tak proč ne třeba krvinky?“

Dárcovství oocytů

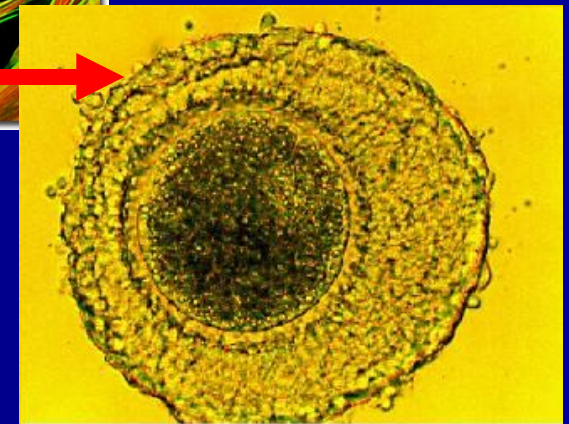
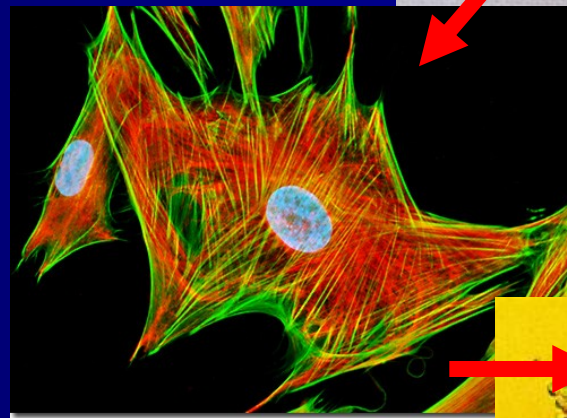
- Je zapotřebí velké množství lidských oocytů
- Pro dárkyně to představuje rizika
- Hyperstimulační syndrom u 1% žen vážné komplikace selhání ledvin, plic, šok, ruptura vaječníku
- Platby – motiv pro chudé ženy
- (Indie – prodej ledvin na transplantace)



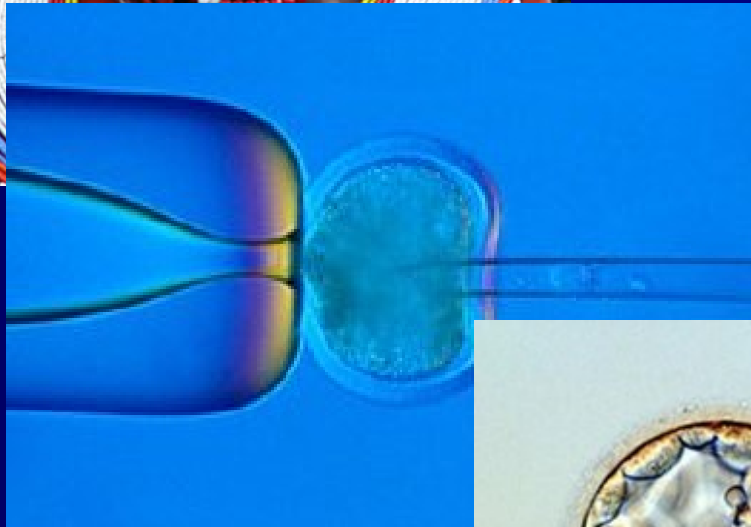
Možnosti produkce oocytů in vitro



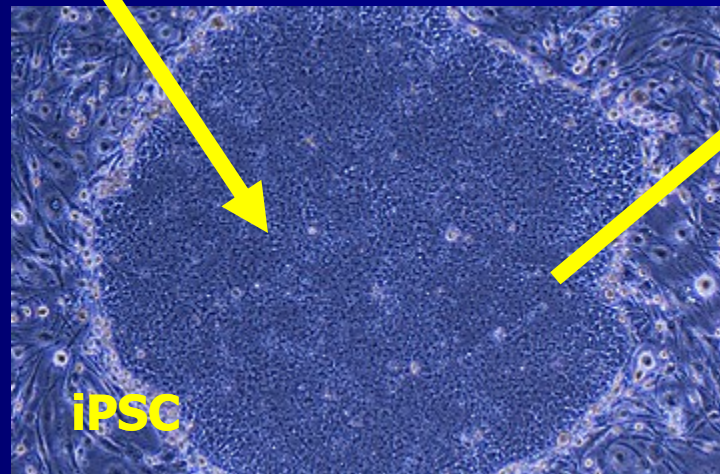
Julang Li
University of Guelph



Možnosti produkce oocytů in vitro



Možnosti produkce oocytů in vitro



Prodloužení života zpomalení stárnutí



- Co se stane, když bude buněčná terapie pomocí ESC skutečně funkční, levná a tudíž široce dostupná?
- Bude využita pro prodloužení života zpomalení stárnutí
- Jaké to bude mít následky?

Prodloužení života zpomalení stárnutí

- Smrt dává životu naléhavost
smysl
- Bude silně prodloužený život tak plnohodnotný jako ten „krátký“?
- Budeme ještě chtít mít děti?



Prodloužení života zpomalení stárnutí

- Společnost se „renovuje“ s každou novou generací
- Co se stane se společností, která bude stárnout bez dětí?
- Naruší se přenos tradic a kultury?



Prodloužení života zpomalení stárnutí

- Zahlcení společnosti schopnými
„glut of able“
- Zastaví se střídání generací
v řízení firem
v politice
ve vědě
v kultuře

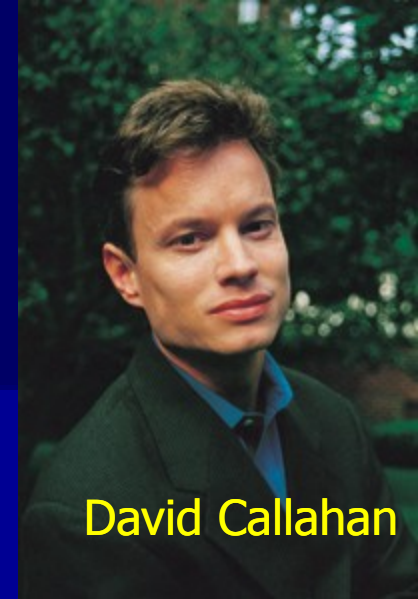


Frederick McCubbin
An old politician
1879

Prodloužení života zpomalení stárnutí

- Charles Mann: The Coming Death Shortage
„nástup nedostatku úmrtí“
- Prodloužení lidského života vyvolá hlubokou ekonomickou a sociální krizi
- Moc a majetek se nahromadí v rukou malé skupinky extrémně starých ale přitom zdravých a pracovně výkonných lidí.

Prodloužení života zpomalení stárnutí



David Callahan

- Neexistuje sociální potřeba prodlužování lidského života
- Lidí s tímto názorem přibývá
- Pokrok v medicíně

Měl by být využit k tomu, aby lidé umírali přirozenou smrtí v klidu a důstojně.

Nikoli k odvracení přirozené smrti.

ESC a veřejnost

- Většina lidí se v blízkém okolí (rodině) setkává s případy degenerativních onemocnění (Parkinson, Alzheimer, Duchenne aj.), které jsou potenciálně léčitelné buněčnou terapií s ESC.
- To formuje jejich vztah k ESC



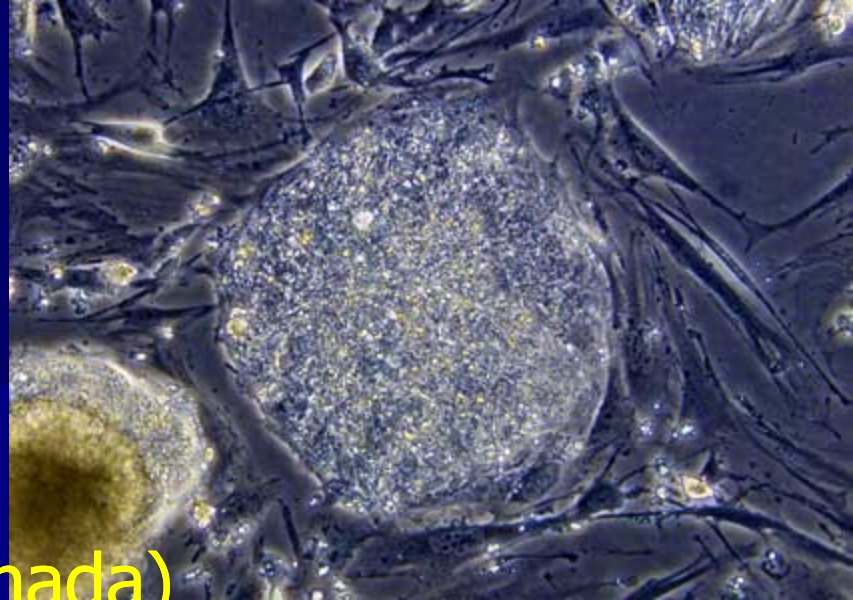
ESC a veřejnost



- Velký vliv mají postižené celebrity

Regulace ESC

- **Stupně regulace**
- Bez regulace (USA, Kanada)
- Úplný zákaz
- Povolen jen výzkum, nikoli tvorba ESC (Německo)
- Povolen výzkum i tvorba ESC
z nadpočetných embryí z IVF (ČR)
z terapeutického klonování (GB, Aus.)



ČR – zákon 227/2006 Sb.

- Výzkum ESC

- povoluje ministerstvo školství

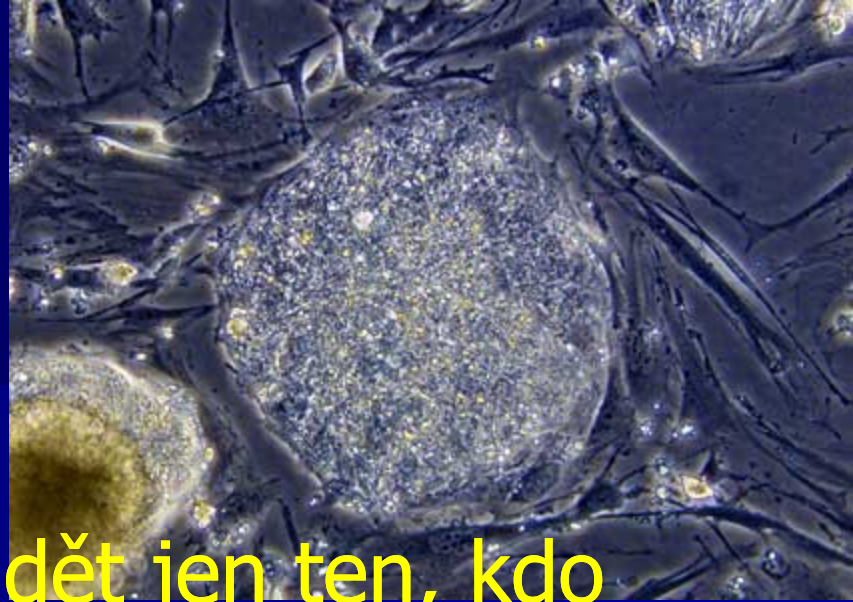
- Dovezené i nově vytvořené linie

- Vytváření ESC z embryí po IVF

- Není povoleno terapeutické klonování

- Bioetická komise – poradní sbor expertů

Regulace ESC



- Výzkum může provádět jen ten, kdo
 - 1) prokáže vysokou kvalifikaci
 - 2) prokáže, že výzkum přinese významné nové poznatky
 - 3) prokáže, že tyto poznatky nelze získat výzkumem na jiném typu buněk

Financování a patenty

- Soukromé zdroje
- Veřejné zdroje
- Patentování
- USA-

Patentovatelné - nové, zlepšující, fungující
bez ohledu na etiku

(ale nepatentovali lidsko-zvířecí chiméry)

- Evropa – v biotechnologiích
nelze patentovat věci, které jsou v rozporu
s dobrými mravy a morálkou



Patenty

- Výzkum financovaný ze soukromých zdrojů nemusí být vždy patentován

K jeho výsledkům může být volný přístup

- D. Melton (2004) – získal ESC pro výzkum dětské cukrovky za peníze ze soukromých zdrojů. Buňky poskytuje zdarma.



Douglas Melton
Harvard University

Patentování hESC v EU

- **2011 – Evropský soudní dvůr**
- Zákaz patentování hESC
- Lze i nadále patentovat „přidružené techniky“ (např. složení kultivačních medií) nebo samotné léčebné postupy
- Snahy omezit financování výzkumu hESC z fondů EU

Dostupnost buněčné terapie

- Lze předpokládat, že léčba pomocí ESC bude náročná technicky i finančně
- Obtížná dostupnost
 - V zemích s nízkou úrovní medicíny
 - V zemích, kde na to nebude stačit zdravotní pojištění



Dostupnost buněčné terapie

- Léčba pomocí ESC může být dostupná jen úzké skupině lidí
- Máme právo vynakládat veřejné prostředky na výzkum ESC, když jeho výsledky pak bude využívat jen elita?
- Je to jeden z bodů etických výhrad proti ESC



Dostupnost buněčné terapie



- Postupem času bude terapie s ESC dostupnější i pro méně movité
- Původní nerovný přístup se vyrovná
- Péče o neléčené nemocné představuje ještě větší ekonomickou zátěž
- Jsou tu i sociální dopady např. rodiny, které se starají o parkinsonika

Judaismus a ESC

- Oplozené vajíčko není osoba
- Neschvalují interupci
na základě Genesis 9:6 – Prolita bude krev toho, kdo sám prolil lidskou krev
- Embryo nemá krev
do 40. dne „jakoby embrya byla voda“
- Zmrazené embryo smí být zničeno
nebo použito na výzkum včetně ESC



Judaismus a ESC

- Lidé mají za povinnost léčit a hojit
- Výzkum na ESC má z tohoto hlediska velký potenciál
- Použití nadpočetných embryí
 - podle některých rabínů lze obhájit odkazem na záchranu lidského života při léčbě pomocí ESC



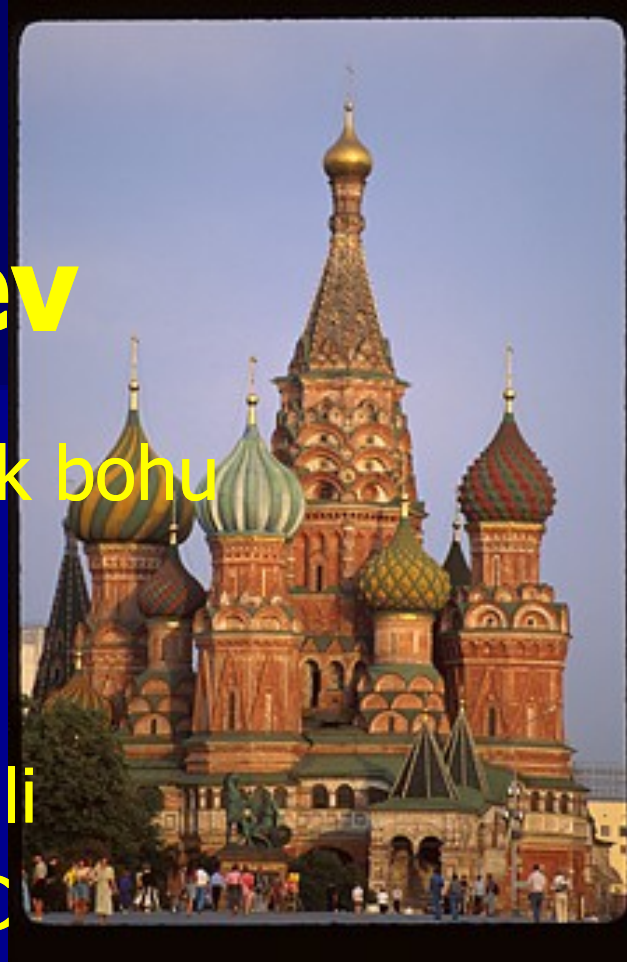
Římsko–katolická církev



- Od oplození vajíčka spermií je zárodek lidskou bytostí
- Zákaz jakéhokoli výzkumu na ESC
- V důsledku odporu k interupcím odmítají i embryonic germ stem cells

Ortodoxní pravoslavná církev

- Člověk se blíží během života k bohu
- Tento proces začíná početím
proto odmítají interupci
Interupce je akt proti boží vůli
- Nelze podporovat tvorbu ESC
- Medicína je dar od boha
lidé jsou povinni léčit
povolují výzkum na hotových liniích ESC
nebo na buňkách ze spontánních potratů



Protestantské církve

- **Velmi různorodá stanoviska**
- Na jedné straně striktní příkaz ochrany embrya jako nejslabšího člena lidské společnosti.

Embryo má stejný statut jako dospělý člověk.

Jakýkoli výzkum či zásah do embrya je vyloučen.



Protestantské církve

- Na druhé straně
- Podpora výzkumu ESC z nadpočetných embryí po IVF
- Podpora výzkumu na buňkách z plodů po intrerupcích provedených ze zdravotních důvodů
- Řada protestantů silně podporuje výzkum na ESC



Islám

- Velká tolerance k ESC
- Oduševnění

po 40. ale i až po 120. dni těhotenství

Povolují výzkum na ESC, které byly získány ze zárodků před tímto termínem

Povolují tvorbu ESC z nadpočetných embryí po IVF a v některých případech i terapeutické klonování



Ideály a činy

Mnoho lidí jedná v rozporu s tím,
co hlásají

- Kristus chtěl mír, ale křesťan jde do války

- Ochránce zvířat nosí kožené boty
- Al Gore brojí proti globálnímu oteplení a má doma vyhřívaný bazén



Ideály a činy - ESC



- **Jižní Korea**– buddhistická země
- **Buddhismus**
 - důraz na neubližování jakékoli formě života
- **Embryo**
 - není důležité, jestli je to člověk
 - je živé a musí být chráněno
- Embryo nese karmickou identitu zemřelé osoby, zaslouží si stejný respekt jako osoba

Ideály a činy - ESC

- **Jižní Korea**

- Je rájem interrupcí, i když
interrupce ze sociálních důvodů jsou
zakázány

buddhismus interrupce odmítá

Počet interrupcí v Jižní Koreji ročně
přes 1,5 milionu

Většina interrupcí je ilegálních

Ideály a činy - ESC



- **Jižní Korea**
- podpora výzkumu na ESC
- podpora terapeutického klonování

Ideály a činy - ESC

- Část veřejnosti podporuje výzkum na ESC, i když jsou proti interrupcím a klonování
- Velkou roli hraje příslib léčby závažných onemocnění

Ideály a činy - ESC

- Co když ECS přinesou léčbu závažných onemocnění?
- Jak se zachovají ti, co ESC odmítají?
- Lze nechat léčit psími ESC cukrovku u psa a přitom odpírat stejnou léčbu diabetickému dítěti?

