

Špecifikácia predmetu zákazky

Predmetom zákazky je zmluvný výskum. Zmluvný výskum bude mať tri hlavné tematicky nadväznú časti s translačným potenciálom pre predikciu závažného priebehu COVID-19, amelioráciu asociovanej cytokínovej búrky a regeneráciu prípadného poškodenia tkaniva:

1. uskutočnenie analýzy potenciálne predikčných biomarkerov ťažkého až kritického COVID-19 s využitím biologických vzoriek pochádzajúcich od infikovaných pacientov;
2. príprava implementácie terapie cytokínovej búrky pomocou kmeňových buniek odvodená z pozorovaní *in vitro* modelu;
3. analýza možností regenerácie pľúcneho tkaniva poškodeného COVID-19 metódami bunkovej terapie na pokročilých predklinických modelových systémoch.

Podrobný obsah dodávky zmluvného výskumu:

Súčasťou dodávky zmluvného výskumu bude publikácia indexovaná v databázach Web of Science™ alebo Scopus®, ktorá bude zahŕňať aj vybrané výstupy z čiastkových úloh, ktoré sú obsahom bodov 1 až 3 tejto časti („B.1 Opis predmetu zákazky“, vid' nižšie).

1. Analýza potenciálne predikčných biomarkerov súvisiacich s imunitným systémom u pacientov s COVID-19.

Hlavným výstupom danej časti zmluvného výskumu bude vypracovanie súborného dokumentu definujúceho špecifické biomarkery a ich hodnoty slúžiace na predikciu ťažkého až kritického ochorenia COVID-19¹ so zreteľom na asociovanú cytokínovú búrku vyvolanú imunitnou reakciou². Spôsob realizácie úloh vyplývajúcich z bodov 1a až 1f (vid' nižšie) musí byť adekvátny vzhľadom k aktuálnym poznatkom z relevantných vedeckých publikácií indexovaných v databázach Web of Science™ alebo Scopus® (najmä publikovaných v časopisoch, ktoré sú k dátumu uzavretia zmluvy súčasťou Nature Index alebo sú v 1. kvartile indexov SCImago Journal Rank™, Scopus® CiteScore alebo Journal Impact Factor™). Tam, kde je to relevantné, musí byť zvolená vhodná pozitívna a negatívna kontrola a dáta musia byť adekvátne štatisticky vyhodnotené.

Dodávka bude spočívať v nasledovnom:

- a) Literárna rešerš aktuálneho stavu výskumu z oblasti biomarkerov predikujúcich ťažký až kritický COVID-19.
- b) Odôvodnený (na základe 1a alebo fyziologických procesov relevantných pri etiológii cytokínovej búrky) výber biomarkerov (napr. génových produktov alebo biochemických markerov) v biologických vzorkách (napr. telesné tekutiny, stolica alebo tkanivo) pre ďalšie testovanie ich predikčného potenciálu vo vzťahu k závažnému až kritickému COVID-19 (aspoň 30 biomarkerov; z toho aspoň 10, u ktorých nebola publikovaná analýza predikčného potenciálu).
- c) Výber vhodnej kohorty pacientov s preukázaným ochorením COVID-19 s dostatočnou štatistickou silou pre zachytenie prípadných fyziologicky relevantných rozdielov v hodnotách predikčných biomarkerov (aspoň 50 pacientov) (vid' 1b). U vybraných pacientov nesmie byť podozrenie na nozokomiálnu etiológiu závažného priebehu ochorenia.

¹ World Health Organization. (2021, 25. január). *COVID-19 Clinical management: Living guidance*. <https://www.who.int/publications-detail-redirect/WHO-2019-nCoV-clinical-2021-1>.

² Fajgenbaum, D. C., June, C. H. (2020). Cytokine Storm. *New England Journal of Medicine*, 383(23), 2255–2273. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2026131>

- d) Analýza hodnôt biomarkerov (vid' 1b) v biologických vzorkách pacientov (vid' 1c). Vzorky musia byť odoberané v jasne definovanom časovom bode vo vzťahu k zmene klinického statusu pacienta (párované z času pred a po zhoršení statusu; u kontroly v adekvátnom časovom odstupe) a musia byť uskladnené spôsobom umožňujúcim vierohodnú analýzu príslušných biomarkerov. K donorom vzoriek musia byť k dispozícii nasledujúce údaje: vek, pohlavie, BMI (alebo alternatívny ukazovateľ abnormálnej telesnej hmotnosti), chronické ochorenia a liečba, akútne ochorenia a liečba v období od 10 dní pred odberom prvej vzorky po odber druhej vzorky (najmä vo vzťahu ku COVID-19).
- e) Odôvodnený (na základe bodov 1a a 1d) návrh súboru biomarkerov pre včasnú prognostiku ťažkého až kritického COVID-19.
- f) Priebežné poskytovanie výstupov rešerše, prehľadných laboratórnych protokolov, *raw* dát a podrobnej dokumentácie experimentálneho materiálu a metód (vrátane výpočtových a štatistických). Priebežná analýza silných a slabých stránok experimentálnej práce a externých príležitostí a hrozieb (tzv. SWOT analýza).

2. Príprava implementácie terapie cytokínovej búrky pomocou kmeňových buniek.

Hlavným výstupom časti zmluvného výskumu bude návrh protokolu, ktorý prehľadne popisuje terapeutický postup pri manažmente cytokínovej búrky³ asociovanej s COVID-19 na báze kmeňových buniek. Spôsob realizácie úloh vyplývajúcich z bodov 2a až 2g (vid' nižšie) musí byť adekvátny vzhľadom k aktuálnym poznatkom z relevantných vedeckých publikácií indexovaných v databázach Web of Science™ alebo Scopus® (najmä publikovaných v časopisoch, ktoré sú k dátumu uzavretia zmluvy súčasťou Nature Index alebo sú v 1. kvartile indexov SCImago Journal Rank™, Scopus® CiteScore alebo Journal Impact Factor™). Tam, kde je to relevantné, musí byť zvolená vhodná pozitívna a negatívna kontrola a dáta musia byť adekvátne štatisticky vyhodnotené.

Dodávka bude spočívať v nasledovnom:

- a) Literárna rešerš aktuálneho stavu výskumu z oblasti bunkovej terapie (zahŕňajúcej kmeňové bunky a ich deriváty) cytokínovej búrky.
- b) Vytvorenie sekrečného profilu buniek pochádzajúcich z pľúcneho tkaniva pacientov s klinickými prejavmi cytokínovej búrky asociovanej s COVID-19 (aspoň 10 relevantných cytokínových parametrov u vzoriek pochádzajúcich aspoň od 10 donorov; pri každej vzorke aspoň 3 biologické repliky). K donorom vzoriek musia byť k dispozícii nasledujúce údaje: vek, pohlavie, BMI (alebo alternatívny ukazovateľ abnormálnej telesnej hmotnosti), chronické ochorenia a liečba, akútne ochorenia a liečba v období od 10 dní pred odberom vzorky (najmä vo vzťahu ku COVID-19).
- c) Príprava a optimalizácia reprodukovateľného *in vitro* bunkového modelu cytokínovej búrky, ktorý bude fenotypovo adekvátne simulovať prejavy cytokínovej búrky pozorované na klinických vzorkách (vid' 2b).
- d) Selekcia mezenchymálnych kmeňových buniek (MSCs) z nepatologického ľudského tkaniva (aspoň 2 druhy tkaniva, z každého aspoň 3 biologické repliky) zdravých donorov. K donorom vzoriek musia byť k dispozícii nasledujúce údaje: vek a pohlavie. Odôvodnený výber optimálneho zdroja a metód manipulácie MSCs pre ďalšiu aplikáciu (vid' 2e).
- e) Pozorovanie vplyvu MSCs (vid' 2d), prípadne ich derivátov (extracelulárne vezikuly alebo podmienené médiá) na prejavy cytokínovej búrky v bunkovom modeli (vid' 2c).
- f) Odôvodnený (na základe bodov 2a a 2e) návrh protokolu pre aplikáciu MSCs, respektíve ich derivátov, pri terapii cytokínovej búrky v klinickom prostredí.

³ Fajgenbaum, D. C., June, C. H. (2020). Cytokine Storm. *New England Journal of Medicine*, 383(23), 2255–2273. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2026131>

- g) Priebežné poskytovanie výstupov rešerše, prehľadných laboratórnych protokolov, *raw* dát a podrobnej dokumentácie experimentálneho materiálu a metód (vrátane výpočtových a štatistických). Priebežná SWOT analýza.

3. Analýza nástrojov bunkovej terapie pre regeneráciu modelov poškodenia pľúcneho tkaniva

Hlavným výstupom časti zmluvného výskumu bude manuskript pre vedeckú publikáciu, ktorý prehľadne popisuje vstupné a výstupné dáta experimentov zameraných na využitie metód bunkovej terapie pre obnovu poškodenia pľúcneho tkaniva na modelových systémoch. Manuskript musí obsahovať plnohodnotné časti (prípadne analogické členenie): abstrakt, úvod, výsledky, materiál a metódy a diskusia. Spôsob realizácie úloh vyplývajúcich z bodov 3a až 3m (viď nižšie) musí byť adekvátny vzhľadom k aktuálnym poznatkom z relevantných vedeckých publikácií indexovaných v databázach Web of Science™ alebo Scopus® (najmä publikovaných v časopisoch, ktoré sú k dátumu uzavretia zmluvy súčasťou Nature Index alebo sú v 1. kvartile indexov SCImago Journal Rank™, Scopus® CiteScore alebo Journal Impact Factor™). Tam, kde je to relevantné, musí byť zvolená vhodná pozitívna a negatívna kontrola a dáta musia byť adekvátne štatisticky vyhodnotené.

Dodávka bude spočívať v nasledovnom:

- a) Literárna rešerš aktuálneho stavu výskumu z oblasti regenerácie poškodenia pľúcneho tkaniva, respektíve relevantných modelových systémov, s využitím metód bunkovej terapie.
- b) Selekcia MSCs z nepatologického ľudského tkaniva zdravých donorov (aspoň 2 druhy tkaniva, z každého aspoň 3 biologické repliky). K donorom vzoriek musia byť k dispozícii nasledujúce údaje: vek a pohlavie.
- c) Výber a charakterizácia aspoň 50 parametrov (molekulárnych, celulárnych a/alebo biochemických) pre selektované MSCs s možnou predikčnou hodnotou vo vzťahu k regeneračnému potenciálu buniek.
- d) Výber (odôvodnený) minimálne 2 samostatných faktorov pre tzv. *preconditioning* MSCs.
- e) Porovnanie vplyvu vybraných faktorov (viď 3d) a neovplyvnenej kontroly na parametre MSCs (viď 3c); v prípade, že vplyv nie je štatisticky signifikantný, voľba aspoň jedného alternatívneho faktoru, prípadne zmena miery aplikácie faktoru na bunky.
- f) Izolácia a fenotypová charakterizácia (aspoň 5 parametrov) extracelulárnych vezikúl (EVs) derivovaných od MSCs.
- g) Príprava reprodukovateľných 2D a 3D modelov ľudského pľúcneho tkaniva, vrátane modelov s bunkami diferencovanými na viac ako jeden bunkový typ; charakterizácia fenotypu modelov po stránke molekulárnej, celulárnej a/alebo biochemickej (aspoň 50 parametrov, vrátane markerov zápalu, apoptózy, (mito)autofágie, senescencie, angiogenézy, fibrogenézy, mitochondriálneho metabolizmu a poškodenia DNA).
- h) Zavedenie protokolu experimentálneho poškodenia modelov pľúcneho tkaniva (viď 3g) simulujúceho poškodenie pozorované pri syndróme akútnej respiračnej tiesne (ARDS).
- i) Porovnanie vplyvu zdroja MSCs (viď 3b) na ich potenciál regenerovať model poškodenia pľúcneho tkaniva (viď 3h) na základe pozorovaní fenotypov modelov (podľa 3g) pred poškodením, po poškodení a po regenerácii s využitím MSCs (prípadne ich derivátov).
- j) Porovnanie potenciálu regenerovať model poškodenia pľúcneho tkaniva (viď 3h) medzi MSCs a príslušným derivátom (podmienené médium alebo EVs frakcia) na základe pozorovaní fenotypov modelov (podľa 3g) pred poškodením, po poškodení a po regenerácii s využitím MSCs (prípadne ich derivátov).
- k) Porovnanie vplyvu faktorov *preconditioning*-u MSCs (viď 3e) na potenciál MSCs (prípadne ich derivátov) regenerovať model poškodenia pľúcneho tkaniva (viď 3h) na základe pozorovaní fenotypov modelov (podľa 3g) pred poškodením, po poškodení a po regenerácii s využitím MSCs (prípadne ich derivátov).

Príloha č. 1 k Výzve na predkladanie ponúk.

- l) Porovnanie vlastných experimentálnych pozorovaní s výstupnými dátami rešerše aktuálnej vedeckej literatúry.
- m) Priebežné poskytovanie výstupov rešerše, prehľadných laboratórnych protokolov, *raw* dát a podrobnej dokumentácie experimentálneho materiálu a metód (vrátane výpočtových a štatistických). Priebežná SWOT analýza.

Časový harmonogram plnenia predmetu zákazky (ďalej „časový harmonogram“):

Výstupy alebo činnosti, ktoré v príslušnom mesiaci pre príslušný bod zákazky musia byť realizované a dokumentované pre kontrolu verejným obstarávateľom.

Mesiac*	Bod 1	Bod 2	Bod 3
1	plánovanie experimentov a zabezpečenie materiálu	plánovanie experimentov a zabezpečenie materiálu	plánovanie experimentov a zabezpečenie materiálu
2	optimalizácia protokolov	optimalizácia protokolov pre MSCs	optimalizácia protokolov pre MSCs
3		optimalizácia protokolov pre model cytokínovej búrky	optimalizácia protokolov pre model poškodenia tkaniva
4	hlavná experimentálna činnosť	hlavná experimentálna činnosť	hlavná experimentálna činnosť
5			
6	analýza experimentálnych dát	analýza experimentálnych dát	analýza experimentálnych dát
7	príprava finálneho súborného dokumentu	príprava finálneho protokolu	príprava finálneho manuskriptu
8	finalizácia projektových úloh na základe komunikácie s verejným obstarávateľom, administratívne ukončenie zmluvného výskumu		

* – doba od podpisu zmluvy medzi verejným obstarávateľom a úspešným uchádzačom v kalendárnych mesiacoch.

Priebežná dokumentácia:

Zodpovedná osoba bude priebežne poskytovať verejnému obstarávateľovi všetky dokumenty a dáta na základe bodov 1f, 2g a 3m tejto časti („B.1 Opis predmetu zákazky“) najmä so zreteľom na vytýčený časový harmonogram (ďalej „priebežná dokumentácia“). Priebežná dokumentácia musí byť vo formáte čitateľnom voľne dostupnými nástrojmi alebo nástrojmi Microsoft 365®. Priebežná dokumentácia musí byť poskytnutá vždy k 21. kalendárnemu dňu mesiaca (alebo najbližšiemu pracovnému dňu, ak 21. deň mesiaca prípadne na víkend alebo deň pracovného pokoja) na 2-mesačnej báze. Prvá priebežná dokumentácia bude poskytnutá nie neskôr ako 2 kalendárne mesiace po uzavretí „Zmluvy“ medzi verejným obstarávateľom a úspešným uchádzačom. Zodpovedná osoba a verejný obstarávateľ budú priebežné plnenie predmetu zákazky diskutovať na 2-mesačnej báze v termíne vyplývajúcom zo vzájomnej *ad hoc* dohody, v kalendárnom mesiaci, v ktorom bola odovzdaná priebežná dokumentácia, po jej doručení.

Ohrozenie plnenia predmetu zákazky:

V prípade ohrozenia plnenia predmetu zákazky podľa vytýčeného časového harmonogramu zodpovedná osoba bezodkladne informuje verejného obstarávateľa a poskytne mu všetku relevantnú priebežnú dokumentáciu a súčinnosť. Na základe neplnenia zmluvnej dodávky podľa vytýčeného časového harmonogramu môže verejný obstarávateľ od zmluvy odstúpiť. Najmä v prípade, že neplnenie dodávky podľa vytýčeného časového harmonogramu bolo spôsobené faktormi, ktorým nebolo možné predchádzať s využitím primeraných prostriedkov, môžu byť časový harmonogram a dodávka modifikované na základe vzájomnej dohody medzi úspešným uchádzačom a verejným obstarávateľom.