

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu: **Ocena potencjalnej tumorogenności linii unieśmiertnionych ludzkich komórek macierzystych pochodzących z tkanki tłuszczowej (atMSC25SVT, atMSCD1SVT) oraz szpiku kostnego (bmMSCD1SVT).**

1.Czas trwania projektu: 01.07.2018 – 31.05.2019

2.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): *in vivo* tumorigenicity evaluation, tumorigenicity assay in nude mice, tumorigenicity of immortalised cell lines.

3.Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych)**A**.....

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być

Komórki macierzyste, ze względu na swoje właściwości pro-regeneracyjne wykazują ogromne możliwości terapeutyczne. Próby kliniczne z zastosowaniem autologicznych komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej pacjentów cierpiących z powodu trudno gojących się ran wykazały znaczną poprawę u 75% badanych. Pomimo spektakularnych wyników uzyskanych z badań wykorzystujących autologiczne komórki, nie może być zastosowana u pacjentów cierpiących na dodatkowe schorzenia lub pacjentów nie posiadających wystarczającej ilości tkanki tłuszczowej. W laboratorium unieśmiertniliśmy ludzkie komórki macierzyste z tkanki tłuszczowej oraz szpiku kostnego tworząc stabilne linie komórkowe. Linie komórek macierzystych **a szczególnie ich produkty** potencjalnie mogą być stosowane u pacjentów. Przeprowadzono ocenę zdolności **dwu z trzech linii** do proliferacji w

półpłynnym medium w celu oceny tumorogenności *in vitro*. Komórki obydwu linii były zdolne do wzrostu w postaci kolonii, jednak takie zdolności mają także pierwotne komórki macierzyste, z których pochodzą te linie. Dlatego, aby wykluczyć potencjalną tumorogenność badanych linii niezbędne jest przeprowadzenie badań *in vivo*.

Celem zaplanowanego doświadczenia jest ocena potencjalnej tumorogenności linii komórkowych przy użyciu myszy szczepu NOD SCID. Komórki zostaną wszczepione podskórnie myszom w ilości 10×10^6 , która to dawka jest najwyższa w tego typu procedurach. Wzrost potencjalnego guza będzie monitorowany przez 45 dni. Po tym czasie zwierzęta zostaną uśmiercone a tkanka z okolic podania komórek pobrana analizie histopatologicznej.

Oczekujemy, że uzyskane wyniki będą rozstrzygające czy komórki uzyskanych linii są tumorogenne czy nie oraz, że będą podstawą do opracowania nowych strategii terapii regeneracyjnej, np. leczenie ran przewlekłych, w których stworzone linie komórkowe będą wykorzystywane bezpośrednio lub pośrednio przez produkcję substancji terapeutycznych podawanych pacjentom w opatrunkach hydrożelowych.

Klasyfikacja celu procedury: Badania podstawowe – onkologia, niezależna od badanego układu.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Łącznie w doświadczeniu wykorzystanych zostanie 21 myszy NOD SCID NOD.CB17-Prkdcscid/J (6-8 tygodniowe samice)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badania, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach badawczych: PubMed i Google Scholar. Wykorzystane zostały następujące słowa kluczowe: *in vivo* tumorigenicity evaluation, tumorigenicity assay in nude mice, tumorigenicity of immortalised cell lines.

Jedynym dostępnym testem oceniającym tumorogenność badanych komórek jest podanie ich podskórnie myszom mogącym przyjąć taki przeszczep, w naszym przypadku wybrano myszy NOD SCID. Pojawienie się guza nowotworowego u myszy, po podaniu komórek ludzkich potwierdza ich właściwości nowotworowe/tumorogenne, natomiast brak wzrostu guzów zdecydowanie sugeruje brak takich właściwości. Co do uzyskanych przez nas linii, z przyczyn ewidentnych, nie ma danych dotyczących tumorogenności, natomiast wykazanie, że linie te rzeczywiście takich właściwości nie

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

wykazują, może znacznie podwyższyć bezpieczeństwo stosowania tych linii i ich produktów w medycynie regeneracyjnej.

Po drugie, doświadczenia in vivo zostały zaplanowane w taki sposób aby maksymalnie zredukować liczbę zwierząt w eksperymencie. Zaproponowana liczba myszy w grupie to minimalna liczba potrzebna do uzyskania miarodajnych wyników i wykonania obliczeń statystycznych, a przy tym jest to liczba, która zapewnia brak potrzeby powtarzania takiego doświadczenia w kolejnych eksperymentach. Wykonując doświadczenie, będziemy maksymalnie eliminować cierpienie zwierząt poprzez podawanie leków przeciwbólowych. Ponadto, w celu polepszenia warunków bytowych myszy, zastosujemy elementy wzbogacające środowisko.

Materiał pobrany od myszy po zakończeniu eksperymentu zostanie przeanalizowany ex vivo. Jako punkt odniesienia w interpretacji otrzymanych wyników w eksperymentach ex vivo wykorzystane zostaną fragmenty tkanek, od myszy kontrolnych, nieleczonych.

-Characterization of in vivo tumorigenicity tests using severe immunodeficient NOD/Shi-scid IL2Rγnull mice for detection of tumorigenic cellular impurities in human cell-processed therapeutic products. Shinji K. et al., Regenerative Therapy 2015;1 30-37.

-Stem Cell (iPSC)-Derived Cell Products. Kawamata S. et al. Journal of Clinical Medicine. 2015;4 159-171.

-Tumorigenicity studies for human pluripotent stem cell-derived products.

Kuroda T. et al. Biol Pharm Bull. 2013; 36 89-92.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☒ NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.