

## A fehérvérsejtek migrációjának vizsgálata arhgap25 génhiányos egér modellben

### 16. A projekt nem szakmai jellegű összefoglalója.

A szervezetünkben keringő fehérvérsejtek biztosítják számunkra a kórokozókkal szembeni védelmet. Ahhoz, hogy feladatukat ellássák, szükséges, hogy gyorsan a betegség/fertőzés helyére jussanak. Ebben nagy segítséget jelent a gyulladás folyamata, mely mágnesként vonzza a fehérvérsejteket. Amikor a sejtek a gyulladt területre érnek, átlépnek a hajszálerek falán, ki a szövetek közé, és ott megpróbálják felszámolni a fertőzés/betegség forrását. A hajszálerek falán keresztüli átlépés rendkívül összetett folyamat, mely a fehérvérsejtek bonyolult, és nagyon intenzív mozgásával jár. Ezen mozgás létrejöttében a fehérvérsejtek mellett fontos szerep hárul az érfalat alkotó sejtekre is, a különféle sejtekből felszabaduló anyagokra, melyek módosítják a fehérvérsejtek működését, de még a hajszálérben áramló vér által a fehérvérsejtekre kifejtett erők is jelentős tényezői a folyamatnak.

Munkacsoportunk korábban azonosította az ARHGAP25 fehérjét, melyről kimutattuk, hogy a fehérvérsejtek számos funkcióját szabályozza, többek között a sejtek mozgását is. Ennek kapcsán a jelen projektben azt szeretnénk vizsgálni, hogy az ARHGAP25 hiányában hogyan változik a fehérvérsejteknek a hajszálerek falán keresztüli átlépése.

A kísérletekben olyan egereket, ún. csontvelő-kimérákat kívánunk használni, melyek csontvelőjét egy olyan egér csontvelőjére cseréljük le, melyből hiányzik az arhgap25 gén. Mivel a fehérvérsejtek a csontvelőben keletkeznek, így olyan egereket hozhatunk létre, melyeknek minden sejtje "normális", más néven vad típusú, csak a fehérvérsejtjeiből hiányzik az ARHGAP25 fehérje. Így, ezzel a korszerű eljárással nagyon precízen vizsgálható az ARHGAP25 fehérvérsejtekben betöltött szerepe, és kizárjuk azt a hibalehetőséget, hogy más sejtek (pl. a hajszálerek falát alkotó sejtek) működése is megváltozik az ARHGAP25 hiányában. A csontvelőátültetés során 20 egér kapna olyan csontvelőt, melyből hiányzik az arhgap25, ill. a kontroll csoportot alkotó 20 egér vad típusú, genetikailag nem módosított állatból származó csontvelőt kapna. Csontvelődonorként 4 vad típusú és 4 arhgap25-hiányos, genetikailag módosított állatot használnánk fel.

Kísérleteinkben szeretnénk olyan egereket is vizsgálni, melyeken nem végeznénk csontvelőátültetést. Ezen egerek a donor állatokkal azonos típusúak: egyrészt vad típusúak (20 állat), vagy arhgap25-hiányos, genetikailag módosított állatok (20 állat) lennének.

Összesen 88 állatot szeretnénk felhasználni a kísérletekhez.

A továbbiakban a kísérletre szánt egereket olyan vegyületekkel kezeljük, melyek kórokozótól mentes (steril) gyulladást váltanak ki, és vizsgáljuk, hogy mennyi fehérvérsejt vándorol a gyulladás helyére. Ezzel következtethetünk arra, hogy az ARHGAP25 miként befolyásolja a sejtek mozgását gyulladáshoz vezető körülmények között. Fontos megjegyezni, hogy azt a rendkívül összetett környezetet, melyben a sejtek mozognak (t. a sejtek egymásra hatását, a vér áramlását), gyakorlatilag lehetetlen lenne kémcsőben modellezni, ehhez mindenképpen élő állatokra van szükség. A gyulladást modellező kísérletekhez felhasznált állatok számát az alábbi táblázat foglalja össze:

csontvelőátültetés	hasüreg kimosása		szövetteni vizsgálat	
	történt	vad típusú (10)	arhgap25-hiányos (10)*	vad típusú (10)
nem történt	vad típusú (10)	arhgap25-hiányos (10)*	vad típusú (10)	arhgap25-hiányos (10)*

\* genetikailag módosított állat, zárójelben a felhasználni kívánt állatok száma az egyes csoportokban

A gyulladás fájdalommal, lázzal, rossz közérzettel jár, ezeket a kellemetlen tényezőket úgy próbáljuk enyhíteni, hogy az állatok puhább almot, könnyebben elérhető táplálékot kapnak, illetve a kezelés időtartamát a lehető legrövidebbre (maximum 4 óra) vesszük. A kísérletek során az állatoknak okozott stresszt és fájdalmat a lehető legnagyobb mértékben próbáljuk csökkenteni (pl. kellően vékony tűk használata az oltások során, altatás). Egyéb fájdalomcsillapítók alkalmazása befolyásolhatja a fehérvérsejtek működését, így ezek adását mellőzni szeretnénk. Ehelyett kísérleteinket úgy tervezzük, hogy a gyulladás kezdeti fázisában befejeződjenek, mérsékelve ezzel az állatoknak okozott fájdalmat és kellemetlen hatásokat. A kezelés (legfeljebb 4 óra) végén az állatok életét kioltjuk, majd a továbbiakban a szerveikből (hasüreg, szövetteni minta) kinyert sejteket vizsgáljuk.

A kísérletekre szánt állatokat szakképzett személyzet gondozza az elismert állattartási gyakorlatnak megfelelően. A kísérletek alatt/után az egerek életét gyakorlott szakember oltja ki az Angol Élettani Társaság ajánlása szerint, mely minimális fájdalommal jár és azonnali halált eredményez.

Jelen kísérletek olyan körülményeket modelleznek, melyek más módszerekkel kielégítően nem helyettesíthetők. Az általunk korábban elvégzett egyéb kísérletek kiegészítik, de nem helyettesítik ezen eredményeket, ugyanakkor lehetővé teszik, hogy jelen kísérletekben a lehető legkevesebb állatot alkalmazzuk. Továbbá az emberi és egér ARHGAP25 nagyon hasonló, összevetve más fajokkal, így az egér, mint kísérleti állat sem helyettesíthető más, kevésbé "érző" fajokkal. Mindegyik tervezett beavatkozást már régóta sikeresen alkalmazzák a kutatásban, alaposan kidolgozott, bevett módszerek tekinthetők.

Kár-haszon elemzés: Az arhgap25 hiánya nem okoz látható elváltozást, nem befolyásolja az állatok viselkedését. Ezen genetikai módosítás nem okoz fájdalmat, nem jelent hátrányt az állat élete során. A csontvelőátültetés minimális fájdalommal jár (altató injekció). A csontvelőt kapott állatok a későbbiekben nem szenvednek, a csontvelőátültetés nincs negatív hatással az állatok további életére. A gyulladást modellező kísérletek mérsékelt fájdalommal járnak. A kísérletekben a lehető legkevesebb állatot kívánjuk felhasználni úgy, hogy közben megbízható eredményeket kapjunk. Korábbi eredményeink arra utalnak, hogy az ARHGAP25 szerepet játszik a fehérvérsejtek mozgásának szabályozásában, így ezen kísérleteink is igen nagy valószínűséggel pozitív eredménnyel zárulnak. Eredményeink hozzájárulhatnak olyan betegségek jobb megértéséhez, mint az ízületi gyulladások, cukorbetegség, vérmérgezés, illetve az ARHGAP25 szerepének feltárása új célpontokat adhat a gyógyszerfejlesztésnek. Így a kísérletek várható haszna jelentősnek tekinthető ahhoz képest, amekkora fájdalmat okozunk az állatoknak a kísérletek során.