

Popularnonaukowe Streszczenie Projektu (w języku polskim)

Komórki owodni ludzkiej (hAC; *ang.* human amnion cells), posiadają cechy komórek macierzystych oraz wykazują właściwości immunomodulacyjne, dzięki czemu mogłyby stanowić atrakcyjny i bezpieczny materiał do zastosowań klinicznych w medycynie regeneracyjnej i transplantologii, alternatywny lub wspomagający stosowaną dotychczas klasyczną immunosupresję lekową.

Celem planowanych badań jest ocena porównawcza przeszczepów skóry wykonanych w zwierzęcym modelu doświadczalnym: allograftów mysz-mysz i ksenograftów szczur-mysz, w warunkach działania leku immunosupresyjnego - Cyklosporyny A oraz po podaniu aktywowanych hAC. Zamierzamy zweryfikować tezę, że właściwości immunomodulacyjne komórek owodniowych, wzmocnione poprzez aktywację *ex vivo* podczas hodowli komórkowej, są wystarczające do powstrzymania reakcji ostrego odrzucenia allo- i kseno-graftów skóry. Ponadto dokonamy oceny efektywności działania komórek owodniowych w stosunku do Cyklosporyny A, z uwzględnieniem drogi ich podania myszom-biorcom.

Badania zostaną przeprowadzone na myszach szczepu BALB/c, którym zostanie przeszczepiony allograft skóry (z myszy szczepu C57BL/6) i ksenograft skóry (ze szczurów szczepu Wistar). Następnie myszy-biorcy będą poddane obserwacji w 15 dniowej hodowli w czasie której, u części z nich zostanie wywołana immunosupresja za pomocą Cyklosporyny A, a u części poprzez podanie aktywowanych komórek wyizolowanych wcześniej z owodni ludzkiej. Po upływie 15 dni lub w momencie wcześniejszego pojawienia się objawów odrzucenia przeszczepu, myszy będą poddane eutanazji, po czym zostaną pobrane fragmenty skóry przeszczepionej oraz próbki krwi do szczegółowych analiz. Badana będzie długość przeżycia i struktura histologiczna przeszczepu, w tym obecność komórek macierzystych w przeszczepionych mieszkach włosowych, a także zaawansowanie stanu zapalnego na podstawie markerów oznaczonych w krwi myszy-biorcy.

W celu przeprowadzenia badań, myszy-biorcy zostaną podzielone na trzy grupy badawcze otrzymujące iniekcyjnie: I. placebo w postaci roztworu soli fizjologicznej (grupa kontrolna); II. cyklosporynę A; III. zawiesinę komórek wyizolowanych z ludzkiej owodni, aktywowanych *ex vivo*, do żyły ogonowej lub podskórnie, wokół przeszczepu. W grupach zwierząt I-III utworzone zostaną podgrupy w celu wykonania allo- (mysz-mysz) i kseno- (szczur-mysz) transplantacji skóry.

Przed podaniem myszom-biorcom, komórki owodniowe zostaną *ex vivo* aktywowane poprzez dodanie do pożywki hodowlanej cytokin: IL1 β i INF γ , w celu zwiększenia ich właściwości immunomodulacyjnych. Procedura ta obejmie optymalizację czasu potrzebnego do aktywacji hAC poprzez przeprowadzenie 96 godzinnych hodowli hAC, na specjalnym podłożu dedykowanym komórkom macierzystym. W czterech punktach czasowych oceniane będą wybrane wskaźniki aktywności immunomodulacyjnej, w szczególności związane z hamowaniem odpowiedzi immunologicznej. Na tej podstawie zostanie wybrany punkt czasowy, w którym parametry aktywności immunosupresyjnej hAC osiągają najkorzystniejsze wartości. Bezpośrednio przed podaniem komórek myszom-biorcom procedura aktywacyjna zostanie powtórzona w hodowli hAC o ustalonym doświadczalnie czasie trwania w celu pozyskania komórek o najwyższym stopniu aktywacji immunologicznej.

Nowatorskim elementem zaplanowanego badania jest wykorzystanie aktywowanych *ex vivo* ludzkich komórek owodniowych w modelu zwierzęcym, do podtrzymania funkcji życiowych allo- i ksenograftów skóry. Takie podejście jest zgodne z aktualnym kierunkiem postępowania doświadczalnego polegającego na modyfikowaniu właściwości komórek macierzystych w celu dalszego ich wykorzystywania. Badania takie, z wykorzystaniem aktywowanych hAC, nie były do tej pory prowadzone. Wcześniejsze próby wykorzystania nieaktywowanych komórek owodniowych nie dały jednoznacznej odpowiedzi, jaki potencjał immunosupresyjny posiadają te komórki *in vivo*. Zastosowanie izolowanych komórek hAC, jako przeszczepialnego źródła czynników immunosupresyjnych jest niezwykle intrygującą alternatywą dla klasycznej immunosupresji, która wiąże się z występowaniem polekowych skutków ubocznych. Przeprowadzenie takiego badania u ludzi nie jest możliwe w warunkach szpitalnych, bez wcześniejszych badań eksperymentalnych. Z kolei wykonanie doświadczeń na komórkach w hodowli *in vitro* może mieć tylko znaczenie pomocnicze. Jedynym sposobem doświadczalnego odtworzenia niszy tkankowej dla przeszczepionej skóry ludzkiej jest zatem umieszczenie ksenograftów w środowisku skóry ssaków. W przedstawionym projekcie zostanie sprawdzona skuteczność immunomodulacyjnego działania komórek owodniowych w modelu doświadczalnym allo- i ksenograftów skóry zwierzęcej. Docelowo, model ten może być zastosowany do badania ksenotransplantów skóry ludzkiej.