

Piorunująca niewydolność wątroby (FLF) jest patologią charakteryzującą się poważnym upośledzeniem funkcji narządu w zakresie detoksykacji oraz syntezy białek, np. czynników krzepnięcia. Akumulacja toksyn oraz niedobór białek osoczowych prowadzi do rozwoju encefalopatii wątrobowej oraz zagrażających życiu powikłań. Bez odpowiedniego i szybkiego leczenia choroba prowadzi do zgonu. Czynnikiem w znacznym stopniu limitującym przeżywalność pacjentów z FLF jest dostępność zgodnego dawcy. W tej jednostce chorobowej znacznie złagodzone są kryteria zgodności antygenowej między dawcą i biorcą, co umożliwia szybsze dopasowanie narządu kosztem znacznie zwiększonej częstotliwości występowania ostrego oraz przewlekłego odrzucania przeszczepu. Mimo tego znaczna część pacjentów umiera będąc na liście zakwalifikowanych osób, oczekujących na przeszczep. W związku z powyższym istnieje konieczność opracowania skutecznej terapii pomostowej, która redukowałaby śmiertelność związaną z FLF oraz wydłuży czas przeżycia, co znacznie zwiększałoby szanse na znalezienie zgodnego dawcy.

Obiecującą alternatywą dla dotychczasowych terapii są terapie komórkowe z użyciem komórek nabłonka owodni ludzkiej (hAEC) o właściwościach immunomodulacyjnych. Ze względu na swoje unikalne cechy hAEC są interesującym materiałem w terapii komórkowej schorzeń, w których centralną rolę odgrywa toczący się stan zapalny lub proces autoimmunologiczny. W ostatnim czasie, intensywnie badana jest możliwość wykorzystania „bezkomórkowych” terapii komórkowych. Polegają one na podaży czynników wydzielanych przez komórki oraz egzosomów – małych pęcherzyków zawierających materiał genetyczny.

Proponujemy sprawdzenie skuteczności terapii z wykorzystaniem hAEC oraz produkowanego przez nie medium kondycjonowanego zawierającego egzosomy. hAEC mają przewagę nad innymi komórkami macierzystymi, gdyż nie są odrzucane przez organizm biorcy ani nie powodują reakcji odczynowej w modelu allo- i kseno-transplantacji. Ponadto wydaje się, iż hAEC mają lepsze właściwości immunomodulujące niż inne populacje komórek macierzystych. Przekłada się to na skuteczność stosowania hAEC w ostrych schorzeniach zapalnych, gdzie mechanizm działania terapii komórkowej wynika raczej z wydzielanych czynników immunomodulujących i przeciwzapalnych niż z zastępowania przez nie masy komórkowej chorego narządu. Ponadto w związku z dowodami na skuteczność modyfikacji komórek przed ich podaniem, chcemy sprawdzić efektywność aktywacji hAEC przez czynniki prozapalne, w podniesieniu skuteczności terapii komórkowej przez hAEC i produkowane przez nie medium kondycjonowanego.

Projekt zakłada sprawdzenie efektywności 4 eksperymentalnych terapii z użyciem:

- natywnych komórek nabłonka owodni ludzkiej (hAEC)
- aktywowanych komórek nabłonka owodni ludzkiej (a-hAEC)
- medium kondycjonowanego pozyskanego z immortalizowanych komórek nabłonka owodni ludzkiej (hAEC-CM)
- medium kondycjonowanego pozyskanego z aktywowanych immortalizowanych komórek nabłonka owodni ludzkiej (a-hAEC-CM)

Piorunująca niewydolność wątroby u myszy zostanie wyindukowana za pomocą dootrzewnowej iniekcji hepatospecyficznej toksyny – D-Galaktozamina. Po podaniu komórek lub medium kondycjonowanego myszy będą obserwowane pod kątem stanu ogólnego oraz czasu przeżycia. Od myszy zostanie pobrana wątroba celem badania histopatologicznego i biodystrybucji podawanych komórek oraz krew z której zostaną wykonane podstawowe oznaczenia parametrów funkcji wątroby oraz stężenia cytokin prozapalnych.

Terapia komórkowa z użyciem hAEC w zwierzęcych modelach uszkodzenia wątroby może stać się nowym kierunkiem badań nad skuteczną terapią pomostową w ostrych schorzeniach wątroby. Potwierdzenie skuteczności eksperymentalnej terapii pozwoli na planowanie dalszych eksperymentów mających na celu poznanie dokładnego mechanizmu działania hAEC w narządach zmienionych zapalnie. Ponadto udowodnienie znamiennych różnic w efektach terapii z zastosowaniem natywnych i aktywowanych hAEC pozwoli wytyczyć odpowiedni kierunek przyszłych badań oraz stanowi krok do wprowadzenia wyżej wymienionych terapii jako metody leczenia u ludzi.