

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Właściwości proangiogenne mezenchymalnych komórek zrębu izolowanych z ludzkiej tkanki tłuszczowej (ADSC)

mgr inż. Ewelina Pilny

Promotor : dr hab. inż. Danuta GILLNER Prof. Pol. Śl.

prof. dr hab. Stanisław SZALA

Promotor pomocniczy: dr Tomasz CICHON

Mezenchymalne komórki zrębu (MSC) to multipotencjalne komórki niehematopoetyczne, których źródłem są tkanki pochodzenia mezodermalnego, takie jak szpik kostny czy tkanka tłuszczowa. Komórki te wydzielają wiele czynników wzrostu i cytokin, które stymulują powstawanie naczyń krwionośnych oraz regenerację uszkodzonych tkanek. Pomimo wielu badań przedklinicznych i klinicznych, wykorzystujących MSC w naprawie uszkodzonych tkanek, mechanizmy biorące udział w tych procesach wciąż są niedostatecznie poznane.

Celem niniejszej pracy była ocena zdolności ludzkich mezenchymalnych komórek zrębu izolowanych z tkanki tłuszczowej (hADSC), do naprawy uszkodzonego mięśnia.

W pracy wykorzystano ludzkie mezenchymalne komórki zrębu izolowane z podskórnej tkanki tłuszczowej. Wyizolowane komórki posiadały charakterystyczne cechy komórek mezenchymalnych: 1) były adherentne do plastikowych powierzchni hodowlanych; 2) posiadały fenotyp CD29+/CD44+/CD73+/CD90+/CD105+/CD31-/CD33-/CD45-/CD146-/HLA-DR-/LIN-/KDR-; 3) wykazywały zdolność do różnicowania w kierunku adipocytów, chondroblastów oraz osteoblastów.

Model badawczy stanowił myszy model niedokrwiennej kończyny, w którym podczas zabiegu chirurgicznego podwiązywano tętnicę udową, czym wywoływano niedokrwienie w mięśniu brzuchatym łydki. Godzinę po podwiązaniu tętnicy udowej domięśniowo podawano 1·10⁶ hADSC. Podane komórki utrzymywały się w kończynie do 14 dni. U myszy otrzymujących hADSC zaobserwowano szybszą poprawę funkcjonowania uszkodzonej kończyny oraz regenerację mięśni szkieletowych. Po podaniu hADSC zaobserwowano również zwiększenie napływu proangiogennych i przeciwzapalnych makrofagów o fenotypie M2 (7-AAD-/CD45+/F4/80+/CD206+) oraz większą liczbę nowych naczyń krwionośnych w niedokrwiennej kończynie.

Następnie zbadano rolę makrofagów w procesach naprawy uszkodzonego mięśnia po podaniu mezenchymalnych komórek zrębu. W tym celu za pomocą liposomów z kłodronianem disodowym przeprowadzono ich deplecję. U myszy, którym usunięto makrofagi, pomimo podania hADSC, nie zaobserwowano regeneracji uszkodzonego mięśnia oraz wzrostu liczby naczyń krwionośnych.

hADSC wydzielają duże ilości Interleukiny 6 (IL-6), która m.in. polaryzuje makrofagi do fenotypu proangiogenego M2. Aby sprawdzić czy za napływ makrofagów po podaniu hADSC do niedokrwiennej kończyny odpowiedzialna jest IL-6, zablokowano ją wykorzystując Siltuximab (przeciwciało swoiście blokujące ludzką IL-6). Po zablokowaniu wydzielanej przez hADSC IL-6, zaobserwowano zmniejszenie napływu makrofagów o fenotypie M2 oraz zmniejszenie liczby powstałych naczyń krwionośnych do uszkodzonej kończyny.

Dodanie deferoksaminy do hADSC, powoduje zwiększenie wydzielania IL-6 przez te komórki w warunkach in vitro, jednak nie wpływa na poprawę właściwości proangiogennych badanych komórek.

Wykazano zatem, że za naprawę uszkodzonego mięśnia z wykorzystaniem hADSC odpowiedzialna jest IL-6, stymulująca makrofagi o fenotypie M2, które z kolei stymulują tworzenie nowych naczyń krwionośnych.