

Wspomaganie zamknięcia rany chorych oparzonych za pomocą komórek macierzystymi może poprawić jakość procesu gojenia ran, zmniejszyć tworzenie się blizn i przywrócić normalne funkcjonowanie skóry, włącznie z odtworzeniem jej przydatków.

Celem niniejszej pracy było wystandaryzowanie hodowli komórek owodni, zbadanie populacji tych komórek pod kątem obecności mezenchymalnych komórek macierzystych oraz określenie celowości izolacji hAMMSCs, a także weryfikacja zdolności komórek owodni do różnicowania w fibroblasty i keratynocyty oraz wytypowanie metody dostarczania komórek na ranę.

Najbardziej efektywną ilościowo metodą izolacji komórek macierzystych przy zachowaniu pożądanej żywotności jest homogenizacja lub zastosowanie enzymu Dispaza. Komórki owodni należy hodować z wykorzystaniem medium AmnioGrow. Nie wykazano celowości izolacji kolumnkowej, ponieważ sortowanie komórek wpływa negatywnie na ich ilość, nie powodując zmian w zdolności do gojenia rany *in vitro*, angiogenezy, proliferacji czy wpływie na komórki skóry i naskórka. Wykazano obecność antygenów komórkowych właściwych dla keratynocytów i fibroblastów na powierzchni komórek owodni. Komórki owodni powodują szybsze zamknięcie rany *in vitro* niż komórki macierzyste z tkanki tłuszczowej. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdza się pozytywny wpływ komórek owodni i komórek macierzystych owodni na zdolność keratynocytów i fibroblastów do gojenia rany w warunkach *in vitro* oraz stymulują proliferację tych komórek. Nie odnotowano zdolności komórek owodni do tworzenia naczyń, ale zaobserwowano zdolność do tworzenia trójwymiarowych konstrukcji po uzyskaniu 100% konfluencji. Właściwość ta została wykorzystana do przeniesienia pełnego arkusza komórek. Z przeprowadzonych badań wynika, że najlepszymi narzędziami do przeniesienia pełnego arkusza komórek w stosunku do transferu metodą enzymatyczną jest użycie opatrunku kolagenowego liofilizowanego oraz przeniesienie owodnią i skórą allogeniczną. Na podstawie uzyskanych wyników postanowiono wysiać komórki na acelularne matryce skóry i owodni. Komórki owodni zasiedlają matryce i są w stanie rosnąć na nich przez 10 dni. Wykazano również, że hodowla komórek owodni jest tańsza niż hodowla keratynocytów i fibroblastów ludzkich.

Podsumowując owodnia jest dobrze rokującym źródłem komórek macierzystych, mającym duży potencjał kliniczny. Orzzymane wyniki wskazują, że owodnia ludzka i lepszym źródłem komórek niż tkanka tłuszczowa. W celu klinicznego wzdrożenia komórek owodni należy stosować komórki po I pasażu, ponieważ początkowo heterogenna hodowla komórek owodni ulega fenotypowej stabilizacji około 21 dnia. Z zastosowaniem proponowanego w niniejszej pracy protokołu, po czasie 21 dni około 73% komórek wykazuje markery komórek

macierzystych. Po pierwszym pasażu obserwuje się marker zgodności tkankowej klasy II (HLA-DR) na poziomie graniczącym z błędem analitycznym. Uważa się zatem, że po pierwszym pasażu komórki są nieimmunogenne, zdolne do różnicowania w trzy linie komórkowe wywodzące się z mezodermy oraz w dużej mierze oczyszczone z komórek nabłonkowych.

Komórki owodni można przenosić w postaci arkusza z wykorzystaniem skóry i owodnia allogenicznego lub kolagenu liofilizowanego. Celem jest również stworzenie biowitalnego przeszczepu z samymi komórkami owodni lub w kohodowli z keratynocytami.

Dalsze prace dotyczyć będą weryfikacji anigenności potencjału, a także standaryzacji w zgodzie z Dobrą Praktyką Wytwarzania długości hodowli (ilości pasaży) przy których zachowane są właściwości komórek owodni, a więc oceny ryzyka i zarządzania ryzykiem wytwarzanego produktu.

Wykaz haseł MeSH (Medical Subject Headings) – słowa kluczowe:

Oparzenia, komórki macierzyste, owodnia, inżynieria tkankowa, medycyna regeneracyjna.