

Streszczenie

Przewlekłe wrzodziejące i trudno gojące się rany, stanowią znaczący problem kliniczny na świecie. Pomimo opracowywania nowych strategii leczenia ich skuteczność jest niezadawalająca. Jedną z wykorzystywanych metod jest zastosowanie bezkomórkowych macierzy skórnych (ADM, ang. acellular demal martix) pochodzenia zwierzęcego lub ludzkiego. Źródło skóry, sposób jej przetwarzania oraz sterylizacja końcowego produktu może wpływać na skuteczność stosowanych ADM w terapii ran. Nowatorskim podejściem w produkcji ADM jest wykorzystanie skóry ludzkiej (hADM, ang. human acellular dermal matrix) pochodzącej od dawców żywych i pozyskanej z fałdu skórniego pobranego podczas zabiegu abdominoplastyki. Nieznany jest jednak wpływ w jakim różne sposoby przetwarzania tego materiału, wpływają na właściwości immunomodulacyjne końcowego produktu. Dlatego celem niniejszej pracy była: 1. Analiza wpływu różnych metod przetwarzania skóry pobranej podczas zabiegu abdominoplastyki na immunogenność hADM; 2. Ocena immunomodulacyjnych właściwości hADM powstałej ze skóry ludzkiej pobranej podczas zabiegu abdominoplastyki; oraz 3. Ocena wpływu komórek układu immunologicznego na strukturę hADM wytworzonej ze skóry ludzkiej pobranej podczas zabiegu abdominoplastyki.

Skóra została przygotowana przy użyciu trzech różnych metod decelularyzacji obejmujących zastosowanie detergentu jonowego (dodecylosiarczan sodu; SDS, w hADM 1) lub detergentu niejonowego (Triton X-100 w hADM 2) lub kombinacji rekombinowanej trypsyny i Triton X-100 (w hADM 3). Komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMC, ang. Peripheral Blood Mononuclear Cells) izolowano z krwi zdrowych dawców metodą wirowania na gradiencie gęstości. Świeżo izolowane komórki inkubowano w obecności wytworzonych hADM. Immunogenność nowych matryc skórnych oceniono w oparciu o test proliferacji limfocytów T przy zastosowaniu cytometrii przepływowej. Potencjał immunomodulacyjny in vitro nowych hADM oceniono z wykorzystaniem metody wielokolorowej cytometrii przepływowej oraz testów immunoenzymatycznych. Wpływ komórek układu immunologicznego na strukturę kolagenową wytworzonych matryc analizowano w oparciu o technikę mikroskopii konfokalnej.

. Analizowane matryce wykazywały zróżnicowaną immunogenność. hADM 1 indukował niską proliferację limfocytów T bez znaczących zmian w profilu cytokin.

Natomiast hADM 2 i 3 cechowały się wyższą immunogennością w porównaniu do hADM1. Następnie oceniono poziom aktywacji oraz fenotyp limfocytów T i monocytów. Co ciekawe, żaden z analizowanych nowych hADM nie wpływał na skład ilościowy wybranych populacji limfocytów T po 3 dniach inkubacji.

Zaobserwowano natomiast istotne zmiany w składzie procentowym subpopulacji monocytów, mianowicie zwiększone dojrzewanie w kierunku komórek o potencjale przeciwzapalnym i proangiogennym. Zmiany te były w szczególności istotne po inkubacji komórek w obecności hADM1. Na koniec zbadano strukturę kolagenową hADM po inkubacji z komórkami układu immunologicznego. Zaobserwowano degradację kolagenu IV oraz jego kolokalizację z PBMC.

Podsumowując, wykazano, że skóra po abdominoplastyce jest odpowiednia do wytwarzania hADM. Ponadto wykorzystanie detergentu jonowego w procesie przetwarzania skóry pobranej podczas zabiegu abdominoplastyki tworzy hADM, który wykazuje niską immunogenność oraz posiada właściwości immunomodulujące, które mogą świadczyć o wysokim potencjale terapeutycznym. Potrzebne są jednak dalsze badania, aby ocenić przydatność terapeutyczną hADM 1 w leczeniu ran przewlekłych i ciężko gojących się.