

STRESZCZENIE POLSKIE

Opracowanie terapii opartej o wykorzystanie mezenchymalnych komórek macierzystych (*ang. mesenchymal stem cells*, MSC) wydaje się być obiecującą strategią w przypadku suboptymalnie kontrolowanych, przewlekłych chorób zapalnych dróg oddechowych, w tym również astmy. Dotychczasowe badania przedkliniczne potwierdziły, iż MSC mogą ograniczać zapalenie dolnych dróg oddechowych, jednakże mechanizm leżący u podstaw tych zmian nie jest wciąż wystarczająco poznany. Niedostateczna wiedza w zakresie procesów regulujących zapalenie dróg oddechowych po podaniu MSC, jak również ich stabilności i długoterminowych efektów ich działania utrudniają optymalizację efektywnej terapii komórkowej.

W związku z powyższym w niniejszym projekcie zbadano wpływ podania MSC pochodzących z ludzkiej tkanki tłuszczowej na 1) na niezmienną zapalnie tkankę płucną oraz 2) rozwój zapalenia dolnych dróg oddechowych w eksperymentalnym modelu astmy indukowanym ekstraktem roztocza kurzu domowego (*ang. house dust mite*, HDM).

MSC zostały wyizolowane z tkanki tłuszczowej pobranej od pacjentów po operacji bariatrycznej. Charakterystyczny fenotyp, multipotencjalność oraz właściwości immunosupresyjne MSC zostały potwierdzone w warunkach *in vitro* przed rozpoczęciem badań z wykorzystaniem mysich modeli doświadczalnych. W eksperymencie wykorzystano 25 myszy, samic szczepu C57BL6/cmdb w wieku 6-8 tygodni. Celem oceny krótko- oraz długoterminowych efektów przez nosowego podawania MSC do niezmienniej zapalenie tkanki płucnej, do badań włączono również myszy otrzymujące wyłącznie komórki. Zapalenie dolnych dróg oddechowych zostało wyindukowane poprzez stymulację ekstraktem HDM w dawce 10µg przez pięć kolejnych dni w każdym z dwóch tygodni. Dodatkowo, dwie grupy zwierząt z zapaleniem dróg oddechowych otrzymywały preparat MSC w 13 i 6 dniu eksperymentu celem oceny krótko- i długoterminowych efektów działania.

Kontrolę w niniejszych doświadczeniach stanowiły zwierzęta otrzymujące jako jedyny rozwór soli fizjologicznej. Wszystkie myszy uśmiercono w 15 dniu eksperymentu. Celem analizy wpływu podania MSC, oceniono histopatologię płuca, integralność bariery epitelialnej, odsetki limfocytów T efektorowych, zmiany w profilach transkryptomycznych oraz zmiany w stężeniach cytokin w popłuczynach oskrzelowo pęcherzykowych.

Przez nosowe podanie MSC do myszy ze zdrową tkanką płucną nie powodowało widocznej infiltracji komórek immunologicznych oraz nadprodukcji śluzu. Jednakże, zaobserwowano podwyższenie odsetka populacji limfocytów T efektorowych produkujących IFN γ , podczas gdy liczebności subpopulacji komórek T wydzielających IL-4, IL-17 i IL-10 pozostawały bez zmian. Ponadto, stwierdzono obniżenie ekspresji białek ścisłych połączeń komórkowych w barierze epitelialnej, a mianowicie Klaudyny 3 i Okludyny przy niezmienionej ekspresji ZO-1. Analizy transkryptomiczne wykazały zmiany w ekspresji genów powiązanych z regulacją procesów związanych z aktywacją makrofagów, fagocytozą i stresem oksydacyjnym. Ponadto, porównawcze analizy transkryptomiczne wykazały, iż ekspresja znacznej większości genów związanych z odpowiedzią immunologiczną ulega obniżeniu w modelu długoterminowym względem modelu krótkoterminowego.

Natomiast, podanie MSC w eksperymentalnym modelu astmy indukowanej ekstraktem HDM ograniczało zapalenie dróg oddechowych oraz produkcję śluzu. Niestety, nie zaobserwowano wyraźnych zmian w odsetkach subpopulacji limfocytów T efektorowych oraz cytokin związanych z odpowiedzią T zależną. Jednakże, odnotowano różnice w profilach transkryptomycznych po podaniu MSC w obu modelach. Ocena regulacji szlaków sygnałowych w narzędziu MetaCore wykazała obniżenie regulacji sygnalizacji zależnej od CCL2, S1P3 i CXCR4. Bardziej szczegółowe analizy transkryptomiczne dowiodły, iż znaczna większość genów o zróżnicowanej ekspresji jest związana z procesami chemotaksji, proliferacji limfocytów i migracji leukocytów.

Wyniki niniejszych badań wskazują MSC jako potencjalnie bezpieczną strategię terapeutyczną umożliwiającą ograniczenie zapalenia dolnych dróg oddechowych poprzez regulację procesów chemotaksji, migracji i rekrutacji komórek immunologicznych. Ponadto, opisane dane sugerują, iż MSC w stałych warunkach środowiska (niezapalnych) ulegają apoptozie i są usuwane przez fagocyty biorecy.