

## Streszczenie

Inżynieria tkankowa jest obecnie jednym najbardziej obiecujących podejść w medycynie regeneracyjnej, dotyczącej naprawy uszkodzeń w obwodowym układzie nerwowym. Mezenchymalne komórki macierzyste izolowane z tkanki tłuszczowej posiadają zdolność do różnicowania w komórki innych tkanek, potencjał do endogennej stymulacji procesów naprawczych w miejscu uszkodzenia i aktywność immunomodulacyjną, a także właściwości proangiogenne. W medycynie regeneracyjnej wykorzystywane są obecnie rusztowania tkankowe wykonane z biomateriałów nanowłóknistych. Ze względu na ich biokompatybilność, biodegradowalność, stabilność strukturalną i odporność na reakcje obronne organizmu, zapewniają one mechaniczne wsparcie dla regenerującej tkanki. Wykorzystanie rusztowania tkankowego zasiedlonego ASC zapewnia zarówno ochronę mechaniczną, jak i endogenną stymulację procesów naprawczych, a także ogranicza nadmierną reakcję ze strony układu odpornościowego, dzięki czemu zwiększona jest szansa na przywrócenie poprawnego funkcjonowania uszkodzonego nerwu.

Przedmiotem badań ujętych w niniejszej rozprawie była ocena przydatności mezenchymalnych komórek macierzystych izolowanych z tkanki tłuszczowej (ASC) szczura do wspomagania procesów naprawczych uszkodzeń mechanicznych nerwów obwodowych z wykorzystaniem rusztowań tkankowych wykonanych metodami inżynierii materiałowej. Dokonano charakterystyki ASC izolowanych z wybranych lokalizacji tkanki tłuszczowej szczura, porównując ich cechy fenotypowe i czynnościowe. Oceniono następnie potencjał ASC do różnicowania w kierunku neuralnym i zbadano wpływ czynników wzrostu – NGF, VEGF i bFGF na zdolność do różnicowania w komórki tkanki nerwowej. Zbadano wpływ ASC oraz ich sekretu na tempo wzrostu oraz zdolność do naprawy uszkodzeń mechanicznych w hodowli komórek linii N2a, wywodzącej się z mysiej neuroblastomy. Ze względu na wykorzystanie w doświadczeniach biomateriałów, zbadano oddziaływania pomiędzy wielofunkcyjnymi kompozytowymi biomateriałami nanowłóknistymi (WKBN), a ASC oraz wpływ tych materiałów na zdolność do różnicowania ASC w kierunku neuralnym. Wybrane białka zostały wykorzystane do wytworzenia rusztowania tkankowego, które po zasiedleniu ASC badane było w modelu *in vivo* pod kątem wspomagania procesu naprawy uszkodzenia mechanicznego nerwu kulszowego.

Wykazano iż ASC są dobrym kandydatem do naprawy uszkodzeń nerwów obwodowych. Wysoki potencjał regeneracyjny tych komórek stwierdzono zarówno w modelu *in vitro*, jak i *in vivo*. Nie zaobserwowano wpływu miejsca pobrania tkanki tłuszczowej na

cechy czynnościowe lub fenotypowe izolowanych z niej komórek macierzystych, jak również na ich zdolność do różnicowania w kierunku neuralnym. Spośród wykorzystanych czynników wzrostu, NGF w największym stopniu wpływa na zdolność do różnicowania ASC w kierunku neuralnym, natomiast nie powoduje zwiększonej zdolności do pobudzenia proliferacji komórek linii N2a. Wykazano iż ASC pozytywnie wpływają na czas naprawy uszkodzenia mechanicznego wykonanego w modelu *in vitro*. Wyniki te znajdują odzwierciedlenie w badaniach w modelu *in vivo*. Udowodniono iż rusztowanie tkankowe wykonane z kopolimeru poli-(L-laktydu) z poli-( $\epsilon$ -kaprolaktonem) z polianiliną (P(LLA-CL)/PANI) z dodatkiem kolagenu, zasiedlane ASC wspomaga proces naprawy uszkodzenia nerwu kulszowego szczura poprzez stymulację wzrostu włókien nerwowych.

Prezentowane w niniejszej rozprawie wyniki potwierdzają iż ASC posiadają wysoki potencjał do naprawy uszkodzeń występujących w obrębie obwodowego układu nerwowego, a zastosowanie ich wspólnie z rusztowaniem tkankowym, wytworzonym metodami inżynierii materiałowej daje obiecujące wyniki w leczeniu dużych ubytków w nerwach obwodowych.