

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

# Biotechnologia w erze inżynierii tkankowej

praca zbiorowa pod redakcją  
Andrzeja Mackiewicza

Poznań 2022

Monografia recenzowana

Skład i łamanie  
*Beata Łakomiak*

Korekta wydawnicza  
*Barbara Błażejczak*

Projekt okładki  
*Bartłomiej Wąsiel*

ISBN 978-83-7597-433-1

*Copyright © Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań 2022*



ul. Bukowska 70, 60-812 Poznań  
[www.wydawnictwo.ump.edu.pl](http://www.wydawnictwo.ump.edu.pl)

Ark. wyd. 16,5. Ark. druk. 21,9.  
Format B5. Zam. nr 172/22.  
Przekazano do druku w grudniu 2022.

*Szanowni Państwo,*

dynamiczny rozwój biotechnologii, szczególnie biotechnologii medycznej, bardzo istotnie przyczynił się do rozwoju szeroko pojętej medycyny. Ostatnio w walce z pandemią koronawirusa (COVID-19) szczepionki uratowały miliony istnień ludzkich. Przełomy biotechnologiczne dotyczą nowoczesnych terapii wielu chorób, w tym immunoterapii nowotworów. Bardzo istotny postęp odnotowano również w zakresie tzw. inżynierii komórkowej lub szerzej – tkankowej.

W związku z powyższym już po raz siódmy oddajemy w Państwa ręce monografię, tym razem zatytułowaną „Biotechnologia w erze inżynierii tkankowej”. Tak jak w poprzednich latach jest to dzieło zbiorowe, spójne tematycznie, które obejmuje prace licencjackie opracowane przez studentów kierunku: biotechnologia medyczna, absolwentów Wydziału Medycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w roku 2022. Podobnie do lat poprzednich prezentowany tom ma sumować zdobytą wiedzę i tym samym „aktualizować” dostępne podręczniki.

Niniejsza monografia zawiera trzynaście prac licencjackich, stanowiących jej rozdziały. Dziewięć rozdziałów dotyczy głównie ludzkich, ale i zwierzęcych komórek macierzystych, w tym ich charakterystyki, właściwości i potencjalnego wykorzystania w medycynie, np. regeneracji tkanek. Cztery prace są poświęcone czynnikom genetycznym związanym z transformacją komórek nowotworowych. Ponadto autorzy przedstawiają charakterystykę materiałów oraz opisują metody inżynierii genetycznej użyte do modyfikacji komórek lub naturalnych mechanizmów je modyfikujących. Wszystkie prace zawierają aktualne źródła cytowań.

Korzystając z okazji, pragnę wyrazić wdzięczność promotorom i recenzentom, którzy sprawowali nadzór nad realizacją prac licencjackich i udzielali pomocy ich autorom. Dzięki Państwu możliwe było przygotowanie niniejszej monografii. Słowa podziękowań kieruję też do prof. Anny Latos-Bieleńskiej i prof. Anny Jankowskiej za merytoryczną opiekę i cenne uwagi podczas opracowywania tej publikacji. Za zaangażowanie w przygotowanie niniejszego tomu dziękuję również Zespołowi Wydawnictwa Naukowego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

*Andrzej Mackiewicz*

Poznań, 2022 r.

# Spis treści

*Marta Białobrzeska*

<b>Progenitorowe komórki śródbłonna – potencjał angiogeny i perspektywy zastosowania w inżynierii tkankowej</b> .....	13
1. Wstęp .....	16
2. Progenitorowe komórki śródbłonna (EPC) .....	16
2.1. Charakterystyka EPC .....	16
2.2. Heterogenność populacji EPC .....	18
2.3. Proces angiogenezy – rola EPC .....	19
2.4. Czynniki wpływające na biologię EPC .....	20
3. Kliniczne zastosowanie EPC .....	21
3.1. Subpopulacje EPC a potencjał regeneracyjny .....	22
3.2. Otrzymywanie EPC w inżynierii tkankowej .....	23
3.3. Terapie z wykorzystaniem EPC w praktyce .....	24
3.4. Próby kliniczne z zastosowaniem EPC .....	26
3.4.1. Terapia komórkowa .....	26
3.4.2. Terapia z wykorzystaniem biomateriałów .....	27
3.5. Terapeutyczne EPC – problemy i wyzwania .....	28
4. Podsumowanie i wnioski .....	29
5. Piśmiennictwo .....	30

*Szymon Bzdion*

<b>Czynniki genetyczne w rozwoju raka szyjki macicy – warianty polimorficznych genów miRNA</b> .....	33
1. Wstęp .....	35
1.1. HPV .....	35
1.2. Diagnostyka i profilaktyka .....	36
1.3. Szczepionka .....	36
1.4. Leczenie raka szyjki macicy .....	37
2. RNA. MikroRNA .....	37
3. Nieprawidłowe ilości miRNA w raku szyjki macicy .....	40
3.1. HPV i miRNA .....	41
3.2. MikroRNA w diagnostyce .....	42
3.2.1. MikroRNA krążące we krwi .....	42
3.2.2. Egzosomalne miRNA .....	42
3.2.3. Tkankowe miRNA .....	43
4. Metody analizy miRNA .....	43
4.1. Mikromacierze .....	43
4.2. Sekwencjonowanie miRNA .....	43
4.3. <i>Real-time PCR</i> .....	44
5. MikroRNA w leczeniu .....	44
6. MikroRNA w oporności na chemioterapię .....	45
7. Podsumowanie .....	45
8. Piśmiennictwo .....	46

*Natalia Krajewska*

<b>Nowoczesne metody modyfikacji genomu</b> .....	51
1. Wstęp .....	55
2. Charakterystyka nowoczesnych metod modyfikacji genomu .....	56
2.1. Nukleazy z motywem palca cynkowego .....	57
2.2. Nukleazy efektorowe o charakterze aktywatorów transkrypcji .....	59
2.3. System CRISPR/Cas .....	60
3. Zastosowanie modyfikacji genomu w inżynierii tkankowej .....	62
3.1. Nukleazy z motywem palca cynkowego .....	63
3.2. Nukleazy efektorowe o charakterze aktywatorów transkrypcji .....	64
3.3. System CRISPR/Cas .....	65
4. Aspekty etyczne i prawne wykorzystania nowoczesnych metod modyfikacji genomu .....	67
5. Podsumowanie i wnioski .....	70
6. Piśmiennictwo .....	71

*Dagmara Krzysztańska*

<b>Wykorzystanie syntetycznych rybosomów w medycynie</b> .....	77
1. Wstęp .....	79
1.1. Budowa rybosomów .....	79
1.2. Funkcjonowanie rybosomów .....	80
1.3. Modyfikacje rybosomów technikami inżynierii genetycznej .....	81
2. Cel pracy .....	83
3. Materiały i metody .....	83
4. Wyniki .....	83
4.1. System iSAT .....	84
4.2. RISE .....	88
4.3. Ribo-T .....	93
5. Omówienie wyników .....	98
6. Wnioski .....	101
7. Piśmiennictwo .....	101

*Weronika Lato*

<b>Wzrost, rozwój i przerzuty nowotworu w odniesieniu do neoangiogenezy</b> .....	105
1. Wstęp .....	107
2. Etapy tumorigenezy a neoangiogeneza .....	108
2.1. Rola przełącznika angiogennego .....	108
2.2. Progresja nowotworu .....	108
2.3. Proces przerzutowania .....	109
3. Rola mikrośrodowiska guza w neoangiogenezie .....	109
3.1. Hipoksja .....	109
3.2. Komórki nienowotworowe w mikrośrodowisku guza .....	110
3.2.1. Fibroblasty związane z nowotworem (ang. <i>cancer-associated fibroblasts</i> – CAFs) .....	111
3.2.2. Komórki układu odpornościowego .....	111
3.2.3. Komponenty związane z naczyniami krwionośnymi: płytki krwi i perycyty .....	111

3.3. Czynniki proangiogenne .....	112
4. Mechanizmy unaczyniania guza .....	113
4.1. Pączkowanie (ang. <i>sprouting angiogenesis</i> ) .....	113
4.2. Waskulogeneza .....	113
4.3. Podział istniejących naczyń przez wgłobienie (ang. <i>intussusceptive microvascular growth</i> – IMG) .....	113
4.4. Mimikra naczyniowa .....	113
4.5. Kooptowanie naczyń (ang. <i>vessel co-option</i> ) .....	114
5. Etapy neoangiogenezy na drodze pączkowania .....	114
5.1. Zwiększenie przepuszczalności naczyń krwionośnych i degradacja białek błony podstawnej .....	114
5.2. Migracja i proliferacja komórek śródbłonna .....	115
5.3. Formowanie i dojrzewanie naczyń .....	115
6. Angiogeneza jako czynnik prognostyczny i potencjalny cel terapii nowotworowej .....	115
7. Podsumowanie .....	116
8. Piśmiennictwo .....	117

*Martyna Ławniczak*

<b>Komórki macierzyste tkanki tłuszczowej w służbie inżynierii tkankowej</b> .....	119
1. Wstęp .....	121
2. Charakterystyka somatycznych komórek macierzystych tkanki tłuszczowej .....	121
2.1. Pochodzenie i biologiczne właściwości .....	122
2.2. Różnicowanie .....	123
2.3. Właściwości sekrecyjne .....	124
3. Zastosowanie komórek macierzystych tkanki tłuszczowej w inżynierii tkankowej .....	125
3.1. Regeneracja tkanki mięśniowej .....	126
3.2. Regeneracja tkanki kostnej .....	128
3.3. Regeneracja tkanki chrzęstnej .....	130
3.4. Regeneracja skóry i leczenie ran .....	132
4. Ograniczenia w zakresie wykorzystania komórek macierzystych tkanki tłuszczowej .....	133
4.1. Bezpieczeństwo pacjentów .....	133
4.2. Problemy związane z właściwościami ASCs .....	133
4.3. Ryzyko kancerogenezy .....	134
5. Podsumowanie .....	134
6. Piśmiennictwo .....	135

*Emilia Malinowska*

<b>Komórki macierzyste izolowane z pępowiny (HUVECs, Wharton Jelly) – właściwości biochemiczne i strukturalne</b> .....	139
1. Wstęp .....	141
1.1. Charakterystyka ludzkich komórek śródbłonna żyły pępowinowej (HUVECs) .....	141

1.2. Charakterystyka mezenchymalnych komórek galarety Whartona (WJ-MSCs) .....	142
2. Markery HUVECs .....	144
3. Markery WJ-MSCs .....	145
4. Zastosowanie HUVECs i WJ-MSCs w medycynie regeneracyjnej .....	147
4.1. HUVECs .....	147
4.2. Komórki mezenchymalne z galarety Whartona .....	149
5. Podsumowanie .....	152
6. Piśmiennictwo .....	153

*Jakub Martyński*

## **Wykorzystanie biomateriałów w regeneracji skóry. Problemy**

<b>i wyzwania</b> .....	157
1. Wstęp .....	159
1.1. Funkcje i budowa skóry .....	159
1.2. Uszkodzenia skóry .....	159
1.3. Gojenie się ran .....	160
1.4. Biomateriały .....	160
2. Rodzaje biomateriałów .....	161
2.1. Polimery .....	161
2.2. Hydrożele .....	162
2.3. Sztuczna skóra .....	164
3. Podsumowanie .....	165
4. Piśmiennictwo .....	165

*Aleksandra Maryniaczyk*

## **Inżynieria tkankowa z wykorzystaniem komórek macierzystych w procesie regeneracji chrząstki stawowej**

.....	169
1. Wstęp .....	171
2. Charakterystyka chrząstki stawowej .....	171
2.1. Budowa i funkcja .....	171
2.2. Uszkodzenie, regeneracja i stosowane metody leczenia .....	172
3. Komórki macierzyste w inżynierii tkankowej chrząstki stawowej .....	175
3.1. Mezenchymalne komórki macierzyste .....	175
3.2. Czynniki chondrogenne mezenchymalnych komórek macierzystych ...	176
4. Rusztowania w inżynierii tkankowej chrząstki stawowej z wykorzystaniem komórek macierzystych .....	177
4.1. Rusztowania z polimerów naturalnych .....	178
4.2. Rusztowania z polimerów syntetycznych .....	181
4.3. Rusztowania z polimerów naturalnych oraz syntetycznych .....	184
5. Podsumowanie .....	186
6. Piśmiennictwo .....	186

Marek Michalak

<b>Czynniki genetyczne w rozwoju nowotworów ośrodkowego układu nerwowego – warianty polimorficzne genów dla miRNA</b> ....	189
1. Wstęp .....	191
2. Wariant genetyczny. Wariant pojedynczego nukleotydu (SNV) .....	193
3. RNA. MikroRNA .....	194
4. Wpływ polimorfizmu na rozwój nowotworów OUN .....	197
4.1. Warianty genetyczne mikroRNA .....	197
4.1.1. MikroRNA-196a2 (rs11614913 C>G/C>T) .....	197
4.1.2. MikroRNA-146a (rs2910164 C>G) .....	198
4.2. Polimorfizmy genów .....	200
4.2.1. <i>TYMS</i> (rs1059394 C>T) .....	200
4.2.2. <i>GOLGA7</i> (rs11337 T>G) .....	200
4.2.3. Długie niekodujące RNA (lncRNA) <i>H19</i> .....	201
5. Podsumowanie .....	202
6. Piśmiennictwo .....	203

Radosław Szczepański

<b>Czynniki genetyczne w rozwoju raka jasnokomórkowego nerki – warianty polimorficzne genów dla miRNA</b> .....	207
1. Wstęp .....	209
2. Rak jasnokomórkowy nerki .....	209
2.1. Patogeneza, charakterystyka kliniczna, epidemiologia .....	209
2.2. Metody leczenia i przeżywalność w raku jasnokomórkowym nerki .....	211
3. Interferencja RNA i jej rola w nowotworzeniu .....	212
3.1. Historia odkryć RNAi .....	212
3.2. Biogeneza miRNA .....	213
3.3. Mechanizm efektorowy wyciszania potranskrypcyjnego genów za pomocą miRNA .....	215
3.4. Znaczenie mutacji i zmian ekspresji genów miRNA oraz genów enzymów odpowiedzialnych za biogenezę i wyciszanie translacji białek za pomocą miRNA w rozwoju nowotworów .....	216
4. Polimorfizmy i zmiany ekspresji miRNA oraz enzymów powiązanych z biogenezą i mechanizmem miRNA jako czynniki genetyczne w rozwoju raków jasnokomórkowych nerki .....	222
4.1. Ścieżka VHL-HIF .....	222
4.2. Rozregulowanie maszynerii komórkowej biorącej udział w biogenezie i mechanizmie miRNA w raku jasnokomórkowym nerki .....	223
4.3. Zmiany ekspresji miRNA i ich wpływ na rozwój raka jasnokomórkowego nerki .....	224
4.4. Polimorfizmy związane ze szlakami wyciszania potranskrypcyjnego mRNA przez miRNA i ich wpływ na ryzyko zachorowania na raki nerkowokomórkowe .....	227
5. Podsumowanie .....	229
6. Piśmiennictwo .....	230



Magdalena Wierzbicka

<b>Nowotworowe komórki macierzyste – przegląd badań naukowych na temat budowy komórkowej i właściwości molekularnych ...</b>	235
1. Wstęp .....	237
2. Faworyzowanie fosforylacji oksydacyjnej i zwiększona aktywność glikolityczna u nowotworowych komórek macierzystych .....	238
3. Szlak sygnałowy Wnt a nowotworowe komórki macierzyste .....	239
4. Związek ścieżki sygnałowej Hippo z nowotworowymi komórkami macierzystymi .....	240
5. Przejście epitelialno-mezenchymalne oraz mezenchymalno-epitelialne w nowotworowych komórkach macierzystych .....	241
6. Rola czynników Yamanaki w nowotworowych komórkach macierzystych .....	242
7. Markery nowotworowych komórek macierzystych .....	242
7.1. Markery komórek macierzystych raka piersi .....	242
7.2. Markery powiązane z macierzystością komórek raka płuc .....	243
7.3. Biomarkery związane z obecnością macierzystych komórek raka jelita grubego .....	243
8. Podsumowanie .....	243
9. Piśmiennictwo .....	245

Wiktoria Zgórecka

<b>Potencjał macierzysty komórek warstwy ziarnistej pęcherzyka jajnikowego na podstawie badań na modelach ludzkich i zwierzęcych .....</b>	247
1. Wstęp .....	249
1.1. Rozwój pęcherzykowy w jajniku – folikulogeneza (ang. <i>ovarian follicular development, folliculogenesis</i> ) .....	249
1.2. Charakterystyka poszczególnych warstw komórek ziarnistych w pęcherzyku jajnikowym .....	252
1.3. Odnowa pęcherzykowa w jajnikach .....	252
2. Hodowla pęcherzyków i komórek ziarnistych <i>in vitro</i> .....	253
3. Wskaźniki potencjału macierzystego w komórkach zawartych w płynie pęcherzykowym .....	254
3.1. Markery komórek macierzystych wyrażane przez GCs .....	255
3.2. Aktywność telomerazy i ekspresja TERT w GCs .....	256
4. Transdyferencjacja komórek ziarnistych w kierunku innych linii komórkowych. Potencjał transdyferencyjny komórek ziarnistych .....	257
5. Podsumowanie .....	259
6. Piśmiennictwo .....	260