



WPŁYW WARUNKÓW PRZESTRZENNYCH I PŁYNU MÓZGOWO-RDZENIOWEGO NA POTENCJAŁ NEURALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH

mgr Ilona Zembruska-Kaska



Promotor pracy: **dr Wioletta Olejarz**
Katedra i Zakład Biochemii i Farmakogenomiki

Praca magisterska wykonana w Platformie Badań Translacyjnych
w zakresie medycyny regeneracyjnej
IMDiK PAN

prof. dr hab. n. med. Anna Sarnowska
mgr Klaudia Radoszkiewicz

WSTĘP

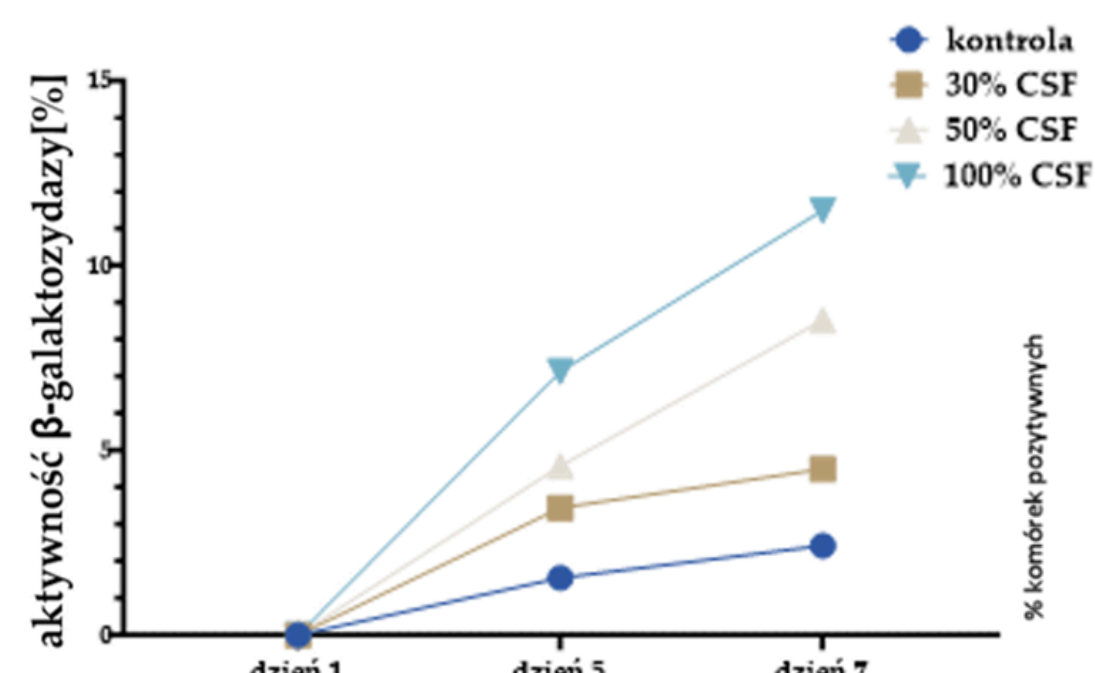
Neuralne komórki macierzyste (ang. *neural stem cells*, NSC) odgrywają kluczową rolę w regeneracji układu nerwowego, co czyni je przedmiotem intensywnych badań w kontekście terapii chorób neurologicznych. Aby jednak w pełni wykorzystać ich potencjał terapeutyczny, konieczne jest lepsze zrozumienie ich biologii i stworzenie warunków hodowli, które efektywnie naśladują naturalne środowisko mózgu.

CEL PRACY

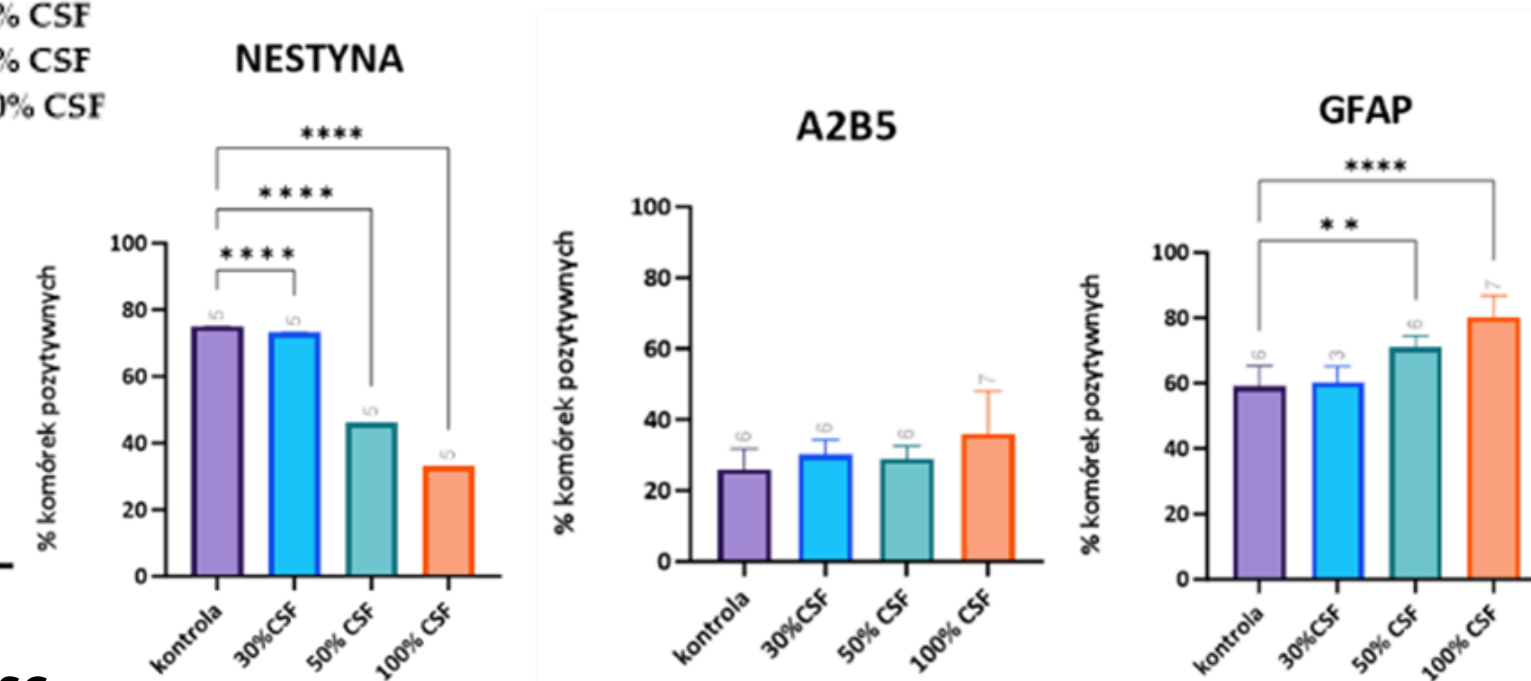
Optymalizacja warunków hodowli NSC aby jak najwierniej odzwierciedlić naturalne warunki panujące w neuralnej niszy, co pozwoli na lepsze zrozumienie biologii tych komórek.

WYNIKI

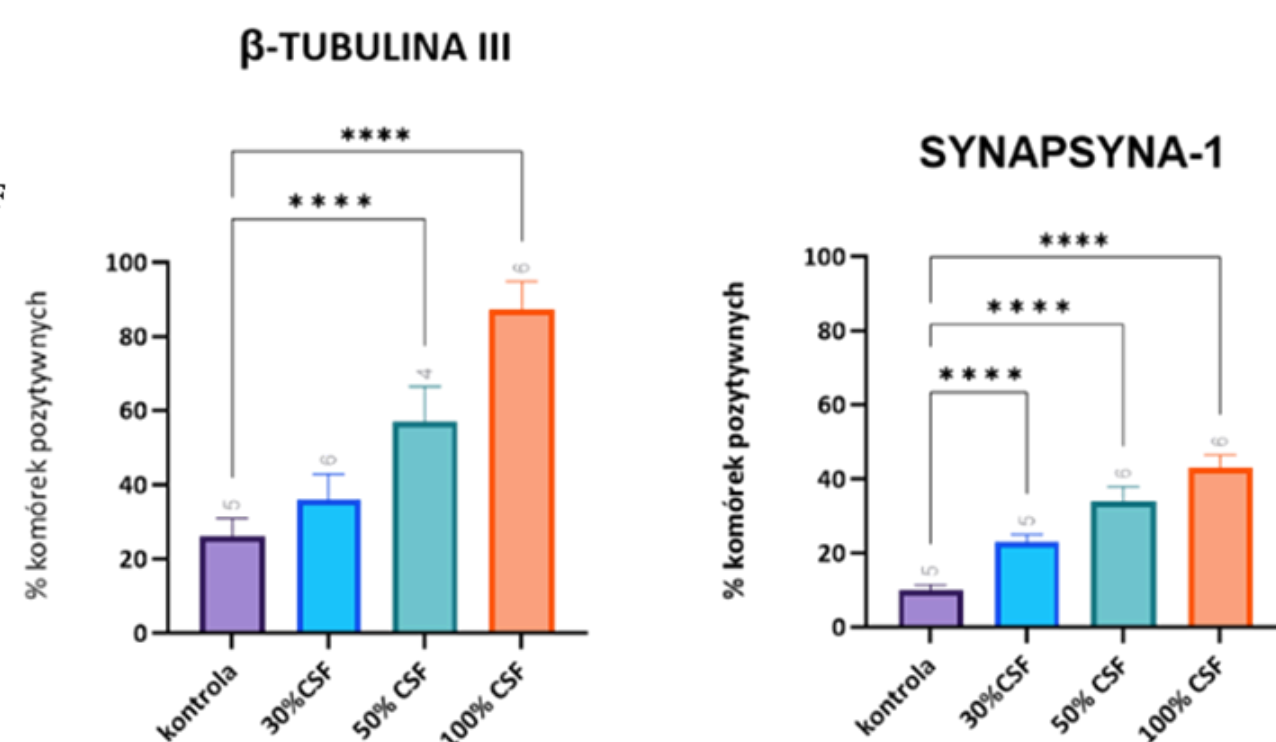
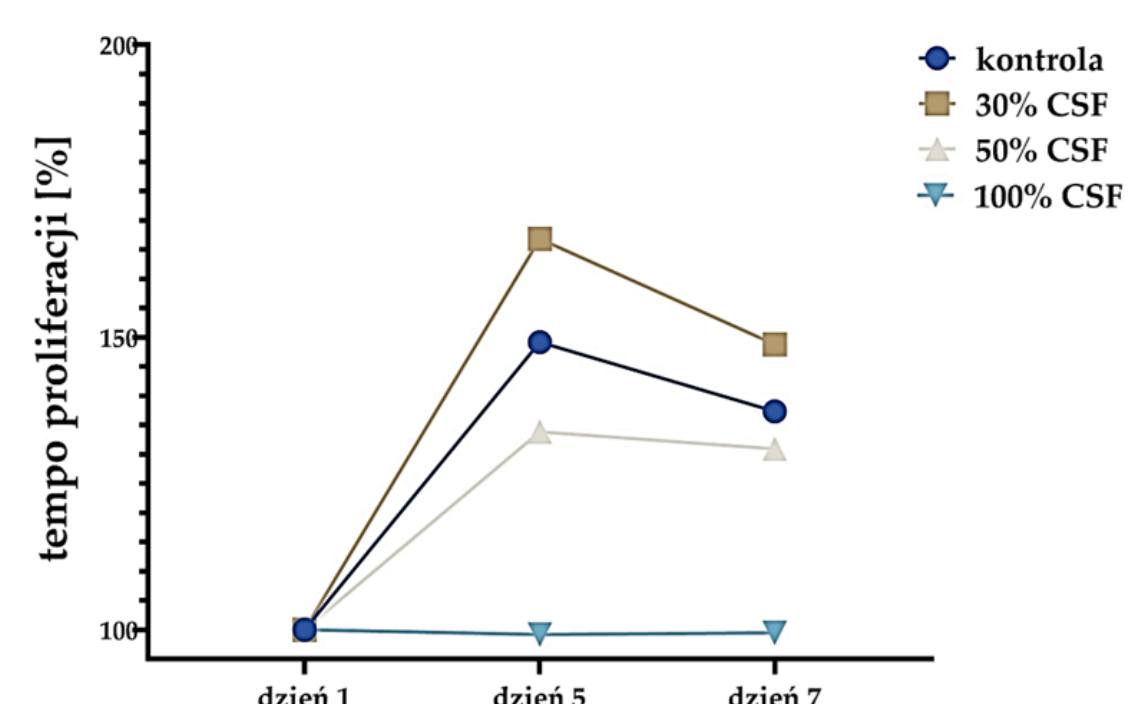
Analiza wpływu CSF na proces starzenia komórkowego.



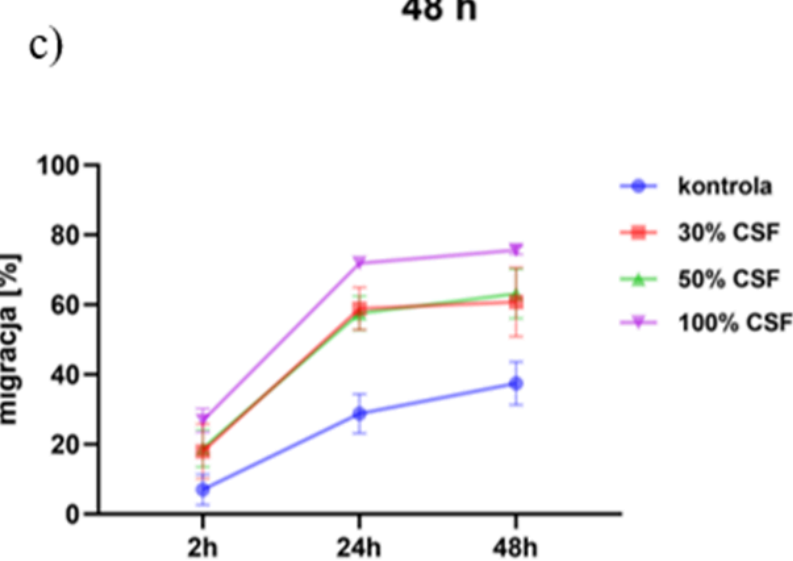
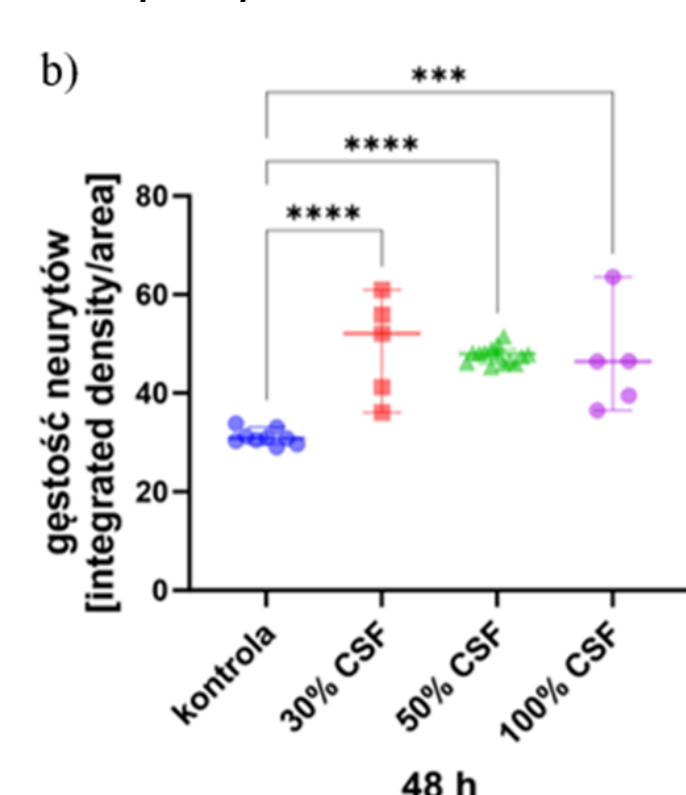
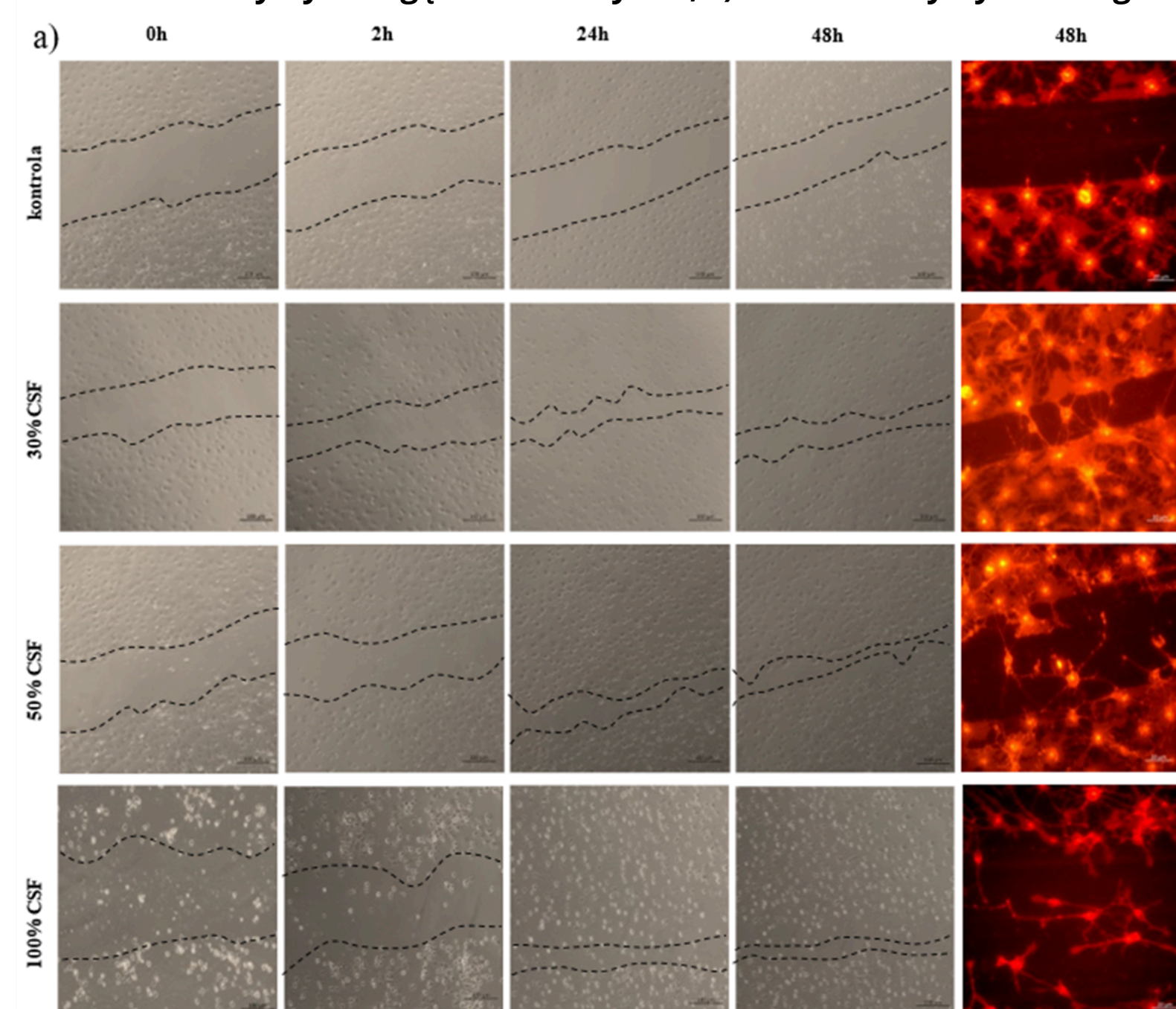
Analiza wpływu hodowli z CSF na ekspresję wybranych markerów u NSC.



Analiza wpływu CSF na tempo proliferacji NSC.



Analiza migracji NSC i gęstości neurytów pod wpływem różnych stężeń CSF: a) fotografie obszaru rysy w 0h, 2h, 24h, 48h (skala 100µm); analiza gęstości neurytów w 48h migracji NSC (skala 50µm); b) analiza statystyczna gęstości neurytów; c) analiza statystyczna migracji NSC w 2h, 24h, 48h



W przebiegu badań stwierdzono, iż CSF:

- wykazuje hamujące działanie na proces proliferacji komórek
- stymuluje dojrzewanie NSC, promując różnicowanie w kierunku komórek astrocytarnych i neuronalnych korzystnie działa na proces migracji NSC.

Hodowla w skafoldach wywiera korzystny wpływ na przeżywanie i proliferację NSC, a także stymuluje różnicowanie w kierunku astrocytów.

Próbki płynu mózgowo-rdzeniowego (ang. *cerebrospinal fluid*, CSF) pozyskane od 19 pacjentów WUM zostały spulowane, odwirowane i zamrożone w -80°C do czasu przeprowadzenia eksperymentów. NSC zostały wyizolowane z mózgow nowonarodzonych osesków szczurów Wistar ze Zwierzątarni IMDiK PAN. Wykonano doświadczenia badające wpływ biodegradowalnego rusztowania (skafoldu) i CSF na los NSC.

Analiza wpływu warunków przestrzennych na los NSC

- Hodowla NSC w rusztowaniach zbudowanych z macierzy Matrigel i CSF
- Obserwację prowadzono w hodowli w 4 wariantach:
- Matrigel bez dodatku CSF
- Matrigel z zawartością 30% CSF

Barwienie immunofluorescencyjne skafoldów utrwalonych 10 dnia hodowli

Analiza wpływu CSF na los NSC

- Analiza proliferacji NSC
- Analiza starzenia komórkowego
- Analiza migracji komórek i analiza gęstości neurytów w obszarze rysy

Barwienie immunofluorescencyjne NSC utrwalonych w 9 dniu hodowli na płytce

WNIOSKI

W warunkach 2D:

- Dodatek CSF do pożywki przyspiesza starzenie komórkowe i hamuje proliferację NSC;
- CSF stymuluje dojrzewanie NSC oraz ich różnicowanie w kierunku astrocytarnym i neuronalnym;
- CSF przyspiesza migrację NSC.

W warunkach 3D jako składnik biodegradowalnych rusztowań CSF:

- działa addytywnie do stworzonych struktur przestrzennych zwiększając przeżywalność i proliferację NSC;
- utrzymuje młody fenotyp komórek;
- stymuluje różnicowanie NSC w kierunku astrocytarnym oraz oligodendrocytarnym.