

OCENA MOLEKULARNA WŁAŚCIWOŚCI NEUROPROTEKCYJNYCH I REGENERACYJNYCH KOMÓREK WJ-MSC PO TRANSPLANTACJI DO USZKODZONEGO MÓZGU SZCZURA

Udar niedokrwienny powoduje szybkie upośledzenie homeostazy tkanek, prowadząc bezpośrednio do martwicy ogniskowej otoczonej regionem opóźnionego zwyrodnienia komórek z sukcesywnym zaburzeniem właściwych interakcji komórkowych. Brak skutecznego leczenia następstw udaru wymaga poszukiwania nowych, alternatywnych metod terapii, w tym terapii komórkowej.

Mezenchymalne komórki macierzyste (MSC, ang. *Mesenchymal Stem Cells*) potrafią w sposób aktywny reagować na otaczające mikrośrodowisko poprzez zmianę profilu sekrecji czynników wpływających m.in. na proliferację, różnicowanie i dojrzewanie różnych komórek progenitorowych w mózgu. Neuroprotekcyny efekt transplantacji MSC wiąże się między innymi z wydzielaniem przez MSC neurotrofin oraz stymulacją komórek endogennych do ich wydzielania.

Obecnie, gdy medycyna regeneracyjna oparta na wykorzystaniu komórek macierzystych coraz częściej wchodzi do kliniki, istnieje potrzeba opracowania odpowiednich protokołów dla metod izolacji, hodowli i określenia bezpieczeństwa biologicznego pozyskanych komórek, w tym poprawy ich właściwości terapeutycznych i zdolności do przeżycia po przeszczepie. Komórki macierzyste po transplantacji są narażone na silną odpowiedź immunologiczną biorcy, co znacznie utrudnia ich przeżycie oraz regenerację uszkodzonej tkanki. Aby rozwiązać ten problem, opracowano konkretne nośniki/rusztowania, które mogą chronić przeszczepione komórki przed reakcją układu odpornościowego biorcy i zwiększyć właściwości regeneracyjne przeszczepianych komórek macierzystych.

W związku z powyższym, głównym celem proponowanego projektu jest ocena molekularna odpowiedzi tkanki nerwowej gospodarza na przeszczep ludzkich komórek macierzystych izolowanych ze sznura pępowinowego (WJ-MSC) w eksperymentalnym modelu uszkodzenia mózgu.

Zakładamy, że komórki WJ-MSC wstępnie przygotowane ("prekondycjonowane") w warunkach tzw. "fizjologicznej normoksji" (5% O₂), czyli środowisku zbliżonym do występującego w ich naturalnym mikrośrodowisku, a następnie transplantowane w 3D hydrożelowych rusztowaniach wykazują zwiększone działanie neuroprotekcyny, modulują odpowiedź zapalną i zwiększają proces regeneracji endogennej tkanki, w porównaniu do komórek hodowanych w warunkach 21% O₂ i przeszczepionych w zawieszynie. Chcemy zweryfikować tę hipotezę przeprowadzając doświadczenie, w którym ocenimy właściwości neuroprotekcyny, regeneracyjne i immunomodulujące komórek hodowanych w standardowych warunkach (21% O₂) lub wstępnie przygotowanych w tzw. fizjologicznej normoksji, a następnie przeszczepionych w formie zawieszyny bądź w 3D rusztowaniach hydrożelowych w eksperymentalnym modelu uszkodzenia mózgu.

Analiza będzie opierać się na wpływie WJ-MSC na uszkodzony mózg szczura poprzez określenie odpowiedzi biorcy na przeszczep, na podstawie ekspresji wybranych cytokin pro- i przeciwzapalnych, neurotrofin i czynników wzrostu oraz analizie zdolności komórek do przeżycia i migracji w uszkodzonym mózgu szczura. Badania zostaną przeprowadzone na szczurach rasy Wistar, od których po przeszczepie zostaną pobrane do analizy mózgowia oraz płyn mózgowo-rdzeniowy. Lokalizacja oraz migracja transplantowanych komórek będzie analizowana metodą rezonansu magnetycznego w różnych punktach czasowych od przeszczepu.

Nowatorskim aspektem proponowanych badań będzie próba zwiększenia właściwości terapeutycznych komórek WJ-MSC poprzez ich wstępne prekondycjonowanie w warunkach fizjologicznej normoksji (5% O₂) oraz transplantację w formie 3D hydrożelu.

Wyniki uzyskane w ramach tego projektu pomogą wyjaśnić, w jaki sposób przeszczepione komórki mogą potencjalnie promować neuroprotekcję, modulować odpowiedź zapalną i stymulować tkankę biorcy do regeneracji. Badania mogą pozwolić na odpowiedź na następujące pytanie: czy zastosowanie warunków biomimetycznych z restrykcyjnym systemem hodowli w tzw. "normoksji fizjologicznej" ma pozytywny wpływ na zwiększenie właściwości neuroprotekcyny, regeneracyjnych i immunomodulujących WJ-MSC.

Ponadto badania w ramach tego projektu i odpowiedzi na stawiane pytania pozwolą opracować odpowiednie protokoły dotyczące warunków hodowli (w tym określonych warunków biomimetycznych) i metod przeszczepiania komórek macierzystych w perspektywie późniejszego opracowania innowacyjnego produktu leczniczego terapii zaawansowanej (ATMP) w leczeniu zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego.