

Ηράκλειο, 4/12/2020

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΗ

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Τίτλος

«Σύγκριση των βιολογικών χαρακτηριστικών μεσεγχυματικών/στρωματικών βλαστικών κυττάρων (MSCs) από τη γέλη του Wharton πριν και μετά την κρυοκατάψυξη του ιστού με στόχο τη δημιουργία Τράπεζας Ομφαλίου Λώρου»

Μακρυγιαννάκη Ειρήνη

Φοιτήτρια

Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Υλικών, Πανεπιστημίου Κρήτης

Επιβλέποντες: κ. Χατζηνικολαΐδου Μαρία, κ. Παπαδάκη Ελένη

Τετάρτη 9/12/2020, και ώρα: 15:00

Link τηλεδιάσκεψης: <https://teleconf.materials.uoc.gr/b/sta-x1k-ifr-svz>

Η παρουσίαση θα πραγματοποιηθεί με τηλεδιάσκεψη σύμφωνα με το τρίτο άρθρο, παρ. 1, της με αριθμ. 115744/Ζ1/4.9.2020 Κοινής Υπουργικής Απόφασης (Β'3707).

Περίληψη:

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά ή στρωματικά κύτταρα (Mesenchymal Stem/Stromal Cells, MSCs) μπορούν να απομονωθούν από πολλούς ιστούς του σώματος συμπεριλαμβανομένης της γέλης του Wharton (Wharton's Jelly, WJ), την πιο πλούσια πηγή MSCs του ομφαλίου λώρου. Η συνεχώς αυξανόμενη χρήση των MSCs σε κλινικές εφαρμογές καθιστά αναγκαία τη δημιουργία μιας τράπεζας MSCs έτσι ώστε να είναι διαθέσιμα και προσβάσιμα για πιθανή μελλοντική χρήση τους σε θεραπευτικές προσεγγίσεις. Με στόχο τη δημιουργία μιας τράπεζας ομφαλίου λώρου συγκρίναμε ομφαλικά MSCs προερχόμενα από τη γέλη του Wharton πριν και μετά την ψύξη και απόψυξη του ιστού. Συγκεκριμένα, δημιουργήθηκαν δυο ομάδες MSCs, τα PRO-WJMSCs τα οποία απομονώθηκαν και καλλιεργήθηκαν με την απευθείας μέθοδο έκπτυξης/μετανάστευσης των κυττάρων σε καλλιεργητική επιφάνεια και τα PT-WJMSCs (post-thawed) MSCs από τον ίδιο ιστό τα οποία προέκυψαν με τη μέθοδο της έκπτυξης/μετανάστευσης μετά την ψύξη και απόψυξη της γέλης Wharton. Μελετήθηκαν τα ανοσοφαινοτυπικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά των κυττάρων μέσω της κυτταρομετρίας ροής. Επιπλέον, αξιολογήθηκαν τα αναπτυξιακά τους χαρακτηριστικά μέσω της εκτίμησης του χρόνου διπλασιασμού του πληθυσμού (PDs) και με τη δοκιμασία μεθυλο-τριαζολυλ-τετραζολίου (MTT). Επιπροσθέτως, η κυτταρική γήρανση αξιολογήθηκε μέσω μέτρησης του σχετικού μήκους των τελομερών. Τέλος, τα MSCs εξετάστηκαν ως προς την ικανότητα διαφοροποίησης τους σε λιποκύτταρα και οστεοκύτταρα. Η διαφοροποίηση αξιολογήθηκε με ιστοχημικές χρώσεις (Oil Red-O για τα λιποκύτταρα και Alizarin Red / Von Kossa για τα οστεοκύτταρα) και με την έκφραση γονιδίων ειδικών για τα λιποκύτταρα και οστεοκύτταρα (PPARG, CEBPA και ALP, RUNX2, OSC, αντιστοίχως). Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων φάνηκε πως και οι δυο ex vivo καλλιεργούμενοι MSC πληθυσμοί (PRO-WJMSCs και PT-WJMSCs) εμφάνισαν παρόμοια μορφολογικά και ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά. Επιπλέον, δεν παρουσίασαν διαφορές ως προς την πολλαπλασιαστική τους ικανότητα. Αναφορικά με το δυναμικό διαφοροποίησης τους προς λιποκύτταρα και οστεοκύτταρα, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στις χρώσεις αλλά ούτε και στην έκφραση των ειδικών γονιδίων. Συμπερασματικά, τα μέχρι στιγμής δεδομένα συμβάλλουν ενθαρρυντικά στην δημιουργία μιας τράπεζας ομφαλίου λώρου, καθώς όπως

φαίνεται η κρυοσυντήρηση της γέλης του Wharton δεν επηρεάζει τα βιολογικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά των MSCs, εξασφαλίζοντας μας ένα ισχυρό εργαλείο για την χρήση τους σε προκλινικό και κλινικό επίπεδο.

ABSTRACT:

Mesenchymal Stem/Stromal Cells (MSCs) can be isolated from many tissues in the human body, including Wharton's Jelly tissue (WJ), the most abundant MSCs source in umbilical cord. The continuously increasing use of MSCs in clinical applications makes it necessary to create a bank of MSCs so that they are available and accessible for future use in therapeutic approaches. In order to create an umbilical cord bank, we compared umbilical MSCs derived from WJ before and after tissue cryopreservation. Specifically, two groups of MSCs (i) the PRO-WJMSCs, which were isolated and cultured by the direct method of cell growth and migration to culture surface, and (ii) the PT-WJMSCs (post-thawed), MSCs from the same tissue which were obtained by the method of growth / migration after cryopreservation and thawing of Wharton Jelly. The immunophenotypic and morphological characteristics of the cells were studied by flow cytometry. In addition, their growth characteristics were assessed by evaluating the population doubling time (PDs) and by the methyl-triazolyl-tetrazole (MTT) test during re-cultures. In addition, MSCs senescence was estimated by measuring the relative length of telomeres. Finally, MSCs were evaluated for their ability to differentiate into adipocytes and osteocytes. Differentiation was assessed by histochemical staining (Oil Red-O for adipocytes and Alizarin Red/Von Kossa for osteocytes) and by expression of specific genes for adipocytes and osteocytes (PPARG, CEBPA and ALP, RUNX2, OSC, respectively). Analysis of the results showed that both *ex vivo* cultured MSC populations (PRO-WJMSCs and PT-WJMSCs) exhibited similar morphological and immunophenotypic characteristics. In addition, they showed no differences in their proliferation capacity. Regarding their potential for differentiation in adipocytes and osteocytes, no significant differences were observed in staining or in the expression of specific genes. These data contribute encouragingly to the creation of an umbilical cord bank as it seems that the cryopreservation of WJ does not affect the biological and functional characteristics of MSCs, providing us with a powerful tool for their use in preclinical and clinical level.