

Ad oggi non si conosce il meccanismo attraverso il quale la mutazione nel gene che codifica per la proteina Vps54, coinvolta nel traffico vescicolare, causa degenerazione motoneuronale e difetti nella spermatogenesi nel topo wobbler.

La popolazione di ANSCs/ANPCs Wr e i fenotipi cellulari ottenuti dal differenziamento di tale popolazione potrebbero rappresentare una risorsa cellulare importante per lo studio in vitro dei meccanismi molecolari che intervengono nella patogenesi della malattia.

Per tale motivo, il mio lavoro di tesi si propone di determinare se il complemento di ANSCs/ANPCs, isolato da SVZ di topi portatori della mutazione vps54-L967Q, è alterato rispetto alla popolazione di topi sani e se le cellule ottenute dal differenziamento di ANSCs/ANPCs Wr mostrano caratteristiche tipiche della malattia.

A tale scopo, dopo aver isolato ANSCs/ANPCs dalla SVZ di topi wobbler e di topi controllo, ho cominciato una caratterizzazione morfologica e funzionale sia delle cellule aggregate in neurosfere flottanti, sia delle cellule dissociate dalle neurosfere sia delle cellule differenziate.

In particolare, ho valutato:

- 1) La capacità della popolazione di ANSCs/ANPCs Wr di formare neurosfere flottanti, vitali e metabolicamente attive in risposta ad EGF e FGF-2 sia a bassi sia ad alti passaggi.
- 2) La capacità proliferativa e autorigenerativa a lungo termine (P0-P20).
- 3) L'espressione di mRNA dei recettori di EGF e FGF-2
- 4) L'espressione di markers di staminalità e di progenitori cellulari in sezioni di neurosfere ottenute sia a bassi sia ad alti passaggi.
- 5) La multipotenzialità in diverse condizioni colturali al fine di osservare nella popolazione cellulare Ctr e Wr l'interazione tra il programma genetico intrinseco e diversi fattori ambientali.

Nel topo wobblers la presenza di astrociti reattivi in aree non affette da degenerazione neuronale e la presenza di alterazioni morfologiche e metaboliche nelle colture primarie di astrociti Wr, ha suggerito un possibile ruolo primario degli astrociti nel processo di degenerazione motoneuronale, piuttosto che una risposta non-specifica a tale degenerazione. Mi è parsa, quindi, di particolare interesse l'analisi delle caratteristiche morfologiche e metaboliche degli astrociti ottenuti dal differenziamento di ANSCs/ANPCs Wr.

In particolare, ho valutato:

- 1) Le caratteristiche morfologiche e immunocitochimiche
- 2) La risposta all'endotossina batterica LPS
- 3) La capacità di supportare la sopravvivenza motoneuronale
- 4) Lo stato di energizzazione mitocondriale