

Uloga mikroglia i astrocita u stvaranju glijalnog ožiljka

Pandžić, Paula

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka / Sveučilište u Rijeci**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:193:835170>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-05**

Repository / Repozitorij:

BIotech

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Biotechnology and Drug Development - BIOTECHRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI

FAKULTET BIOTEHNOLOGIJE I RAZVOJA LIJEKOVA

Preddiplomski sveučilišni studij

„Biotehnologija i istraživanje lijekova“

Paula Pandžić

Uloga mikroglija i astrocita u stvaranju glijalnog ožiljka

Završni rad

Rijeka, 2024.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
FAKULTET BIOTEHNOLOGIJE I RAZVOJA LIJEKOVA
Preddiplomski sveučilišni studij
„Biotehnologija i istraživanje lijekova“

Paula Pandžić

Uloga mikroglija i astrocita u stvaranju glijalnog ožiljka

Završni rad

Rijeka, 2024.

UNIVERSITY OF RIJEKA

FACULTY OF BIOTECHNOLOGY AND DRUG DEVELOPMENT

University undergraduate programme

„Biotechnology and drug research“

Paula Pandžić

The role of microglia and astrocytes in glial scar formation

Undergraduate thesis

Rijeka, 2024.

Mentorica: izv. prof. dr. sc. Jelena Ban

Završni rad obranjen je dana 19. rujna 2024. pred
povjerenstvom:

1. doc. dr. sc. Ivan Gudelj
2. izv. prof. dr. sc. Nicholas Bradshaw
3. izv. prof. dr. sc. Jelena Ban

Rad ima 40 stranica, 13 slika i 50 literaturnih navoda.

SAŽETAK

Središnji živčani sustav (SŽS) vrlo je osjetljiv na upalne procese, ozljede i traume. Obzirom da mu je regeneracija ograničena, ovaj je sustav razvio jedinstven odgovor na ozljedu, a čiji je temelj glijalni ožiljak. Glijalni ožiljak, kao heterogena struktura, građen je od više vrsta stanica, od kojih se ističu mikroglia i astrociti. Svojim specifičnim karakteristikama, ove stanice u zdravom SŽS-u održavaju homeostazu, dok u slučaju ozljede predvode njezinu ponovnu uspostavu. Mikroglia, smještena u samom parenhimu, glavni je imunosni čuvar ovog sustava, koji brojnim površinskim receptorima prepoznaje i najmanje promjene te brzo pokreće upalni odgovor. Specifični ameboidni oblik omogućuje joj obavljanje fagocitoze, ključne za održavanje ravnoteže SŽS-a. Astrociti, kao heterogene stanice obavljaju niz funkcija poput održavanja ionske homeostaze i krvnomoždane barijere (KMB), izgradnje neuronskih mreža, oblikovanja sinapsi te regulacije neurotransmitera. U slučaju ozljede SŽS-a, mikroglia i astrociti prolaze kroz niz morfoloških i funkcionalnih promjena koje rezultiraju formiranjem guste mreže astrocita oko lezije, kao i pojačanim mikroglialnim uklanjanjem staničnog otpada. Dinamična komunikacija mikroglia i astrocita temelj je stabilnog i funkcionalnog ožiljka koji ograničava širenje upale i potiče regenerativni proces. Iako je glijalni ožiljak nužan za zaštitu zdravog tkiva, neke njegove komponente, poput kondroitin sulfat proteoglikana (CSPG) i kolagena I onemogućuju rast aksona i otežavaju oporavak SŽS-a. Otežana regeneracija pridonosi razvoju neurodegenerativnih bolesti, stoga je za razvoj novih terapija nužno razumjeti proces nastanka glijalnog ožiljka, s naglaskom na interakciju mikroglia i astrocita.

Ključne riječi: astrociti, glijalni ožiljak, mikroglia, ozljeda SŽS-a

ABSTRACT

The central nervous system (CNS) is highly sensitive to inflammatory processes, injuries, and trauma. Given its limited regenerative capacity, the CNS has developed a unique response to injury, whose major part is formation of a glial scar. The glial scar, a heterogeneous structure, contains multiple cell types, with microglia and astrocytes being particularly important. With their specific characteristics, these cells maintain homeostasis in a healthy CNS, while in case of injury they promote its recovery, which is limited. Microglia, located within the parenchyma, represent the primary immune guardians of this system. They detect the smallest changes through numerous surface receptors, quickly initiating an inflammatory response. Their specific amoeboid shape allows them to perform phagocytosis, which is crucial for maintaining CNS balance. Astrocytes, as heterogeneous cells, perform a variety of functions, including ionic homeostasis and the blood-brain barrier (BBB) maintenance, neural networks build up, synapses shaping, and neurotransmitters regulation. In the case of CNS injury, microglia and astrocytes undergo a series of morphological and functional changes, resulting in the formation of a dense astrocytic network around the lesion, as well as enhanced removal of cellular waste by microglia. The dynamic communication between microglia and astrocytes is fundamental to create a stable and functional scar that limits the spread of inflammation and promotes the regenerative process. Although the glial scar is essential for protecting healthy tissue, certain components, such as chondroitin sulfate proteoglycans (CSPGs) and collagen I, inhibit axonal growth and obstruct CNS recovery. Limited regeneration contributes to the development of neurodegenerative diseases; therefore, understanding the process of glial scar formation, with a focus on microglia-astrocyte interaction, is crucial for developing new therapies.

Key words: astrocytes, glial scar, microglia, CNS injury.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. MIKROGLIJA: OSNOVNA OBILJEŽJA	3
2.1. RAZVOJ I FUNKCIJE MIKROGLIJE	5
2.2. REPOPULACIJA MIKROGLIJA	7
2.3. OGRANIČENA REPOPULACIJA MIKROGLIJA	9
2.4. AKTIVACIJA MIKROGLIJE	10
3. ASTROCITI: OSNOVNA OBILJEŽJA	14
3.1. FUNKCIJE ASTROCITA	15
3.2. REAKTIVNOST ASTROCITA	19
4. STVARANJE GLIJALNOG OŽILJKA	21
5. ULOGA MIKROGLIJA U STVARANJU OŽILJKA	24
6. ULOGA ASTROCITA U STVARANJU OŽILJKA	26
7. INTERAKCIJA MIKROGLIJA I ASTROCITA	30
8. DVOSTRUKA ULOGA OŽILJKA	32
9. ZAKLJUČAK	34
10. LITERATURA	35

1. UVOD

Središnji živčani sustav (SŽS) izuzetno je kompleksan i specifičan dio ljudskog organizma. Obzirom na njegove jedinstvene karakteristike, regeneracija mu je ograničena, a procesi zacjeljivanja se znatno razlikuju od onih u drugim dijelovima tijela. U perifernim tkivima glavne stanice odgovorne za stvaranje ožiljka su fibroblasti, dok u SŽS-u tu ulogu preuzimaju glijalne stanice, ponajviše mikroglia i astrociti. Ove stanice, koje su se dugo vremena smatrale uglavnom pasivnim sudionicima u vitalnim funkcijama SŽS-a, pokazale su aktivnu ulogu u njegovoj obrani i regeneraciji. [1]

Mikroglia, kao jedine rezidentne imunosne stanice SŽS-a, prva su linija obrane koja modulira upalnu reakciju kao odgovor na ozljedu. [2, 3] Kontinuirano analiziranje prostora koji ih okružuje omogućuje ovim stanicama brzu reakciju, čak i na najmanje promjene u okolišu. Prepoznavanje prijetnji pomoću mnoštva receptora izraženih na površini, poput Toll-like receptora (TLR) i NOD-like receptora (NLR), dovodi do otpuštanja signala koji potiču mikroglialnu aktivaciju. Aktivirana mikroglia luči velik broj proupalnih medijatora, koji doprinose pojačavanju upalnog odgovora, regrutaciji drugih imunosnih stanica na mjesto ozljede te fagocitozi staničnih ostataka. [4]

Stanice koje su također aktivirane mikroglialnim proupalnim medijatorima su astrociti, glavne stanice zadužene za održavanje homeostaze SŽS-a. Svoj status opravdavaju nizom funkcija koje obavljaju kako bi ravnoteža sustava bila održana, poput poticanja vaskularizacije i oporavka krvnomoždane barijere (KMB), zaštite neurona od ekscitotoksičnosti te stvaranja fizičke barijere koja ograničava daljnje širenje ozljede. [5, 6, 7] Odgovor astrocita na povredu SŽS-a, rezultat je niza procesa koji se zajedno nazivaju reaktivna astroglioza. Reaktivna astroglioza podrazumijeva hipertrofiju, povećanu ekspresiju glijalnog fibrilarnog kiselog proteina (engl. glial fibrillary acidic protein, GFAP) te pojačano lučenje

molekula izvanstaničnog matriksa (engl. extracellular matrix, ECM), poput kondroitin sulfat proteoglikana (CSPG). [7, 8]

Aktivna komunikacija mikroglia i astrocita ključna je za pravilno formiranje i stabilnost glijalnog ožiljka. Međusobnom regulacijom, ove stanice održavaju ravnotežu između proupalnih i protuupalnih signala, osiguravajući povoljne uvjete za regeneraciju. [9] Premda su ove interakcije primarno zaštitne prirode, nedostatak njihove regulacije dovodi do nekontrolirane upale i sekundarnih oštećenja koji dodatno kompliciraju te istovremeno onemogućavaju oporavak SŽS-a.

SVRHA RADA

Proces formiranja glijalnog ožiljka prilično je kompleksan i zahtjevan, stoga je ovaj pregledni rad usmjeren na samo jedan njegov dio, a to je doprinos mikroglia i astrocita njegovom stvaranju. Svrha rada je obuhvatiti najvažnije uloge koje mikroglia i astrociti obavljaju te ih staviti u kontekst ozljede SŽS-a, gdje njihova aktivnost postaje nužna za formiranje ožiljka. Osim toga, naglašava se važnost razumijevanja međusobne interakcije mikroglia i astrocita za razvoj novih terapija kojima je cilj potaknuti oporavak SŽS-a nakon ozljede te se ukazuje na neke od uzroka dvostruke prirode glijalnog ožiljka.

2. MIKROGLIJA: OSNOVNA OBILJEŽJA

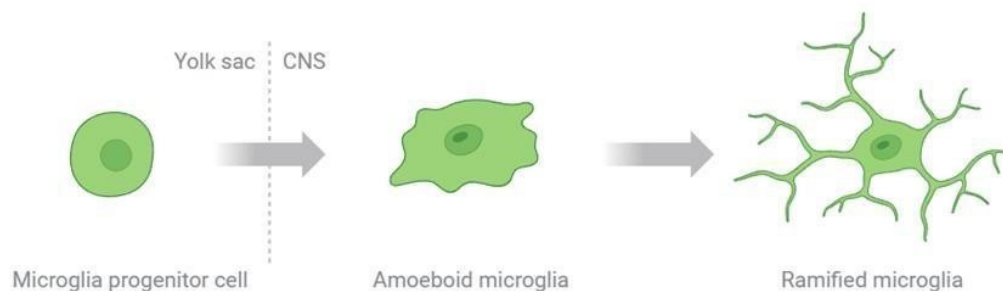
Mikroglia su stanice smještene u parenhimu SŽS-a te su kao tkivni makrofagi važan dio njegove imunosti. Obzirom da se nalaze u samom tkivu, predstavljaju jedine imunosne stanice koje neprekidno nadziru okoliš SŽS-a, što ih ujedno čini prvom linijom njegove obrane od patogena. Osim uloge u imunosnoj obrani, mikroglie aktivno sudjeluju i u održavanju homeostaze SŽS-a. [2, 3]

Zbog specifičnog podrijetla, koje je vezano za hematopoetske progenitore žumanjčane vrećice, mikroglia se može zamijetiti već u vrlo ranoj fazi embrionalnog razvoja. U 12. – 13. gestacijskom tjednu progenitori mikroglie iz žumanjčane vrećice migriraju krvožilnim sustavom u moždani parenhim, zatim proliferiraju te kroz svoj razvojni proces stječu jedinstveni genetički biljeg koji ih razlikuje od ostalih tkivnih makrofaga.

Mikroglialni progenitori ameboidnog su oblika kojeg karakterizira veliko, okruglo tijelo i kratki izdanci. Takav oblik omogućuje visoku pokretljivost ovih stanica, čime se olakšava njihova migracija. Također, ameboidni oblik pogodan je za fagocitozu koju vrše ove stanice, a koja je iznimno važna za održavanje ravnoteže i za pravilan razvoj SŽS-a. Fagocitoza uključuje uklanjanje mrtvih stanica, patogena te staničnih ostataka, čime se sprječava nakupljanje staničnog otpada koji može izazvati upalu. Osim procesa fagocitoze, održavanju ravnoteže SŽS-a pridonosi sinaptičko obrezivanje, kao i uklanjanje toksičnih tvari. [2]

Zahvaljujući prilagodljivosti ameboidnog oblika, mijenjanje morfologije mikroglia tijekom razvoja uvelike je olakšano. Kako se razvija, mikroglia poprima razgranatu morfologiju – malo tijelo sa brojnim izduženim izdancima, koja im omogućuje neprestano skeniranje područja koje ih okružuje (Slika 1). Nakon završenog razvoja, daljnje mijenjanje morfologije ovisi o podražajima iz okoliša koji ih okružuje.

Morfološke promjene izuzetno su važne za mikrogliju jer odražavaju nove funkcijske zahtjeve s kojima se ove stanice susreću kroz razvoj. Svojom sposobnošću migracije i dinamičnim promjenama morfolgije, mikroglije se razlikuju od ostalih stanica SŽS-a. Dok mikroglije aktivno migriraju, prvo tijekom razvoja kako bi kolonizirale parenhim, a zatim i u odrasloj dobi kako bi ga štatile od oštećenja, astrociti i oligodendrociti uglavnom su stacionarne stanice.



Slika 1 – Promjena morfologije mikroglija tijekom razvoja. Stvoreno pomoću BioRender.com

Mikroglia su stanice koje se ističu po svojoj dugovječnosti u usporedbi s drugim tkivnim makrofagima. Drugi se tkivni makrofagi redovito zamjenjuju cirkulirajućim monocitima, dok to sa mikroglijom nije slučaj. [3]

Mikroglia naseljava SŽS prije potpune formacije KMB-a. Nakon što se formira, KMB ograničava propusnost stanica periferne krvi do SŽS-a, stoga je, sama zamjena mikroglia s ovim stanicama uvelike otežana. Mikroglije su to ograničenje nadvladale sposobnošću samoobnove, koja se temelji na balansiranoj lokalnoj proliferaciji i apoptozi rezidentnih mikroglia. Taj balans održava stabilan broj mikroglia, što je iznimno važno za održavanje homeostaze SŽS-a.

Istraživanje Askew K. i suradnika [10] je pokazalo da je održavanje populacije mikroglia aktivni proces koji se u zdravom SŽS-u zasniva prvenstveno na njihovoj samoobnovi, a ne na zamjeni cirkulirajućim monocitima.

Dakle, mikroglije su se prilagodile izazovnom okruženju SŽS-a svojim jedinstvenim podrijetlom, sposobnošću samoobnove i brzom prilagodbom

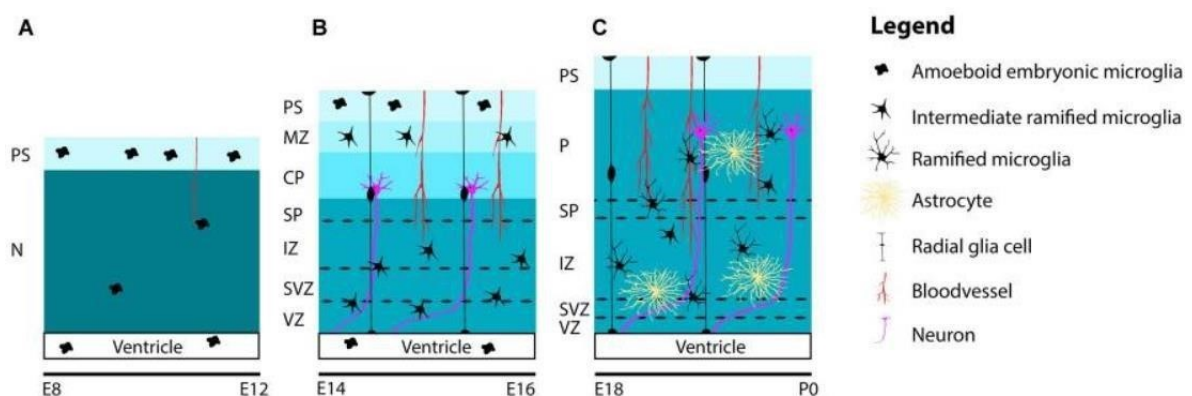
na nove uvjete. Ovakve karakteristike omogućuju im autonomiju i neovisnost o perifernim stanicama.

2.1. RAZVOJ I FUNKCIJE MIKROGLIJE

Funkcije mikroglia su mnogobrojne. Njihova im razgranata morfologija omogućuje neprestano analiziranje područja koje ih okružuje te komunikaciju s neuronima, astrocitima, oligodendrocitima i krvnim žilama. Zbog tih brojnih komunikacija koje ostvaruju, ove stanice imaju značajnu ulogu u regulaciji mnogih procesa koji se odvijaju u SŽS-u.

Poznato je da mikroglia vrlo rano naseljava područje mozga, što joj omogućuje da sudjeluje u razvojnim procesima SŽS-a, poput neurogeneze, programirane stanične smrti, preoblikovanja sinapsi te oblikovanja neuronskih mreža. [10]

Embrionalna je mikroglia, za razliku od one u odraslom mozgu, nejednoliko raspoređena, tj. koncentrirana je u nekoliko specifičnih područja mozga: prvenstveno se nalazi u ventrikularnoj i subventrikularnoj zoni mozga. (Slika 2). [11]



Slika 2 – Raspoređenost mikroglia u embrionalnom mišjem mozgu. [11]

Ta činjenica ne čudi obzirom da su to područja intenzivne neurogeneze koju mikroglia nadgleda i omogućuje njezino pravilno odvijanje. U provedenoj studiji Cunningham C. L. i suradnika [12] uočeno je kako mikroglia

procesom fagocitoze smanjuje, tj. regulira brojnost neuronskih prekursorskih stanica (engl. neural precursor cell, NPC) tijekom neurogeneze. Takva je regulacija potrebna kako bi broj novonastalih neurona odgovarao potrebama mozga te kako bi se neuronska mreža pravilno oblikovala.

Prema istraživanju Sierra A. i suradnika [13], mikroglia regulira neurogenezu ne samo tijekom embrionalnog razvoja, već i u odrasloj dobi.

Prisutnost mikroglia u području hipokampusa također pridonosi uklanjanju nezrelih, apoptotičkih neurona bez izazivanja upalnih reakcija. [14] Na taj se način osigurava povoljno okruženje za daljnji razvoj neuronske mreže.

Važno je napomenuti da, iako mikroglia provodi aktivnu fagocitozu oštećenih neurona i neurona koji su prepoznati kao višak, ona također pruža potporu i potiče preživljenje preostalih neurona tako što oslobađa inzulinu sličan faktor rasta 1 (engl. insulin-like growth factor 1, IGF-1).

Pokazalo se da IGF-1 potiče i diferencijaciju multipotentnih neuronskih progenitorskih stanica u oligodendrocite te da štiti nezrele oligodendrocite od apoptoze posredovane glutamatom. Osim IGF-1, mikroglia luči i druge trofičke čimbenike koji pridonose normalnom razvoju neurona, primjerice faktor rasta fibroblasta i faktor rasta hepatocita. [15]

Uz to što utječe na neurone, mikroglia aktivno sudjeluje i u preoblikovanju sinapsi. Tijekom razvoja mozga, mikroglia provodi proces sinaptičkog obrezivanja (engl. „synaptic pruning“) koji podrazumijeva eliminaciju sinapsi koje su nepravilno formirane, oštećene ili jednostavno suvišne. [15, 16] Tim se procesom jačaju preostale sinapse te uklanjaju onih slabije aktivne, čime se osigurava plastičnost mozga, tj. njegova sposobnost prilagodbe okolini i novim iskustvima.

Jedan od glavnih mehanizama oblikovanja sinapsi je fagocitoza. Ona uključuje potpuno uklanjanje sinapsi koje je ključno tijekom ranog razvoja mozga kako bi se neuronska mreža mogla pravilno formirati, a značajnu

ulogu ima i u održavanju sinaptičke homeostaze u odrasloj dobi. [16] Drugi važan mehanizam je trogocitoza, proces kojim mikroglia selektivno uklanja dijelove sinapsi, omogućujući njihovo preoblikovanje bez potpunog uklanjanja [16].

Regulacija imunskog odgovora još je jedna važna funkcija mikroglia. Budući da neprestano analiziraju okolinu, i u slučaju nepravilnosti se aktiviraju i pokreću imunski odgovor, ove se stanice smatraju prvom linijom obrane SŽS-a.

Mikroglia je neizostavan dio stvaranja i održavanja funkcionalne neuronske mreže, kao i imunskog obrane te održavanja homeostaze cijelog SŽS-a. Ove funkcije mikroglie međusobno se nadopunjuju i zajedno doprinose normalnom razvoju SŽS-a.

2.2. REPOPULACIJA MIKROGLIJA

Unatoč tome što su mikroglia dugoživuće stanice koje imaju sposobnost brze lokalne samoobnove, obilne zamijene cijele populacije u zdravom SŽSu nisu im svojstvene. Međutim, u slučaju većeg gubitka uzrokovanog, bilo starenjem, delecijom ili ozljedom, dolazi do tzv. repopulacije. [15] Repopulacija predstavlja proces obnavljanja mikroglialne populacije kako bi se nadomjestio gubitak te kako se ne bi narušila homeostaza SŽS-a.

Različite studije predlažu nekoliko teorija o načinu repopulacije, iako je točno porijeklo novonastalih stanica i dalje predmet rasprave.

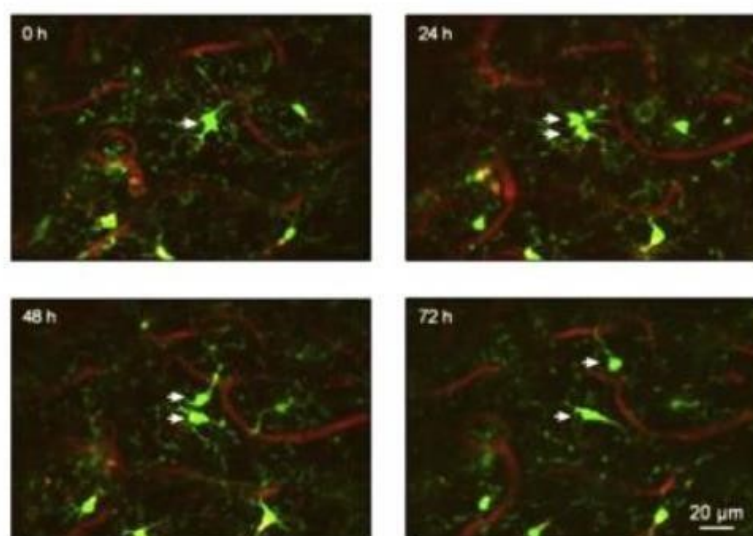
Ranija istraživanja sugeriraju kako do repopulacije dolazi uslijed infiltracije cirkulirajućih monocita u SŽS te njihove diferencijacije u makrofage. Doista, postoji mogućnost prolaska navedenih stanica kroz KMB uslijed njezinog oštećenja, no takva infiltracija je uvelike ograničena i rezultira nastankom stanica koji funkcionalno nisu jednake mikrogliji, stoga ne može predstavljati glavni mehanizam repopulacije.

Studije poput onih koje su proveli Huang i suradnici [17] te Bruttger i suradnici [18] ukazuju na manjkavosti ranijih istraživanja i zastupaju brzu i masovnu lokalnu proliferaciju postojećih mikroglija kao glavni mehanizam obnove.

U slučaju drastičnog smanjenja broja mikroglija, postoje indikacije da bi repopulaciji mogla doprinijeti i diferencijacija prekursorskih stanica, unatoč tome što bi taj doprinos bio malen u odnosu na onaj koji se postiže proliferacijom postojeće mikroglije. [19]

Prema podacima koji su trenutno dostupni da se zaključiti kako je proliferacija (Slika 3) postojećih mikroglija primarni i najučinkovitiji način obnove populacije mikroglija, dok se u pojedinim istraživanjima raspravlja o nestin-pozitivnim stanicama kao prekursorskim stanicama za regeneraciju mikroglije. [12] Međutim, treba naglasiti da je zasad samo riječ o hipotezama te da su potrebna dodatna istraživanja kako bi se potvrdilo postojanje prekursorskih stanica.

Važno je napomenuti da se, neovisno o izvoru, repopularizirana mikroglija razlikuje od rezidentne mikroglije nastale iz žumanjčane vrećice. Dakle, iako je repopularizirana mikroglija pokazala funkcionalnu sličnost rezidentnoj [19], genetički biljezi karakteristični za rezidentnu mikrogliju nisu prisutni.



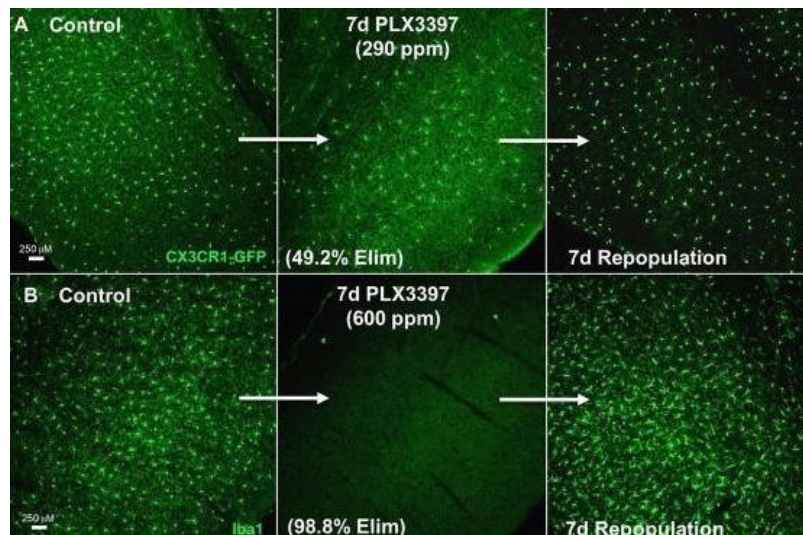
Slika 3 – Proliferacija mikroglije u mozgu miša nakon 0, 24, 48 i 72 sata. Strelice ukazuju na proliferirajuću mikroglijalnu stanicu i njezino potomstvo. [10]

Proces repopulacije mikroglije temelji se na samoobnovi ovih stanica, što ga čini iznimno specifičnim i drugačijim od procesa kojima se druge stanice SŽS-a nadomještaju. Neuronu su, prije svega, ograničeni svojim postmitotičkim stanjem jer nakon diferencijacije u odraslom mozgu gube sposobnost dijeljenja i stvaranja novih stanica. Ta svojstva ključna su za njihovu prilagodbu na specifične funkcije koje obavljaju, ali također ograničavaju njihovu regenerativnu sposobnost. [20] Osim toga, neuroni se povezuju kompleksnom mrežom sinapsi, čija rekonstrukcija nakon oštećenja dodatno otežava cijeli proces regeneracije. Važno je naglasiti i da, unatoč činjenici da astrociti i oligodendrociti proliferiraju kako bi nadomjestili gubitak, taj je opseg proliferacije znatno manji nego kod mikroglije.

2.3. OGRANIČENA REPOPULACIJA MIKROGLIJA

Repopulacija mikroglija važan je proces obnove mikroglijalne populacije, međutim postoje studije koje ukazuju na njezina ograničenja.

Najafi i suradnici [21] proveli su istraživanje u kojemu su proučavali sposobnost repopulacije mikroglije odraslog mozga nakon deplecije inhibitorom tzv. receptorom 1 faktora stimulacije kolonija (engl. colonystimulating factor-1 receptor, CSF1R). CSF1R izrazito je važan mikroglijalni receptor, čija je signalizacija nužna za njihovo preživljenje, diferencijaciju te proliferaciju. Njegova dugoročna inhibicija rezultira eliminacijom gotovo 99% mikroglija. Nakon uklanjanja inhibitora, praćena je stope repopulacije te je uočeno kako ona ovisi o samom opsegu iscrpljivanja, pa je tako, u slučaju većeg iscrpljivanja, repopulacija bila brža i obilnija (Slika 4).



Slika 4 – Brzina i obujam repopulacije ovise o opsegu iscrpljivanja. Prikaz kortikalnih regija miša prije, tijekom i nakon iscrpljivanja mikroglije sa dvije različite doze inhibitora PLX3397 tijekom 7 dana. [21]

Rezultati istraživanja sugeriraju kako postoji mogućnost vraćanja brojnosti populacije na onu prije deplecije. No, važno je istaknuti kako novonastale stanice nisu identične mikrogliji zahvaćenoj deplecijom.

Primjerice, mijeloidne stanice koje infiltriraju u mozak mogu se diferencirati u stanice slične mikrogliji i nadomjestiti brojčani gubitak, međutim ne mogu u potpunosti funkcionalno zamijeniti izgubljeni dio populacije.

Dakle, iako se broj stanica može vratiti u početno stanje, novonastale stanice ipak se razlikuju od rezidentne mikroglije, kako u fenotipskim, tako i u funkcionalnim karakteristikama. Unatoč ovim razlikama, repopulacija je iznimno bitna kako bi osigurala nastanak stanica koje će barem djelomično preuzeti funkcije rezidentne mikroglije kako bi se uspješno održavala homeostaza SŽS-a.

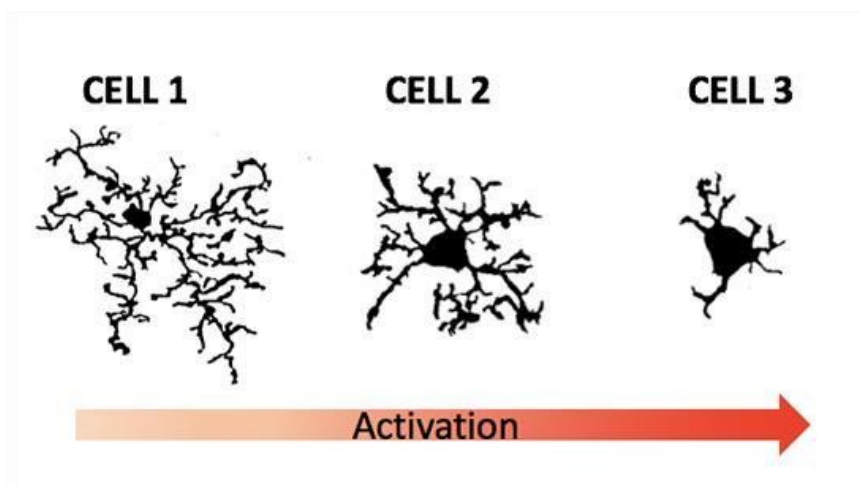
2.4. AKTIVACIJA MIKROGLIJE

Zahvaljujući razgranatoj morfologiji, mikroglije su vrlo dinamične stanice koje neprestano ispituju okolinu i održavaju balans SŽS-a. Tako da, kada

govorimo o aktivaciji ovih stanica, zapravo govorimo o promijeni njihove morfologije koja je usko povezana s funkcijom koju obavljaju.

Do aktivacije mikroglije dolazi kada mikroglijalni TLR stanični receptori prepoznaju molekularne obrasce povezane s patogenima (engl. pathogen-associated molecular pattern molecules, PAMP) ili molekularne obrasce povezane s oštećenjem (engl. damage-associated molecular patterns, DAMP). Tada mikroglija ponovno poprima ameboidni oblik – izdanci postaju kraći i deblji, a tijelo stanice se povećava kako bi se pripremila za fagocitozu (Slika 5). Takve morfološke promjene omogućuju mikroglijama brže kretanje prema mjestu ozljede ili upale, te učinkovitije uklanjanje patogena, mrtvih stanica ili njihovih ostataka.

Obzirom da nezrele i reaktivne (aktivirane) mikroglije dijele ameboidnu morfologiju, važno je istaknuti kako ipak postoje razlike u njihovoj ulozi. Nezrela mikroglija primarno koristi fagocitozu kako bi obavljala ulogu „čistača“ SŽS-a te je uglavnom prisutna tijekom razvoja mozga. S druge strane, reaktivna mikroglija sudjeluje u odgovoru na upalu otpuštanjem proinflammatornih molekula te uklanja patogene svojom fagocitnom aktivnošću. Također, reaktivna mikroglija ima sposobnost prezentacije antigena, čime pridonosi aktivaciji T-stanica i pokretanju imunskog odgovora, što za nezrelu mikrogliju nije svojstveno. [22]



Slika 5 – Promjena morfologije mikroglija tijekom aktivacije. Mikroglija iz visoko razgranatog oblika prelazi u ameboidni. [23]

Ovisno o podražaju, može doći do aktivacije proupalne ili protuupalne mikroglije. U slučaju klasične aktivacije koja je posredovana lipopolisaharidima (engl. lipopolysaccharides, LPS), interferonom γ (IFN- γ) ili faktorom stimulacije kolonija granulocita i makrofaga (engl. granulocytemacrophage colony-stimulating factor, GM-CSF), mikroglija poprima M1 proupalni fenotip.

Vežanje LPS na TLR4 na površini mikroglije dovodi do aktivacije niza signalnih puteva poput nuklearnog faktora kapa B (engl. nuclear factor kapa B, NF- κ B), transduktora signala i aktivatora transkripcije 5 (engl. signal transducer and activator of transcription 5, STAT5) i interferonregulatornih faktora (engl. interferon regulatory factors, IRF). Navedeni signalni putevi uzrokuju transkripcijske promjene u jezgri i tako potiču ekspresiju gena povezanih sa proizvodnjom i otpuštanjem proupalnih citokina i kemokina. [4]

IFN- γ koristi Janus kinaza/transduktor signala i aktivator transkripcije (engl. Janus kinase/Signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT) signalni put za poticanje M1 fenotipa. Vežanje IFN- γ za IFN- γ receptore 1 i 2 (IFN- γ R1/2) rezultira aktivacijom Janus kinaza 1 i 2 (engl. Janus kinase, JAK1, JAK2). Tako aktivirani JAK-ovi fosforiliraju STAT1, koji se zatim translocira u jezgru, gdje inducira ekspresiju gena nužnih za izražavanje M1 fenotipa. [4] Pokazalo se da GM-CSF također inducira ekspresiju proupalnih citokina. [24]

Aktivacija NF- κ B, STAT1, STAT5 te i IRF-ova dovodi do transkripcijski promjena u jezgri koje se očituju izražavanjem novih markera na površini stanice (CD86, CD16/32, MHC-II) i otpuštanjem velikog broja proupalnih molekula poput citokina TNF- α , IL-1 β , IL-6 te kemokina CCL2. Otpušteni citokini i kemokini imaju važnu ulogu u regrutiranju ostalih imunoloških stanica i stimulaciji astrocita. Također, ovakvom se aktivacijom potiče stvaranje reaktivnih vrsta kisika (engl. reactive oxygen species, ROS),

reaktivnih vrsta dušika te prostaglandina E2. Djelovanje ovih molekula uzrokuje neurotoksičnost. [4]

Ukoliko se mikroglia aktivira alternativnim putem, tj. pomoću IL-4, IL-40 ili IgG, onda poprima M2 protuupalni fenotip koji djeluje neuroprotektivno. Ovakav fenotip potiče oslobađanje molekula poput poput IL-10, IL-4 i TGFβ. [4, 14]

Ova dva fenotipa mikroglie u dinamičnom su odnosu i ovisno o podražaju, moguć je prelazak iz jednog fenotipa u drugi. Primjerice, M1 mikroglia se prva aktivira kao odgovor na ozljedu ili infekciju i zadatak joj je uništiti prodiruće patogene. U tom procesu, uslijed oslobađanja proupalnih molekula, može doći do oštećenja neurona. Nakon aktivacije M1 fenotipa, M2 mikroglia potiče smanjenje upale, zacjeljivanje te ponovnu uspostavu homeostaze. Uz sve to, M2 potiče i oslobađanje neurotrofnih faktora poput IGF-1, koji je neophodan za razvoj i zaštitu neurona. [25] Održavanje ove ravnoteže od iznimne je važnosti za SŽS i njezino narušavanje dovodi do ozbiljnih posljedica.

Dugotrajna aktivnost M1 mikroglie može rezultirati kroničnom upalom koja, posljedično, može izazvati trajno oštećenje neurona i pridonijeti razvoju neurodegenerativnih bolesti poput Alzheimerove i Parkinsonove bolesti. [25]

Stoga, novi su načini liječenja ovih bolesti usmjereni na poticanje M2 fenotipa, za koji je utvrđeno da potiče regenerativne procese poput neurogeneze, aksonalnog preoblikovanja, angiogeneze te mijelinizacije. [26] Cilj takvog pristupa je smanjenje upale, oporavak sustava te ponovno uspostavljanje ravnoteže između upalnih i protuupalnih procesa.

Iako, treba napomenuti kako je takav pristup liječenju tek u povojima te da pretjerano poticanje M2 fenotipa također može dovesti do neželjenih posljedica. [25] Shodno tome, da se zaključiti kako odlazak u krajnosti ne pogoduje SŽSu, te da on, kao i svaki drugi sustav teži stanju ravnoteže.

3. ASTROCITI: OSNOVNA OBILJEŽJA

Astrociti su heterogene stanice koje zajedno sa ependimalnim stanicama i oligodendrocitima čine makrogliju SŽS-a. Izrazita raznolikost ovih stanica očituje se u njihovoj morfologiji, molekularnim obilježjima i funkcijama koje obavljaju. Njihova kompleksnost dodatno je naglašena samim procesom njihovog razvoja.

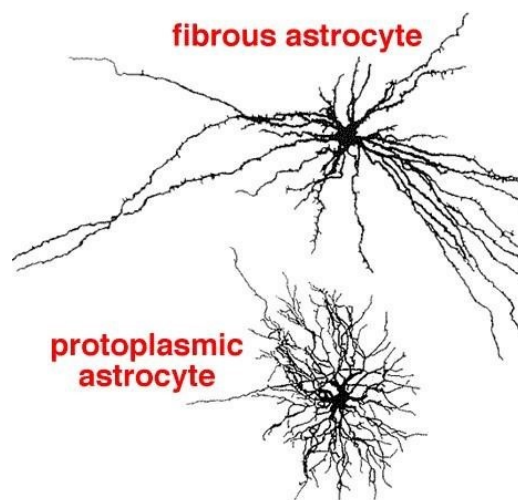
Neuralne matične stanice (engl. neural stem cell, NSC) imaju ključnu ulogu u razvoju različitih tipova stanica SŽS-a, poput neurona, oligodendrocita, pa tako i astrocita. [27] NSC se u ranom razvoju masovno dijele kako bi se osigurao što veći broj matičnih stanica za daljnji razvoj. Nakon što se epitel mozga zgusne, većina neuroepitelijalnih stanica postaju radijalne glijalne (RG) stanice [27]. RG stanice djeluju kao matične stanice koje diferenciraju u neurone i glijalne stanice te imaju važnu ulogu i u usmjeravanju migracije novonastalih neurona tijekom razvoja mozga. [27] Ovisno o području gdje se nalaze i periodu razvoja, RG stanice generiraju različite tipove neurona i astrocita. Dakle, područje i vremenski okvir nastanka astrocita, na svojevrsan način, određuje njihove karakteristike, a samim time i njihovu ulogu.

Kada govorimo o vremenskom slijedu, neurogeneza započinje već u ranim fazama embrionalnog, i nastavlja se i u postnatalnom razvoju, dok se astrociti počinju formirati tek kasnije, pri samom kraju neurogeneze. Razvoj astrocita započinje oko 16. gestacijskog tjedna te se, također, nastavlja i kroz postnatalni razvoj. Štoviše, gotovo polovina astrocita nastaje postnatalno putem lokalne proliferacije. [28] Astrociti koji nastaju ranije u embrionalnom razvoju pridonose oblikovanju neuronske mreže, dok kasnije nastali astrociti sudjeluju u održavanju homeostaze i odgovorima na ozljede.

Morfološki razlikujemo dva glavna tipa astrocita, vlaknaste i protoplazmatske (Slika 6). Vlaknasti astrociti prisutni su u bijeloj tvari i

karakterizira ih izduženo tijelo sa dugim, tankim i slabo razgranatim izdancima. Nasuprot tome, protoplazmatski su astrociti raspoređeni u sivoj tvari i imaju okruglo tijelo sa debelim i kratkim, ali izrazito razgranatim izdancima. [29]

Različita morfologija i položaj ovih astrocita sugeriraju razliku u njihovim funkcijama. Ovisno o području mozga u kojemu se nalaze, funkcije astrocita se razlikuju i prilagođavaju procesima koji su specifični za određeno područje. Morfološka i funkcionalna klasifikacija astrocita ljudskog mozga se pokazala još složenija i još uvijek se otkrivaju nove podvrste.



Slika 6 – Različita morfologija protoplazmatskog i vlaknastog astrocita. [30]

3.1. FUNKCIJE ASTROCITA

Funkcije ovih stanica doista su brojne, a uključuju održavanje ionske homeostaze, doprinos sinaptičkoj plastičnosti, izgradnju neuronskih mreža, sudjelovanje u oblikovanju sinapsi, uklanjanju otpada te regulaciji neurotransmitera. [5]

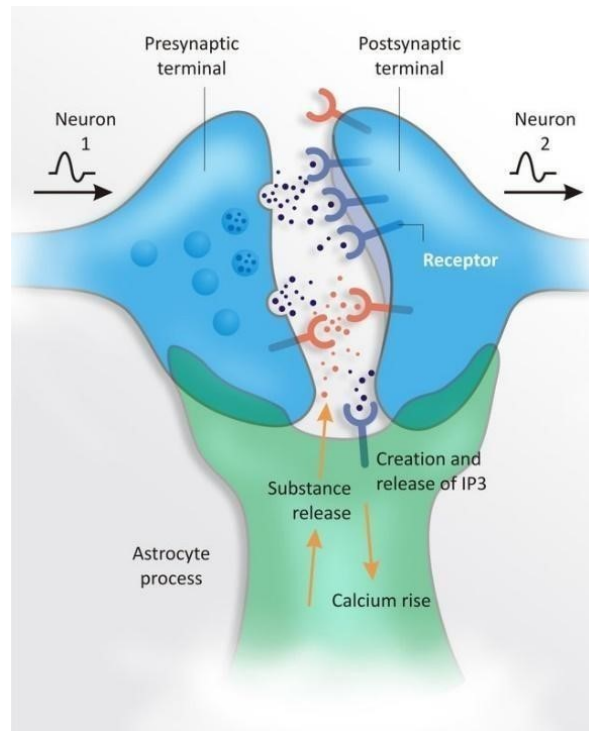
Siva tvar mozga mjesto je obrade informacija koje se prenose putem sinapsi, ključnih struktura za komunikaciju neurona i održavanje funkcionalnih neuronskih mreža, stoga je morfologija protoplazmatskih astrocita prilagođena upravo tom zadatku. Drugim riječima, svojim

razgranatim izdancima jedan astrocit može ostvariti kontakt sa gotovo dva milijuna sinapsi. [31]

Astrocitna povezanost sa sinapsama opisuje se konceptom tripartitne sinapse. Tripartitna sinapsa sastoji se od tri komponente: presinaptičkog i postsinaptičkog neurona te perifernim izdancima astrocita (Slika 7). Uz već poznat princip oslobađanja neurotransmitera u sinaptičku pukotinu od strane presinaptičkog neurona, a zatim vezanje tih neurotransmitera na membrani postsinaptičkog neurona, otkriveno je da i astrociti imaju aktivnu ulogu u ovoj interakciji.

Zahvaljujući ovakvoj strukturi, astrociti mogu pratiti sinaptičku aktivnost te ovisno o tome regulirati oslobađanje neurotransmitera, kao i gliotransmitera poput glutamata, ATP-a, GABA i D-serina. Oslobađanje neurotransmitera iz neurona dovodi do povećanja razine kalcija u astrocitima, koji zatim pojačano luče gliotransmitere, regulirajući tako neuronsku aktivnost. [6] U slučaju prekomjerne koncentracije ovih molekula, astrociti uklanjaju njihov višak iz sinaptičke pukotine, čime održavaju homeostazu nužnu za pravilnu sinaptičku aktivnost. Osim koncentracije neurotransmitera i gliotransmitera, astrociti održavaju optimalnu koncentraciju iona kao što su kalij i kalcij. Regulacijom kalijevih iona održava se stabilan membranski potencijal neurona, a regulacijom kalcijevih iona pridonosi se pravilnoj signalizaciji i neuronskoj komunikaciji. Uz sve to, astrociti opskrbljuju neurone energetskim supstratima te uklanjaju otpadne tvari, kao i izvanstanični ROS, štiteći ih tako od oksidativnog stresa.

Postojanje tripartitne sinapse bacilo je novo svjetlo na shvaćanje neuronske komunikacije. Prije svega, ukazuje na kompleksnu interakciju neurona i astrocita te na izravan utjecaj astrocita na sinaptičku aktivnost. Razumijevanje ove interakcije ključno je za daljnja istraživanja i produbljivanje znanja o komunikaciji unutar SŽS-a.



Slika 7 – Tripartitna sinapsa. [32]

Važno je naglasiti da, osim što potiču stvaranje sinapsi lučenjem trombospondina [6], protoplazmatski astrociti također uklanjaju njihov višak i sudjeluju u sinaptičkom obrezivanju kako bi omogućili formiranje novih, funkcionalnih sinapsi. Astrociti mogu ukloniti višak sinapsi izravno putem fagocitoze ili neizravno, označavanjem sinapsi za eliminaciju mikroglijom. [33] Oba načina eliminacije ovise o samoj aktivnosti sinapsi, što znači da je vjerojatnije da će manje aktivne ili neaktivne sinapse biti uklonjene, dok će one visoko aktivne ostati očuvane. Na taj se način održava plastičnost mozga.

S druge strane, vlaknasti se astrociti nalaze u području bijele tvari, u kojoj su smješteni aksoni okruženi mijelinskim ovojnica, a čija je uloga osigurati komunikaciju i usklađenost različitih dijelova SŽS-a. Dakle, dok protoplazmatski astrociti ostvaruju direktni kontakt sa sinapsama, vlaknasti astrociti komuniciraju sa aksonima i pružaju im potporu pri prijenosu signala. Iako, obzirom na vrstu komunikacije koju ostvaruju, vlaknasti astrociti imaju manje izraženu ulogu u tripartitnoj sinapsi, i dalje obavljaju niz uloga kojima pridonose održavanju normalne funkcije SŽS-a.

Vlaknasti astrociti strukturna su i energetska potpora aksonima. Također, potiču preživljenje, proliferaciju i diferencijaciju zrelih oligodendrocita, glavnih proizvođača mijelina, kako bi osigurali stvaranje mijelinskih ovojnica [34] koje obavijaju aksone i omogućuju brži prijenos signala. Važna uloga vlaknastih astrocita je i regulacija koncentracije glutamata i iona [35] kako bi se održao povoljan okoliš, odnosno optimalni uvjeti za prijenos informacija.

Oba tipa astrocita ostvaruju brojne interakcije sa krvnim žilama te na taj način pridonose regulaciji lokalnog protoka krvi SŽS-a. Obzirom da su istovremeno u kontaktu sa krvnim žilama i sinapsama/aksonima, proizvodnjom i oslobađanjem prostaglandina E, dušikovog oksida i arahidonske kiseline povećavaju ili smanjuju promjer krvnih žila te tako prilagođavaju protok krvi ovisno o neuronskoj aktivnosti. [6] Ovakva povezanost izrazito je funkcionalna jer omogućuje astrocitima preuzimanje glukoze iz krvnih žila, zatim njezino metaboliziranje do laktata te opskrbu neurona energijom nužnom za njihovu aktivnost. Uz sve to, astrociti sudjeluju i u stvaranju i održavanju KMB-e. [6]

Glavnim markerom za identifikaciju astrocita smatra se GFAP. Međutim, važno je napomenuti kako njegova ekspresija nije jednaka u svim astrocitima (postoje i GFAP-negativni astrociti) te da ovakvo bojenje prikazuje samo mali dio njihovog volumena. Općenito, genska ekspresija astrocita uvelike se razlikuje ovisno o tome da li su prisutni u bijeloj ili sivoj tvari, što se povezuje sa njihovom prilagodbom na okolišne zahtjeve. Primjerice, vlaknasti astrociti snažno izražavaju GFAP, dok je kod protoplazmatskih astrocita ekspresija ovog proteina znatno manja. Zbog činjenice da ne možemo GFAP, kao niti neki drugi marker, nazvati univerzalnim za praćenje astrocita, sve se više naglašava potreba za markerom (ili kombinacijom više markera) koji bi omogućili veću specifičnost mjerenja, a time i bolje razumijevanje astrocitnih procesa.

3.2. REAKTIVNOST ASTROCITA

Reaktivna astroglioza skup je procesa koji predstavljaju odgovor astrocita na oštećenja ili povrede SŽS-a. Uključuje molekularnu, morfološku i funkcijsku promjenu astrocita. Promjene koje zahvaćaju astrocite variraju ovisno o kompleksnosti ozljede, a vođene su brojnim signalnim kaskadama. U najkompleksnijim slučajevima krajnji ishod ovih procesa stvaranje je glijalnog ožiljka. [6]

Reaktivna astroglioza dvosjekli je mač: neosporno, ima korisne učinke kao što su ograničavanje upale i oporavak tkiva, međutim, kronična ili pretjerana astroglioza dovodi do nepovratnih, patoloških promjena i potiče progresiju neurodegenerativnih bolesti. Za bolje shvaćanje srži ovih bolesti, nužno je razumijevanje promjena koje zahvaćaju ove stanice.

U kontekstu navedenog, kod reaktivnih astrocita, kao i kod mikroglia, razlikujemo proupalni (A1) i protuupalni (A2) fenotip. Djelovanje A1 reaktivnih astrocita može uzrokovati neuroinflamaciju i oštećenja sinapsi, dok A2 reaktivni astrociti luče neurotrofne čimbenike kako bi potaknuli preživljenje neurona te trombospondine koji potiču formiranje novih sinapsi. [36] Aktivacija pojedinog fenotipa ovisi o signalima koje astrociti primaju iz svojeg okruženja.

Širokim spektrom membranskih i unutarstaničnih receptora, poput receptora za G-protein, ionotropnih, citokinskih, Toll like te tirozin-kinaza receptora, astrociti prepoznaju niz patoloških signala. Aktivacija ovih receptora pokreće signalne kaskade poput STAT3, NF- κ B i nuklearnog faktora aktiviranih T-stanica (engl. nuclear factor of activated T cells, NFAT), koje induciraju ekspresiju specifičnih gena (GFAP-a, citokina, ...) i dovode do transkripcijskih promjena u jezgri koje rezultiraju specifičnim odgovorima astrocita.

Aktivirana STAT3 signalna kaskada potiče reaktivne promjene u astrocitima poput proliferacije i hipertrofije. Štoviše, zbog velikog doprinosa

transformaciji astrocita u reaktivni oblik, STAT3 se smatra glavnim regulatorom astroglioze i formacije ožiljka. [37] NF- κ B glavna je kaskada koja se aktivira kao odgovor na upalu, inducirajući ekspresiju proinflamatornih citokina poput interleukina (IL-6), tumor nekroza faktora (TNF- α), enzima dušikovog oksida sintaze (NOS) itd. NF- κ B put ključan je za modulaciju astrocitnog odgovora na ozljede mozga kada su prisutni upalni procesi. NFAT kaskada također potiče reaktivnost astrocita, čime osigurava njihov odgovor na ozljede SŽS-a.

Osim navedenih puteva, aktivaciji reaktivnih astrocita pridonosi i mikroglija. Mikroglijalni proupalni medijatori, poput IL-1 α , TNF- α i C1q, potiču aktivaciju A1 astrocita. Tako aktivirani astrociti više ne pružaju potporu neuronima, sinapsama i oligodendrocitima, već uzrokuju njihovo oštećenje i smrt. Ovakav je fenotip prisutan u mnogim neurodegenerativnim bolestima, uključujući Alzheimerovu, Parkinsonovu te Huntingtonovu bolest. [38]

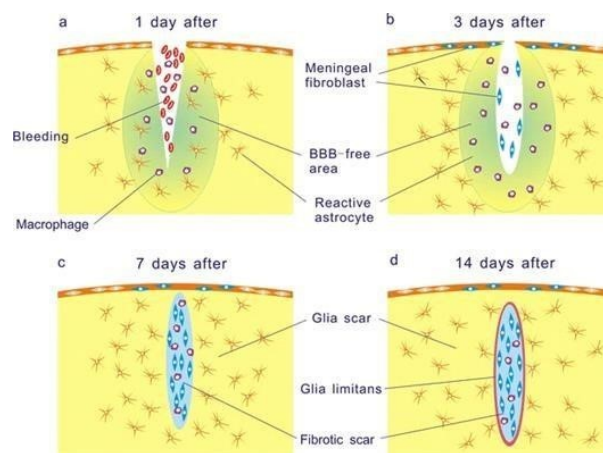
Kao odgovor na patološka stanja, reaktivni astrociti pokazuju značajne morfološke promjene koje uključuju hipertrofiju soma i glavnih izdanaka, pri čemu astrociti postaju veći i deblji, što je praćeno povećanom ekspresijom GFAP. Također, dolazi do polarizacije i promjene u razgranatosti izdanaka, tj. astrociti se usmjeravaju prema mjestu ozljede ili upale kako bi efikasnije odgovorili na oštećenje. U težim patološkim stanjima poput epilepsije, astrociti nerijetko postaju asimetrični te se njihovi izdanci u većoj mjeri preklapaju sa izdancima susjednih astrocita, što dovodi do narušavanja njihove prostorne organizacije. Takvo narušavanje odražava se kao smanjena sposobnost astrocita da pravilno analiziraju i reguliraju okoliš koji ih okružuje, čime se dodatno remeti normalno funkcioniranje SŽS-a. U slučajevima ozbiljnijih ozljeda mozga ili leđne moždine, astrociti proliferiraju, postaju izduženi i međusobno se povezuju kako bi formirali glijalni ožiljak. [5]

4. STVARANJE GLIJALNOG OŽILJKA

Glijalni ožiljak je struktura koja se formira kao odgovor na ozljedu SŽS-a. Njegovo stvaranje rezultat je složenih procesa u kojima sudjeluju različite stanice, uključujući astrocite i mikroglije. Glavni cilj ovih stanica je ograničiti štetu i obnoviti narušenu homeostazu.

Ozljede SŽS-a često dovode do oštećenja KMB-e, čime se povećava njezina propusnost i omogućava infiltracija krvnih proteina, trombina i fibrinogena na mjesto ozljede. Ovi proteini sudjeluju u koagulaciji i pokretanju upalne reakcije. Imunosne stanice, uključujući leukocite, makrofage i limfocite, također prodiru do lezije, pridonoseći upalnom odgovoru. Osim što djeluju u samoj jezgri lezije, ove se imunosne stanice šire i u okolno tkivo te luče citokine i kemokine koji potiču aktivaciju i proliferaciju astrocita, mikroglija i oligodendrocitnih progenitorskih stanica. [39] Kao odgovor na upalne signale, glijalne stanice se aktiviraju te prolaze kroz niz morfoloških i funkcionalnih promjena.

Međusobne interakcije stanica koje sudjeluju u stvaranju glijalnog ožiljka prilično su kompleksne i dinamične. Glijalne i upalne stanice međusobno se aktiviraju i surađuju kako bi osigurale uvjete za formiranje stabilne granice oko oštećenog područja (Slika 8). Svaka stanica ima svoju ulogu u ovom procesu, pri čemu se najviše ističe ona koju obavljaju glijalne stanice.



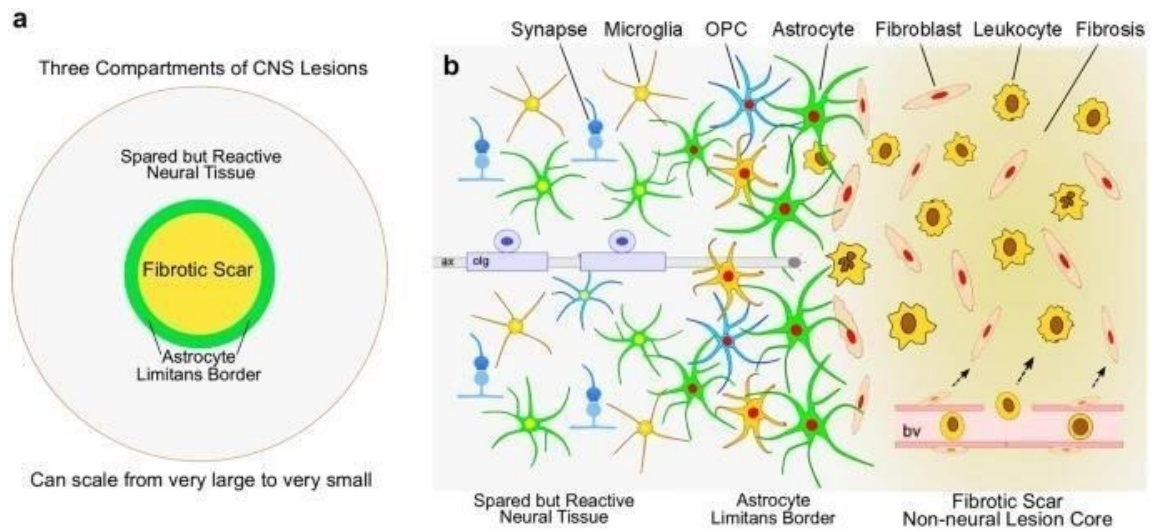
Slika 8 – Proces stvaranja ožiljka nakon lezije mozga miša. [39]

Astroцити су кључни за формирање густе мреже око лезије, док је микроглија, као имуносна станица мозга, нужна за уклањање станичних остатака насталих услјед озлједe. Олигодендрoцитне прогенитoрске станице, осим што судјелују у формирању оžilјка, важан су дио ремјелинизације оштећених аксона.

У случају тешких и хроничних повреда СŽС-а, из здравог околног ткива регрутирају се фиброblastи који продиру у језгру лезије, гдје пролиферирају и луће главне компоненте ECM-а попут колaгена типа IV, фибронектина и ламинина. [39] Повећана производња протеина ECM-а доводи до реорганизације матрикса и стварања протеинских наслага, тј. фибрoтичног оžilјка који замјенjuje оштећени живчани паренхим. Иако фибрoтични оžilјак својом густоћом пружа структуралну потпору ткиву, такођер омета ремјелинизацију и раст аксона. [1] Осим фибрoцита, фибрoтични оžilјак граде пероцити, ендотелне и упалне станице.

Важно је нагласити да је глијални оžilјак доминантна структура која се формира како би се регулирала упални процес и ограничило ширење оштећења, док фибрoтични оžilјак није карактеристичан за СŽС, већ се ствара само у случају тежих повреда како би пружио додатну структуралну потпору оштећеном ткиву. Рјетку појаву фибрoтичног оžilјка у СŽС-у објашњава ниска присутност фибрoblastа у овом дијелу живчаног система. Овај је тип оžilјка израђенији у периферном живчаном систему (ПŽС) гдје су фиброblastи бројнији и активније судјелују у његовом формирању. Нужно је истакнути и да глијални оžilјак доминантно окружује језгру лезије, док у тежим озлједama саму језгру чини ткиво састављено од фибрoblastа (Слика 9). [40]

У слједeћим поглављима детаљније ће се расправити специфичне улоге микроглија и astroцита у стварању глијалног оžilјка, као и његова двоstrука улога.



Slika 9 – Stanje tkiva na području zahvaćenom lezijom (a) te prostorna organizacija stanica koje reagiraju na leziju (b). [40]

5. ULOGA MIKROGLIJA U STVARANJU OŽILJKA

Kao rezidentni makrofagi SŽS-a, mikroglia su prve stanice koje reagiraju na ozljedu. Vezanjem PAMP-ova i DAMP-ova za TLR i NLR na površini mikroglie, ove se imunosne stanice aktiviraju i migriraju prema oštećenom području gdje predstavljaju primarni izvor proupalnih citokina i kemokina. Lučenjem proupalnih medijatora, mikroglia potiče regrutaciju monocita i neutrofila na mjesto oštećenja, modulirajući tako upalni odgovor.

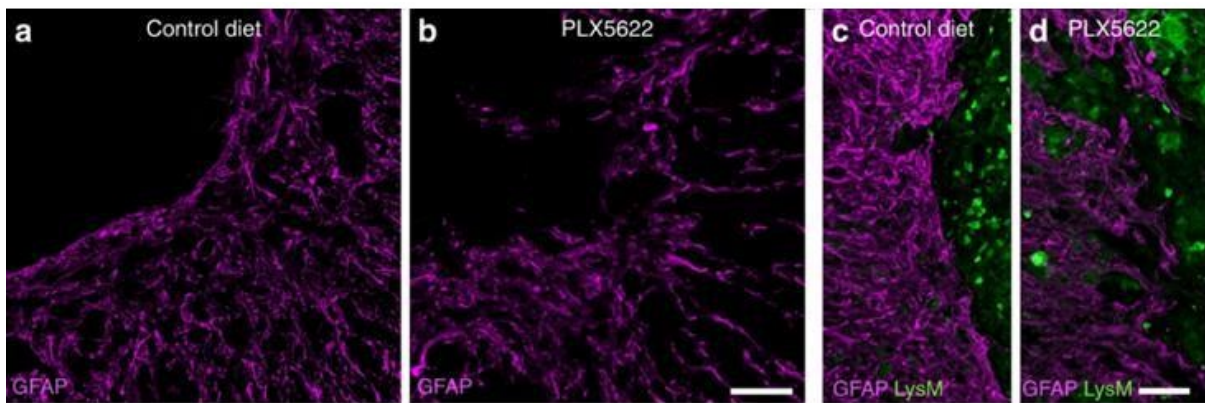
Lokalne upale koje nastaju uslijed djelovanja proupalnih medijatora važan su stimulans astrocitne aktivnosti. Mikroglialno otpuštanje molekula poput TNF- α i IL-1 α potiče proces reaktivne astroglioze i aktivaciju reaktivnih astrocita [38] koji predstavljaju glavnu komponentu glijalnog ožiljka.

TNF- α veže se za receptore na površini astrocita, aktivirajući tako signalni NF- κ B put [41], ključan za reguliranje astrocitnog upalnog odgovora. IL-1 α također inducira astrocitnu aktivnost inducirajući hipertrofiju i pojačano lučenje proupalnih citokina.

No, važno je istaknuti da dugotrajna aktivacija astrocita upalnim signalima dovodi do pokretanja citotoksičnog fenotipa. [41] U tom slučaju, astrociti gube svoje korisne funkcije i poprimaju one štetne, narušavajući time regenerativni proces.

Osim što modulira upalni odgovor i aktivnost astrocita, mikroglia sudjeluje u čišćenju staničnih ostataka procesom fagocitoze. Nakon ozljede dolazi do nakupljanja mrtvih stanica, oštećenih neurona, kao i mijelinskih ostataka koji mogu izazvati sekundarna oštećenja i tako dodatno narušiti stanje SŽSa, stoga ih je potrebno učinkovito ukloniti. Mikroglia prepoznaje i fagocitira stanične ostatke, sprječavajući tako daljnja oštećenja tkiva. Također, uklanjanje staničnog otpada s oštećenog područja nužno je za stvaranje povoljnog okruženja za djelovanje astrocita i uspješno stvaranje glijalnog ožiljka.

Tijekom procesa formacije glijalnog ožiljka, mikroglia aktivno komunicira sa astrocitima, osiguravajući povoljne okolišne uvjete. Primjerice, Xia i suradnici u svom istraživanju [42] ukazuju da mikroglia eksprimira kolagen I, protein koji pridonosi stabilnosti i čvrstoći glijalnog ožiljka. Sukladno tome, pokazali su da delecija mikroglie dovodi do smanjene ekspresije kolagena I, što se odražava na astrocite, koji u odsutnosti ovog proteina nisu u mogućnosti stvarati kompaktno ožiljke (Slika 10). Dakle, osim što su važne za poticanje stvaranja glijalnog ožiljka, mikroglie su bitan faktor njegove kompaktnosti.



Slika 10 - Uklanjanje mikroglie rezultira smanjenom proliferacijom astrocita i neorganiziranim astrocitnim ožiljkom na rubu lezije. Lezija leđne moždine je promatrana konfokalnom imunofluorescentnom mikroskopijom (GFAP, ljubičasta). Slike a i c prikazuju astrocite koji tvore kompaktno ožiljak, dok b i d slike prikazuju stanje astrocita nakon iscrpljivanja mikroglie korištenjem PLX5622 – brojnost astrocita je manja i organizacija im je narušena. Zeleno označene stanice predstavljaju nakupine mijeloidnih stanica iz krvi. [43]

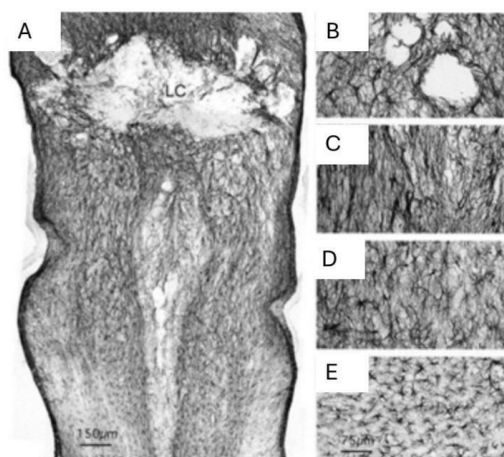
Uloga mikroglia u stvaranju glijalnog ožiljka dvostruke je prirode. Početni upalni odgovor pridonosi stvaranju fizičke barijere oko oštećenog područja, sprječavajući daljnje oštećenje. Kako formiranje barijere napreduje, mikroglia prelazi u protuuplani fenotip koji smanjuje upalu i potiče regeneraciju. No, ukoliko početni odgovor mikroglie postane pretjeran i dugotrajan, dolazi do sekundarnih oštećenja koji rezultiraju otežanim oporavkom SŽS-a.

6. ULOGA ASTROCITA U STVARANJU OŽILJKA

Glijalni ožiljak kompleksna je struktura koja se javlja uslijed ozljede SŽS-a sa ciljem da se održi homeostaza. Astrociti, kao glavne homeostatske stanice ovog sustava, predstavljaju glavnu komponentu glijalnog ožiljka, stoga imaju ključnu ulogu u njegovom formiranju.

Kao odgovor na oštećenje SŽS-a, astrociti prolaze kroz proces reaktivne astroglioze, koja uključuje hipertrofiju, proliferaciju i migraciju ovih stanica na mjesto ozljede. U slučaju ozbiljnijih oštećenja, reaktivni astrociti isprepliću svoje izdanke, tvoreći gusto tkivo koje izolira oštećeno područje. [7] Morfološke promjene astrocita praćene su pojačanom ekspresijom markera kao što su GFAP, vimentin i nestin, ključnih za promatranje njihove aktivnosti. [7]

Stupanj proliferacije, kao i morfološke promjene astrocita razlikuju se ovisno o njihovoj udaljenosti od same lezije. [44] Astrociti u blizini jezgre lezije intenzivno proliferiraju i pokazuju izraženije morfološke promjene, dok su udaljeniji astrociti manje morfološki izmijenjeni i slabije proliferiraju (Slika 11). Dakle, ožiljak najvećim dijelom formiraju lokalni novonastali astrociti koji se gusto preklapaju, dok povećanjem udaljenosti od lezije, astrociti pokazuju sve veću sličnost onima u zdravom tkivu. [44, 45]



Slika 11 – Slika A prikazuje područje jezgre lezije (engl. lesion core, LC) nakon ozljede leđne moždine.. Prikaz morfologije i gustoće reaktivnih astrocita u blizini lezije (B, C) naspram astrocita udaljenijih od same jezre lezije (D, E). [45]

Reaktivni astrociti proizvode i luče molekule ECM-a, uključujući CSPG. CSPG sastavljeni su od jezgre proteina na koju su brojni glikozaminoglikanski lanci (GAG). [8] Ove su molekule široko rasprostranjene u SŽS-u, gdje tijekom razvoja usmjeravaju migraciju stanica i aksonalni rast, dok u odraslom mozgu pridonose sinaptičkoj stabilnosti. Povećana proizvodnja CSPG-ova uslijed ozljede doprinosi stvaranju guste mreže koja čini strukturalnu osnovu glijalnog ožiljka. Takva gusta mreža sprječava širenje upale i daljnje oštećenje zdravog okolnog tkiva, što je iznimno bitno za prevenciju od sekundarnih oštećenja koja bi mogla dodatno zakomplicirati, već ionako narušeno, stanje SŽS-a. [46]

CSPG-ovi, unatoč svojoj protektivnoj ulozi, istovremeno predstavljaju glavnu prepreku regeneraciji aksona. [42, 46] Vezanjem za molekule kao što su integrini i laminini – koje sudjeluju u poticanju i usmjeravanju rasta aksona, CSPG-ovi blokiraju njihovu signalizaciju i onemogućuju normalan aksonalni rast. Novija istraživanja pokazuju da se CSPG-ovi vežu i za inhibitore rasta na površini aksona, čime dodatno otežavaju njihovu regeneraciju. [47]

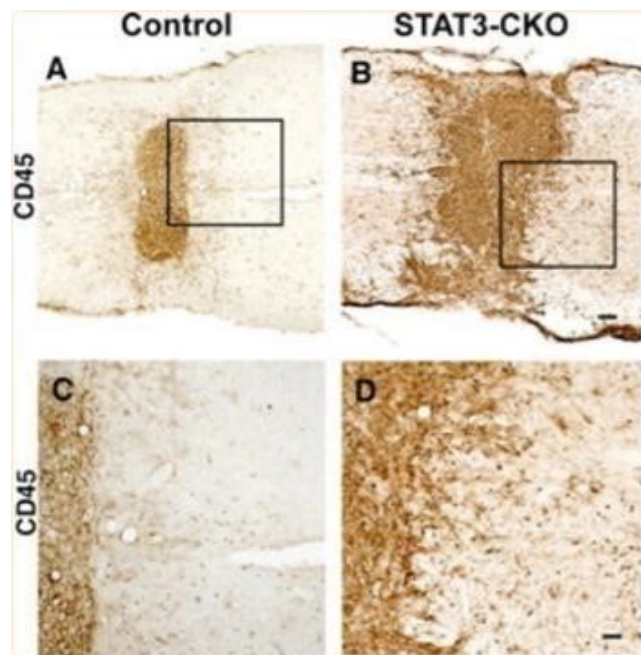
Osim što ograničavaju regenerativni potencijal aksona, CSPG-ovi pokazuju inhibitorni utjecaj i na oligodendrocitne progenitorske stanice. Onemogućujući produljenje izdanaka i diferencijaciju ovih progenitorskih stanica u zrele oligodendrocite, sprječavaju proizvodnju mijelina, što rezultira demijelinizacijom aksona. [46] Bez mijelina koji ih obavija, funkcija aksona je narušena, a samim time i učinkovitost prijenosa informacija unutar SŽS-a.

Važno je istaknuti da postoji više vrsta CSPG-ova, koji se međusobno razlikuju po strukturi i funkciji. Stoga, kada se govori o inhibitornim svojstvima ovih molekula, treba uzeti u obzir da se ta svojstva ne odnose na sve vrste unutar ove grupe. Neke vrste CSPG-ova inhibiraju aksonalni rast, dok druge mogu imati potpuno suprotne uloge. Iznimna složenost i

raznolika uloga ovih molekula predstavlja veliki izazov u pronalasku idealne terapije za sprječavanje njihovog inhibitorynog utjecaja.

Potaknuti ozljedom, reaktivni astrociti pojačano proizvode i različite tipove kolagena, posebice kolagen tipa I. Kolagen I, kao dio ECM-a, pridonosi organizaciji tkiva koje sprječava daljnje širenje ozljede te se ističe kao važan faktor stabilizacije tog tkiva. Međutim, kao i CSPG, kolagen I se pokazao vrlo snažnim inhibitorom regeneracije aksona. [42]

STAT3 signalna kaskada glavni je regulator astroglioze i stvaranja glijalnog ožiljka. Nakon ozljede, aktivacija STAT3 značajno se povećava, a signal koji se oslobađa aktivacijom ove kaskade potiče reaktivnost astrocita koja, u konačnici, dovodi do stvaranja ožiljka. Osim što ima ključnu ulogu u aktivaciji astrocita, STAT3 pridonosi i samoj organizaciji i stabilnosti ožiljka, potičući proizvodnju komponenata ECM-a. Izostanak STAT3 signalizacije rezultira slabijom aktivacijom i raspršenjem astrocita te stvaranjem nefunkcionalne barijere oko lezije koja ne uspijeva ograničiti upalu (Slika 12). [37] Širenje upalnih stanica dovodi do dodatnog oštećenja neurona i širenja lezije te se otežava oporavak od ozljede.



Slika 12 – Horizontalni presjeci leđne moždine 14 dana nakon izazivanja ozljede. A i C slike prikazuju stvaranje funkcionalnog ožiljka nakon aktivacije STAT3. B i D slike prikazuju širenje upale uslijed nefunkcionalnog ožiljka zbog delecije STAT3 iz astrocita. [37]

Aktivirani STAT3 signalnom kaskadom, reaktivni astrociti vrše brojne funkcije kojima pridonose oporavku SŽS-a od ozljede. Osim što okružuju mjesto upale te na taj način ograničavaju njezino širenje, reaktivni astrociti pridonose oporavku KMB, kao i zaštiti neurona i oligodendrocita od ekscitotoksičnosti apsorpiranjem izvanstaničnog glutamata i ROS-a. Uz sve to, reaktivni astrociti pružaju metaboličku potporu preživjelim neuronima proizvodnjom glukoze te potiču regrutaciju fibroblasta i endotelnih stanica, inducirajući tako vaskularizaciju na mjestu ozljede. [8]

Ipak, reaktivni astrociti reagiraju i na signalne puteve koji potiču proupalni odgovor, poput NF- κ B. Tako aktivirani astrociti mogu izgubiti homeostatske funkcije ili poprimiti nove, štetne. Gubitak ili poremećaj astrocitnih funkcija rezultira smanjenom regulacijom glutamata i ROS-a, narušenom metaboličkom opskrbom neurona te nemogućnošću oporavka KMB-e. Ovakve funkcionalne promjena dovode do povećane proizvodnje proupalnih signala, otpuštanja toksičnih molekula poput ROS-a te odumiranja neurona i sinapsi uslijed manjka astrocitne potpore. Zaključno, štetno djelovanje astrocita u većini je slučajeva rezultat gubitka ili neispravnosti njihovih osnovnih funkcija. [44]

Stoga, novija istraživanja sugeriraju da buduće terapije treba temeljiti na razumijevanju gubitka funkcija astrocita, a ne na njihovoj deleciji, obzirom da se astrocitna aktivnost pokazala nužnom za oporavak SŽS-a. [44]

7. INTERAKCIJA MIKROGLIJA I ASTROCITA

Dinamična interakcija mikroglia i astrocita temelj je kompaktnog i funkcionalnog glijalnog ožiljka. S ciljem održavanja homeostaze, ova dva tipa stanica oslobađaju signalne molekule kojima si međusobno reguliraju aktivnost, ali i stanične funkcije.

Obzirom da prve reagiraju na ozljedu, mikroglie svojim izlučenim molekulama potiču prelazak astrocita u reaktivno stanje. Ovakva aktivacija astrocita može rezultirati formiranjem različitih fenotipa, neurotoksičnog ili neuroprotektivnog, ovisno o mikroglialnim signalima. Na taj način mikroglia utječe na astrocite, dok oni s druge strane koriste svoje signalne molekule kako bi regulirali fenotipe i funkcije mikroglie, uključujući njihovu migraciju i sposobnost fagocitoze. [9] Ovakva međusobna komunikacija, pri kojoj mikroglia i astrociti međusobno pojačavaju ili utišavaju svoje aktivnosti, iznimno je bitan dio regulacije ovih stanica, koja je nužna za adekvatan obrambeni odgovor.

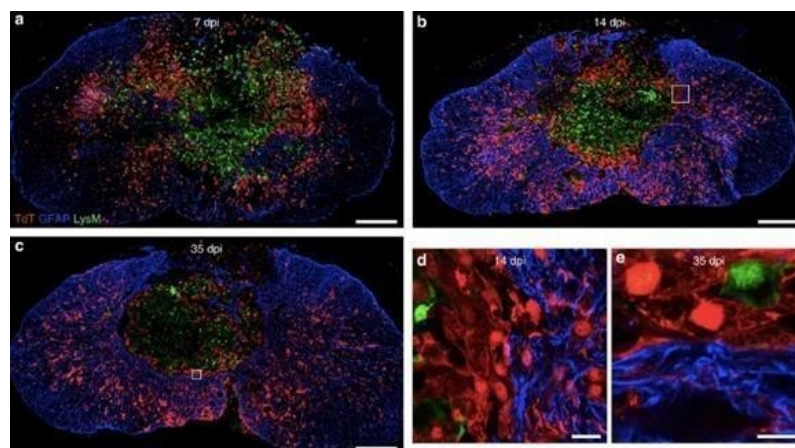
TNF- α jedan je od najistaknutijih proupalnih citokina koji oslobađa aktivirana mikroglia, a za koji se pokazalo da potiče astrocitnu proizvodnju TNF- α , kao i dušikovog oksida, čime se dodatno pojačava upalni odgovor. U odsutnosti mikroglia, astrociti pokazuju zanemarivu količinu otpuštenih proupalnih citokina, što ukazuje da astrocitni upalni odgovor ovisi o mikroglialnim signalima. [9]

Astrociti aktivirani mikroglialnim signalima, pojačano eksprimiraju citokine i kemokine, koji zatim utječu na aktivaciju mikroglia. Primjerice, glikoprotein orosomukoid-2 (ORM2), za koji je poznato da modulira aktivaciju mikroglie, visoko je eksprimiran od strane astrocita aktiviranih upalnom simulacijom. [9] Studija koju su proveli Jo i suradnici [48] pokazala je da otpušteni ORM2 rezultira smanjenjem mikroglialne proizvodnje proupalnih medijatora, što se očituje kao smanjena mikroglialna aktivnost i upućuje na protuupalnu prirodu ORM2 proteina.

Suprotno tome, glikoprotein lipocalin-2 (LCN2) izlučen iz reaktivnih astrocita dodatno potiče upalnu reakciju inducirajući proizvodnju proupalnih medijatora, a samim time dolazi i do pojačane aktivacije kako samih astrocita, tako i mikroglija. [49]

Temeljem ovih podataka, jasno se uočava regulatorna moć signalnih molekula koje luče mikroglije i astrociti. Ravnoteža u međusobnoj interakciji iznimno je značajna za uspješan odgovor sustava na ozljedu, tj. o njoj ovisi oblikovanje upalnog odgovora, pokretanje regeneracije, i konačno, stvaranje glijalnog ožiljka.

Interakcija mikroglija i astrocita (Slika 13) predstavlja ključan dio stvaranja glijalnog ožiljka. Mikroglija, kao prva linija obrane, brzo aktivira astrocite, pokrećući kompleksan krug međusobne regulacije. Početni upalni odgovor koji induciraju ove stanice glavni je pokretač formiranja fizičke barijere nužne za sprječavanje daljnjeg oštećenja. Međutim, uslijed manjka regulacije dolazi do pretjerane, kronične upale koja rezultira dodatnim oštećenjem tkiva – koje je nerijetko nepovratno te predstavlja početak neurodegenerativnih promjena. Dakle, razumijevanje oba ishoda ove interakcije nužno je za razvoj terapija usmjerenih na regeneraciju SŽS-a nakon ozljede.



Slika 13 – Međudjelovanje mikroglija (crveno) i astrocita (plavo) u stvaranju glijalnog ožiljka 7 (a), 14 (b) i 35 (c) dana nakon ozljede leđne moždine. d i e su povećane regije označene u slikama b i c. Infiltracija mijeloidnih stanica porijeklom iz krvi prikazana je zelenom bojom. [43]

8. DVOSTRUKA ULOGA OŽILJKA

Heterogenost stanica koje sudjeluju u stvaranju samog ožiljka temelj je njegove višestruke uloge u odgovoru na ozljedu. Primarno, glijalni ožiljak okružuje oštećeno tkivo i tako ograničava područje upale te konačno, pridonosi očuvanju zdravog okolnog tkiva. Astrociti, kao glavna komponenta ožiljka, predstavljaju važan faktor ponovnog uspostavljanja KMB-e i vaskularizacije područja zahvaćenog ozljedom [6]. Time omogućuju opskrbu tkiva kisikom i hranjivim tvarima, neophodnima za regeneraciju. Mikroglia, u interakciji s astrocitima, također pridonosi stabilizaciji oštećenog područja.

Premda je glijalni ožiljak ključan dio zaštite zdravog tkiva, njegovo formiranje ima i štetne posljedice. Gusta mreža stanica koja ga gradi, ne samo da predstavlja barijeru koja zaustavlja daljnje širenje proupalnih stanica, već onemogućuje i rast aksona te tako otežava funkcionalni oporavak SŽS-a. Svojom inhibitornom prirodom najviše se ističu CSPG-ovi i kolagen tipa I, stoga je većina istraživanja usmjerena na razumijevanje i prevladavanje njihove inhibicije.

Međutim, ne treba zanemariti ni dinamične mikroglialne prijelaze iz protupalnog u proupalni fenotip, čija pretjerana aktivacija dovodi do kronične upale, a samim time i otežane regeneracije koja pridonosi razvoju neurodegenerativnih bolesti. Stoga, ne čudi činjenica da traumatska ozljeda mozga značajno povećava rizik za razvoj Alzheimerove, Parkinsonove te Huntingtonove bolesti. [50] Zaključno, iako mikroglia ima zaštitnu ulogu u ranom stadiju ozljede, njezina dugotrajna aktivnost može dovesti do suprotnog efekta.

Ovakva kompleksna građa i dvostruka uloga čine glijalni ožiljak vrlo teško shvatljivim fenomenom. Istraživanje njegove dvojake uloge dovelo je do zaključka kako ga ne možemo okarakterizirati kao isključivo „korisnog“ ili „štetnog“, već je idealan primjer da u široj slici postoji niz komplementarnih

interakcija koje se događaju istovremeno i koje su izrazito složene za objasniti i razumjeti.

Dugi niz godina naglašavala se primarno negativna, inhibitorna uloga glijalnog ožiljka. Međutim, razvojem tehnologije i daljnjim istraživanjima otkrivena je i njegova pozitivna uloga. Studije poput one koju je proveo Sofroniew MV. [7] ukazuju da uklanjanje reaktivnih astrocita, tj. inhibicija stvaranja glijalnog ožiljka ne rezultira povećanom regeneracijom, već naprotiv, povećanim odumiranjem aksona i intenzivnijom demijelinizacijom kao posljedicom nereguliranog upalnog odgovora.

Rezultati ovih studija sugeriraju kako je stvaranje glijalnog ožiljka nužan dio odgovora na ozljedu SŽS-a te da njegova potpuna inhibicija ne predstavlja uspješnu terapiju. Obzirom da se njegova inhibitorna priroda ne može zanemariti, potreban je novi pristup kako bi se omogućila regeneracija i potpunija funkcionalna obnova SŽS-a.

Godinama se ulažu veliki naponi kako bi se bolje shvatili mehanizmi njegova djelovanja, a krajnji je cilj razviti terapiju koja umanjuje štetne posljedice njegovog formiranja, dok pridonosi očuvanju i poticanju onih pozitivnih.

9. ZAKLJUČAK

Glijalne stanice u SŽS-u stvaraju specifično ožiljno tkivo koje se sastavom i funkcijom razlikuje od ožiljka prisutnog u drugim organima. Za razliku od tipičnog ožiljka koji nadomješta oštećeno tkivo nefunkcionalnim fibroznim tkivom, glijalne stanice formiraju granicu koja osim što pridonosi ograničavanju oštećenja, potiče i funkcionalni oporavak. Obzirom na navedene razlike, sve više se zagovara uvođenje termina „glija koja stvara granicu“ kako bi se preciznije opisala struktura koju tvore glijalne stanice, predvođene mikroglijom i astrocitima.

Interakcija mikroglija i astrocita pokazala se ključnom u procesu formiranja stabilnog i funkcionalnog ožiljka, ali i u progresiji neurodegenerativnih bolesti. Disfunkcija ovih stanica predstavlja veliki izazov u proučavanju ovih bolesti, a shvaćanje važnosti ovih interakcija dovelo je do spoznaje kako za uspješnu terapiju nije dovoljno zasebno promatrati mehanizme ova dva tipa stanica, već je nužno razumjeti odnos koji postoji među njima. Upravo je razumijevanje tog odnosa nužno kako bi razumjeli samu srž bolesti koje su, u velikom broju, uzrokovane upravo propustima u međusobnoj regulaciji mikroglija i astrocita.

Mikroglije i astrociti jasno pokazuju koliko su određeni procesi nužni za zdravlje SŽS, a koji mu istodobno, ako odu u krajnost, mogu naštetiti. Ponovno se ističe važnost ravnoteže, tj. homeostaze cijelog ovog sustava, a samim time i stanica poput mikroglija i astrocita u održavanju iste.

Daljnje istraživanje ovih procesa nužno je za razvoj terapije koja će omogućiti veću stopu funkcionalnog oporavka te bolju kvalitetu života osobama s ozljedama i bolestima SŽS-a.

10. LITERATURA

1. Adams KL, Gallo V. The diversity and disparity of the glial scar. *Nat Neurosci*. 2018 Jan;21(1):9-15. doi: 10.1038/s41593-017-0033-9. Epub 2017 Dec 21. PMID: 29269757; PMCID: PMC5937232.
2. Gomez-Nicola D, Perry VH. Microglial dynamics and role in the healthy and diseased brain: a paradigm of functional plasticity. *Neuroscientist*. 2015 Apr;21(2):169-84. doi: 10.1177/1073858414530512. Epub 2014 Apr 10. PMID: 24722525; PMCID: PMC4412879.
3. Li Q, Barres BA. Microglia and macrophages in brain homeostasis and disease. *Nat Rev Immunol*. 2018 Apr;18(4):225-242. doi: 10.1038/nri.2017.125. Epub 2017 Nov 20. PMID: 29151590.
4. Subramaniam SR, Federoff HJ. Targeting Microglial Activation States as a Therapeutic Avenue in Parkinson's Disease. *Front Aging Neurosci*. 2017 Jun 8;9:176. doi: 10.3389/fnagi.2017.00176. PMID: 28642697; PMCID: PMC5463358.
5. Escartin C, Guillemaud O, Carrillo-de Sauvage MA. Questions and (some) answers on reactive astrocytes. *Glia*. 2019 Dec;67(12):2221-2247. doi: 10.1002/glia.23687. Epub 2019 Aug 19. PMID: 31429127.
6. Sofroniew MV, Vinters HV. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol*. 2010 Jan;119(1):7-35. doi: 10.1007/s00401-009-0619-8. Epub 2009 Dec 10. PMID: 20012068; PMCID: PMC2799634.
7. Sofroniew MV. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends Neurosci*. 2009 Dec;32(12):638-47. doi: 10.1016/j.tins.2009.08.002. Epub 2009 Sep 24. PMID: 19782411; PMCID: PMC2787735.
8. Ohtake Y, Li S. Molecular mechanisms of scar-sourced axon growth inhibitors. *Brain Res*. 2015 Sep 4;1619:22-35. doi: 10.1016/j.brainres.2014.08.064. Epub 2014 Sep 1. PMID: 25192646; PMCID: PMC4345149.
9. Jha MK, Jo M, Kim JH, Suk K. Microglia-Astrocyte Crosstalk: An Intimate Molecular Conversation. *Neuroscientist*. 2019 Jun;25(3):227-240. doi: 10.1177/1073858418783959. Epub 2018 Jun 22. PMID: 29931997.
10. Askew K, Li K, Olmos-Alonso A, Garcia-Moreno F, Liang Y, Richardson P, Tipton T, Chapman MA, Riecken K, Beccari S, Sierra A, Molnár Z, Cragg MS,

- Garaschuk O, Perry VH, Gomez-Nicola D. Coupled Proliferation and Apoptosis Maintain the Rapid Turnover of Microglia in the Adult Brain. *Cell Rep.* 2017 Jan 10;18(2):391-405. doi: 10.1016/j.celrep.2016.12.041. PMID: 28076784; PMCID: PMC5263237.
11. Reemst K, Noctor SC, Lucassen PJ, Hol EM. The Indispensable Roles of Microglia and Astrocytes during Brain Development. *Front Hum Neurosci.* 2016 Nov 8;10:566. doi: 10.3389/fnhum.2016.00566. PMID: 27877121; PMCID: PMC5099170.
 12. Cunningham CL, Martínez-Cerdeño V, Noctor SC. Microglia regulate the number of neural precursor cells in the developing cerebral cortex. *J Neurosci.* 2013 Mar 6;33(10):4216-33. doi: 10.1523/JNEUROSCI.344112.2013. PMID: 23467340; PMCID: PMC3711552.
 13. Sierra A, Encinas JM, Deudero JJ, Chancey JH, Enikolopov G, Overstreet-Wadiche LS, Tsirka SE, Maletic-Savatic M. Microglia shape adult hippocampal neurogenesis through apoptosis-coupled phagocytosis. *Cell Stem Cell.* 2010 Oct 8;7(4):483-95. doi: 10.1016/j.stem.2010.08.014. PMID: 20887954; PMCID: PMC4008496.
 14. Qin J, Ma Z, Chen X, Shu S. Microglia activation in central nervous system disorders: A review of recent mechanistic investigations and development efforts. *Front Neurol.* 2023 Mar 7;14:1103416. doi: 10.3389/fneur.2023.1103416. PMID: 36959826; PMCID: PMC10027711.
 15. Nayak D, Roth TL, McGavern DB. Microglia development and function. *Annu Rev Immunol.* 2014;32:367-402. doi: 10.1146/annurev-immunol-032713120240. Epub 2014 Jan 22. PMID: 24471431; PMCID: PMC5001846.
 16. Uribe-Querol E, Rosales C. The Multiple Roles of Trophocytosis in Immunity, the Nervous System, and Development. *Biomed Res Int.* 2021 Sep 22;2021:1601565. doi: 10.1155/2021/1601565. PMID: 34604381; PMCID: PMC8483919.
 17. Huang Y, Xu Z, Xiong S, Sun F, Qin G, Hu G, Wang J, Zhao L, Liang YX, Wu T, Lu Z, Humayun MS, So KF, Pan Y, Li N, Yuan TF, Rao Y, Peng B. Repopulated microglia are solely derived from the proliferation of residual microglia after acute depletion. *Nat Neurosci.* 2018 Apr;21(4):530-540. doi: 10.1038/s41593-018-0090-8. Epub 2018 Feb 22. Erratum in: *Nat Neurosci.* 2021 Feb;24(2):288. doi: 10.1038/s41593-020-00760-x. PMID: 29472620.

18. Bruttger J, Karram K, Wörtge S, Regen T, Marini F, Hoppmann N, Klein M, Blank T, Yona S, Wolf Y, Mack M, Pinteaux E, Müller W, Zipp F, Binder H, Bopp T, Prinz M, Jung S, Waisman A. Genetic Cell Ablation Reveals Clusters of Local Self-Renewing Microglia in the Mammalian Central Nervous System. *Immunity*. 2015 Jul 21;43(1):92-106. doi: 10.1016/j.immuni.2015.06.012. Epub 2015 Jul 7. PMID: 26163371.
19. Zhang L, Cao Y, Zhang X, Gu X, Mao Y, Peng B. The origin and repopulation of microglia. *Dev Neurobiol*. 2022 Jan;82(1):112-124. doi: 10.1002/dneu.22862. Epub 2021 Dec 22. PMID: 34874111.
20. Frade JM, Ovejero-Benito MC. Neuronal cell cycle: the neuron itself and its circumstances. *Cell Cycle*. 2015;14(5):712-20. doi: 10.1080/15384101.2015.1004937. PMID: 25590687; PMCID: PMC4418291.
21. Najafi AR, Crapser J, Jiang S, Ng W, Mortazavi A, West BL, Green KN. A limited capacity for microglial repopulation in the adult brain. *Glia*. 2018 Nov;66(11):2385-2396. doi: 10.1002/glia.23477. Epub 2018 Oct 28. PMID: 30370589; PMCID: PMC6269202.
22. Cai Z, Hussain MD, Yan LJ. Microglia, neuroinflammation, and beta-amyloid protein in Alzheimer's disease. *Int J Neurosci*. 2014 May;124(5):307-21. doi: 10.3109/00207454.2013.833510. Epub 2013 Sep 12. PMID: 23930978.
23. „Arizona State University“ [online]. Dostupno na: <https://askabiologist.asu.edu/plosable/shape-shifting-brain-cells>. [Pristupljeno 21.8.2024.]
24. Lacey DC, Achuthan A, Fleetwood AJ, Dinh H, Roiniotis J, Scholz GM, Chang MW, Beckman SK, Cook AD, Hamilton JA. Defining GM-CSF- and macrophage-CSF-dependent macrophage responses by in vitro models. *J Immunol*. 2012 Jun 1;188(11):5752-65. doi: 10.4049/jimmunol.1103426. Epub 2012 Apr 30. PMID: 22547697.
25. Tang Y, Le W. Differential Roles of M1 and M2 Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Mol Neurobiol*. 2016 Mar;53(2):1181-1194. doi: 10.1007/s12035014-9070-5. Epub 2015 Jan 20. PMID: 25598354.
26. Hu X, Leak RK, Shi Y, Suenaga J, Gao Y, Zheng P, Chen J. Microglial and macrophage polarization—new prospects for brain repair. *Nat Rev Neurol*.

- 2015 Jan;11(1):56-64. doi: 10.1038/nrneuro.2014.207. Epub 2014 Nov 11. PMID: 25385337; PMCID: PMC4395497.
27. Kriegstein A, Alvarez-Buylla A. The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. *Annu Rev Neurosci.* 2009;32:149-84. doi: 10.1146/annurev.neuro.051508.135600. PMID: 19555289; PMCID: PMC3086722.
28. Khakh BS, Deneen B. The Emerging Nature of Astrocyte Diversity. *Annu Rev Neurosci.* 2019 Jul 8;42:187-207. doi: 10.1146/annurev-neuro070918050443. PMID: 31283899.
29. Bayraktar OA, Fuentealba LC, Alvarez-Buylla A, Rowitch DH. Astrocyte development and heterogeneity. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014 Nov 20;7(1):a020362. doi: 10.1101/cshperspect.a020362. PMID: 25414368; PMCID: PMC4292163.
30. „Neurohistology ATLAS“, [Online]. Dostupno na: <https://vanat.ahc.umn.edu/neurHistAtls/pages/glia1.html>. [Pristupljeno 22.8.2024.]
31. Köhler S, Winkler U, Hirrlinger J. Heterogeneity of Astrocytes in Grey and White Matter. *Neurochemical Research.* 2021 Jan;46(1):3-14. DOI: 10.1007/s11064-019-02926-x. PMID: 31797158.
32. „Epigenetik und Gesundheit“, [online]. Dostupno na: <https://epigenetik.at/das-gehirn-und-spermidin/tripartite-synapse/>. [Pristupljeno 21.8.2024.]
33. Allen NJ, Eroglu C. Cell Biology of Astrocyte-Synapse Interactions. *Neuron.* 2017 Nov 1;96(3):697-708. doi: 10.1016/j.neuron.2017.09.056. PMID: 29096081; PMCID: PMC5687890.
34. Molina-Gonzalez I, Holloway RK, Jiwaji Z, Dando O, Kent SA, Emelianova K, Lloyd AF, Forbes LH, Mahmood A, Skripuletz T, Gudi V, Febery JA, Johnson JA, Fowler JH, Kuhlmann T, Williams A, Chandran S, Stangel M, Howden AJM, Hardingham GE, Miron VE. Astrocyte-oligodendrocyte interaction regulates central nervous system regeneration. *Nat Commun.* 2023 Jun 8;14(1):3372. doi: 10.1038/s41467-023-39046-8. PMID: 37291151; PMCID: PMC10250470.
35. Gradisnik L, Velnar T. Astrocytes in the central nervous system and their functions in health and disease: A review. *World J Clin Cases.* 2023 May

- 26;11(15):3385-3394. doi: 10.12998/wjcc.v11.i15.3385. PMID: 37383914; PMCID: PMC10294192.
- 36.Liddel SA, Barres BA. Reactive Astrocytes: Production, Function, and Therapeutic Potential. *Immunity*. 2017 Jun 20;46(6):957-967. doi: 10.1016/j.immuni.2017.06.006. PMID: 28636962.
- 37.Herrmann JE, Imura T, Song B, Qi J, Ao Y, Nguyen TK, Korsak RA, Takeda K, Akira S, Sofroniew MV. STAT3 is a critical regulator of astrogliosis and scar formation after spinal cord injury. *J Neurosci*. 2008 Jul 9;28(28):723143. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1709-08.2008. PMID: 18614693; PMCID: PMC2583788.
- 38.Liddel SA, Guttenplan KA, Clarke LE, Bennett FC, Bohlen CJ, Schirmer L, Bennett ML, Münch AE, Chung WS, Peterson TC, Wilton DK, Frouin A, Napier BA, Panicker N, Kumar M, Buckwalter MS, Rowitch DH, Dawson VL, Dawson TM, Stevens B, Barres BA. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature*. 2017 Jan 26;541(7638):481-487. doi: 10.1038/nature21029. Epub 2017 Jan 18. PMID: 28099414; PMCID: PMC5404890.
- 39.Kawano H, Kimura-Kuroda J, Komuta Y, Yoshioka N, Li HP, Kawamura K, Li Y, Raisman G. Role of the lesion scar in the response to damage and repair of the central nervous system. *Cell Tissue Res*. 2012 Jul;349(1):169-80. doi: 10.1007/s00441-012-1336-5. Epub 2012 Feb 25. PMID: 22362507; PMCID: PMC3375417.
- 40.Wahane S, Sofroniew MV. Loss-of-function manipulations to identify roles of diverse glia and stromal cells during CNS scar formation. *Cell Tissue Res*. 2022 Mar;387(3):337-350. doi: 10.1007/s00441-021-03487-8. Epub 2021 Jun 24. Erratum in: *Cell Tissue Res*. 2022 May;388(2):485. doi: 10.1007/s00441-022-03617-w. PMID: 34164732; PMCID: PMC8975763.
- 41.Sofroniew MV. Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation. *Nat Rev Neurosci*. 2015 May;16(5):249-63. doi: 10.1038/nrn3898. Erratum in: *Nat Rev Neurosci*. 2015 Jun;16(6):372. PMID: 25891508; PMCID: PMC5253239.
- 42.Xia L, Qi J, Tang M, Liu J, Zhang D, Zhu Y, Hu B. Continual Deletion of Spinal Microglia Reforms Astrocyte Scar Favoring Axonal Regeneration. *Front Pharmacol*. 2022 Jun 27;13:881195. doi: 10.3389/fphar.2022.881195. PMID: 35833026; PMCID: PMC9271995.

43. Bellver-Landete V, Bretheau F, Mailhot B, Vallières N, Lessard M, Janelle ME, Vernoux N, Tremblay MÈ, Fuehrmann T, Shoichet MS, Lacroix S. Microglia are an essential component of the neuroprotective scar that forms after spinal cord injury. *Nat Commun.* 2019 Jan 31;10(1):518. doi: 10.1038/s41467-019-08446-0. PMID: 30705270; PMCID: PMC6355913.
44. Verkhatsky A, Butt A, Li B, Illes P, Zorec R, Semyanov A, Tang Y, Sofroniew MV. Astrocytes in human central nervous system diseases: a frontier for new therapies. *Signal Transduct Target Ther.* 2023 Oct 13;8(1):396. doi: 10.1038/s41392-023-01628-9. PMID: 37828019; PMCID: PMC10570367.
45. Wanner IB, Anderson MA, Song B, Levine J, Fernandez A, Gray-Thompson Z, Ao Y, Sofroniew MV. Glial scar borders are formed by newly proliferated, elongated astrocytes that interact to corral inflammatory and fibrotic cells via STAT3-dependent mechanisms after spinal cord injury. *J Neurosci.* 2013 Jul 31;33(31):12870-86. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2121-13.2013. PMID: 23904622; PMCID: PMC3728693.
46. Siebert JR, Conta Steencken A, Osterhout DJ. Chondroitin sulfate proteoglycans in the nervous system: inhibitors to repair. *Biomed Res Int.* 2014;2014:845323. doi: 10.1155/2014/845323. Epub 2014 Sep 18. PMID: 25309928; PMCID: PMC4182688.
47. Sharma K, Selzer ME, Li S. Scar-mediated inhibition and CSPG receptors in the CNS. *Exp Neurol.* 2012 Oct;237(2):370-8. doi: 10.1016/j.expneurol.2012.07.009. Epub 2012 Jul 24. PMID: 22836147; PMCID: PMC5454774.
48. Jo M, Kim JH, Song GJ, Seo M, Hwang EM, Suk K. Astrocytic Orosomucoid2 Modulates Microglial Activation and Neuroinflammation. *J Neurosci.* 2017 Mar 15;37(11):2878-2894. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2534-16.2017. Epub 2017 Feb 13. PMID: 28193696; PMCID: PMC6596722.
49. Jung BK, Ryu KY. Lipocalin-2: a therapeutic target to overcome neurodegenerative diseases by regulating reactive astrogliosis. *Exp Mol Med.* 2023 Oct;55(10):2138-2146. doi: 10.1038/s12276-023-01098-7. Epub 2023 Oct 2. PMID: 37779143; PMCID: PMC10618504.
50. Shao F, Wang X, Wu H, Wu Q, Zhang J. Microglia and Neuroinflammation: Crucial Pathological Mechanisms in Traumatic Brain Injury-Induced Neurodegeneration. *Front Aging Neurosci.* 2022 Mar 25;14:825086. doi: 10.3389/fnagi.2022.825086. PMID: 35401152; PMCID: PMC8990307.



Paula Pandžić

Date of birth: 18/06/2003 | Nationality: Croatian | Email address: paula.pandzic1806@gmail.com

WORK EXPERIENCE

Croatia

SHOP ASSISTANT DM-DROGERIE MARKT, MANGO

- assisting customers
- inventory management

Croatia

VOLUNTEERING UNIVERSITY OF RIJEKA

- I volunteer as a member of the Student Association of Biotechnology in Rijeka on the projects: NatuRIs (preparing products of natural cosmetics and educating participants as a part of Open Day of the Department of Biotechnology), Student-mentor (helping the freshman in mastering materials).
- relations with suppliers
- coaching a junior Ice Hockey team (10 hours/week)

EDUCATION AND TRAINING

2021 – CURRENT

UNIVERSITY OF RIJEKA Faculty of Biotechnology and Drug Development

- Undergraduate study of biotechnology and drug research

2017 – 2021

HIGH SCHOOL Gymnasium Požega

- Natural sciences and mathematics direction

2009 – 2017

PRIMARY SCHOOL Primary School Julije Kempf, Požega

2009 – 2017

SCHOOL OF FOREIGN LANGUAGES School of Foreign Languages Praktikum, Požega

- English, B1.1 degree

LANGUAGE SKILLS

Mother tongue(s): **CROATIAN**

Other language(s):

	UNDERSTANDING		SPEAKING		WRITING
	Listening	Reading	Spoken production	Spoken interaction	
ENGLISH	B2	B2	B2	B2	B1

Levels: A1 and A2: Basic user; B1 and B2: Independent user; C1 and C2: Proficient user

DIGITAL SKILLS

Use of Microsoft applications (Word, Excel, PowerPoint, etc.) | Video Conferencing (Zoom, Teams, Skype, Webex) - Advanced | Social media