

Wpływ czynników epigenetycznych na rozwój odpowiedzi zapalnej w modelu asfiksji okołoporodowej.

Okołoporodowe stany niedotlenieniowo-niedokrwienne są przyczyną uszkodzenia mózgu i przewlekłych zaburzeń neurologicznych. Istnieje pełna zgodność, że kluczowym czynnikiem patogennym odpowiadającym za śmierć komórek nerwowych jest reakcja zapalna. Za indukcję odpowiedzi zapalnej odpowiadają aktywowane komórki mikrogleju, napływające z obwodu makrofagi oraz uwalniane przez oba typy komórek prozapalne mediatory (cytokiny, chemokiny, NO, wolne rodniki). Aktywowany mikroglej pełni również ważną funkcję uczestnicząc w procesach naprawczych. Podwójna i przeciwstawna rola mikrogleju/makrofagów wynika z różnych stanów aktywacji tych komórek. I tak, fenotyp M1 promuje produkcję i uwalnianie nasilających uszkodzenie mediatorów prozapalnych (cytokiny, ROS, NO, MMPs). Natomiast fenotyp M2, uwalniając czynniki przeciwzapalne i troficzne (IL-10, IGF, TGF beta, GDNF), promuje procesy naprawcze. Powyższe dane skłaniają do sugestii, że podejmowana w przyszłości strategia neuroprotekcynna powinna być ukierunkowana na zachowanie równowagi między mechanizmami prowadzącymi do nasilenia odpowiedzi zapalnej i mechanizmami naprawczymi.

Celem prezentowanego projektu jest sprawdzenie hipotezy zakładającej, że czynniki epigenetyczne związane z inhibicją deacetylaz histonów przeciwdziałają rozwojowi odpowiedzi zapalnej po eksperymentalnej asfiksji okołoporodowej. Realizacja proponowanego projektu obejmie analizę wpływu wybranego inhibitora deacetylaz histonów na dynamikę aktywacji mikrogleju/makrofagów i polaryzacji do specyficznego fenotypu (M1 i M2). Określona zostanie także ekspresja pro- i przeciwzapalnych czynników charakterystycznych dla obu badanych fenotypów. Badania będą prowadzone w różnych przedziałach czasu po indukcji hipoksyjno-ischemicznego uszkodzenia mózgu. Potwierdzenie przeciwzapalnego działania inhibitora deacetylaz histonów może sugerować uwzględnienie tego związku przy opracowaniu przyszłej strategii terapeutycznej.

Zastosowana metoda badawcza/metodyka

Badania będą prowadzone *in vivo* z wykorzystaniem modelu okołoporodowej asfiksji oraz *in vitro* w hodowli pierwotnej komórek mikrogleju. Model asfiksji okołoporodowej, wykonywany u oseków szczura w narkozie wziewnej, polegać będzie na jednostronnym wyłączeniu krążenia w tętnicy szyjnej wspólnej, a następnie na indukcji hipoksji (1 godzina, 7.6% tlenu w azocie). Pierwotne hodowle mikrogleju do badań *in vitro* będą izolowane z mózgów 1-dniowych noworodków szczurzych. Komórki te będą stymulowane OGD. Zebrany materiał badawczy (ipsi- i kontralateralne półkule mózgu, komórki mikrogleju, pożywki hodowlane) poddany zostanie analizie ilościowej i jakościowej przy zastosowaniu technik molekularnych i biochemicznych (FACS, PCR w czasie rzeczywistym, kompleksowa analiza czynników pro- i przeciwzapalnych testami immunoenzymatycznymi, ELISA, Western blot, zastosowanie specyficznych inhibitorów wewnątrzkomórkowych ścieżek przekazywania sygnałów, metody immunohistochemiczne).