Wpływ inhibitorów deacetylaz histonów na interakcje komórkowe mikroglej-neurony w modelu neonatalnej hipoksji-ischemii.

Komórki mikrogleju w fizjologicznych warunkach pozostają w bliskim kontakcie z neuronami i biorą udział w formowaniu oraz prawidłowym funkcjonowaniu połączeń synaptycznych. Utrzymywanie kontaktu mikrogleju z neuronami odbywa się za pośrednictwem białek obecnych na powierzchni obu typów komórek. Najważniejszymi z nich są połączenia glikoproteiny CD200 oraz chemokiny CX3CL1 zlokalizowanymi na powierzchni neuronu ze specyficznymi mikroglejowymi receptorami: CD200R i CX3CLR. Ponadto neurony wydzielają cały szereg substancji, które działają jako chemoatraktanty oraz wpływają na aktywację mikrogleju, z drugiej strony mikroglej wydzielając cytokiny i czynniki wzrostu wpływa na funkcjonowanie neuronów. Zaburzenie prawidłowych interakcji mikrogleju z neuronami w warunkach patologicznych, między innymi w modelu ogniskowej ischemii mózgu w zwierząt dorosłych prowadzi do aktywacji mikrogleju w kierunku prozapalnego fenotypu M1. Prowadzone przez nas badania wykazały, że jeden z inhibitorów deacetylaz histonów- maślan sodu zwiększa liczebność komórek mikrogleju/makrofagów o fenotypie M2, który uczestniczy w procesach naprawczych tkanki, a także redukuje liczbę komórek fenotypu M1 oraz obniża stężenie cytokiny pozapalnej IL-1β w mózgu zwierząt po neonatalnej hipoksji ischemii (HI). Mając na uwadze fakt, że HI może prowadzić do przerwania kontaktu mikrogleju z neuronami, modyfikacja interakcji tych komórek po zastosowaniu inhibitorów deacetylaz histonów (HDACi) może osłabić uszkodzenie komórek nerwowych i zredukować odpowiedź zapalną. Dlatego też **celem proponowanego projektu jest zbadanie wpływu wybranych inhibitorów HDAC na interakcje pomiędzy neuronami a mikroglejem w mózgach zwierząt po neonatalnej hipoksji ischemii**. Realizacja proponowanego projektu obejmie analizę wpływu wybranych HDACi na ekspresję molekuł łączących oba typy komórek - receptorów i ich ligandów CD200/CD200R1 oraz CX3CL1/CX3CR1. Ponadto podejmiemy próbę określenia roli mikrogleju w przebudowie połączeń synaptycznych w mózgu po HI w obecności badanych inhibitorów.

Metoda badawcza

Badania prowadzone będą z wykorzystaniem modelu okołoporodowej asfiksji *in vivo* oraz *in vitro* z zastosowaniem organotypowych hodowli skrawków mózgu, które zostaną poddane procedurze symulującej warunki ischemiczne (OGD, ang. oxygen glucose depriviation). Model asfiksji okołoporodowej, wykonywany u osesków 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). Zebrany materiał badawczy (ipsi- i kontralateralne półkule mózgu, skrawki organotypowe mózgu, pożywki hodowlane) poddany zostanie analizie ilościowej i jakościowej przy zastosowaniu technik molekularnych i biochemicznych (PCR w czasie rzeczywistym, testy immunoenzymatyczne ELISA, Western blot) a także przy użyciu technik mikroskopii konfokalnej oraz elektronowej.

Finansowanie: grant NCN 2017/27/B/NZ3/00582