

**Udar mózgu** stanowi poważny i stosunkowo częsty stan zagrażający życiu. Śmierć komórek w mózgu następuje przede wszystkim w ognisku niedokrwiennym, natomiast w obszarze otaczającym ognisko śmierć neuronów może wystąpić także wiele dni po urazie, pogłębiając skutki udaru. Podobnie, epizody krótkotrwałego niedokrwienia mózgu powodują postępujący w czasie ubytek neuronów. Podejrzewa się, że ta opóźniona śmierć neuronów może być spowodowana aktywacją lub zahamowaniem określonych ścieżek sygnałowych i że lepsze poznanie mechanizmów molekularnych prowadzących do opóźnionej śmierci neuronów może dać podstawę do opracowania terapii neuroprotektoryjnych, ograniczających śmierci neuronów po udarze. Wedle dotychczasowego stanu wiedzy, kluczowym elementem tych mechanizmów są mitochondria. Stanowią one podstawowe, a w komórce nerwowej jedyne źródło związków wysokoenergetycznych. Jednak na skutek braku tlenu i glukozy w przebiegu udaru w komórkach, które przeżyły ten epizod dochodzi do uszkodzenia mitochondriów, przez co z mitochondriów uwalniane są czynniki inicjujące szlaki sygnałowe prowadzące do tzw. programowanej śmierci komórki - apoptozy. Dlatego też wiele uwagi poświęca się zjawiskom bezpośrednio związanym z mitochondriami - selektywnemu usuwaniu uszkodzonych mitochondriów w procesie mitofagii oraz przeciwnemu procesowi polegającemu na odtworzeniu puli prawidłowych mitochondriów – ich biogenezie. Spośród wielu białek zaangażowanych w powyższe procesy, mitofuzyna 2 (Mfn2) wydaje się odgrywać szczególną rolę. Jest to białko obecne na błonie zewnętrznej mitochondrium oraz na powierzchni siateczki śródplazmatycznej, dzięki czemu uczestniczy w fuzji mitochondriów oraz tworzeniu połączeń pomiędzy mitochondriami i siateczką śródplazmatyczną. W różnych modelach eksperymentalnych wykazano, że ilość Mfn2 w komórkach po niedotlenieniu zmienia się, a jej nadekspresja przeciwdziałała śmierci neuronów.

**Mając na uwadze powyższe rozważania nadrzędnym celem projektu jest zbadanie roli mitofuzyny 2 w przeżyciu komórek nerwowych po krótkotrwałym niedokrwieniu, ze szczególnym uwzględnieniem mitofagii i biogenezy mitochondriów.** Chcemy zbadać, czy różna wrażliwość neuronów wobec przejściowego niedokrwienia może wynikać z różnego przebiegu mitofagii i biogenezy mitochondriów oraz jaki jest udział Mfn2 w przebiegu tych zjawisk.

**W tym celu zaproponowane badania zostaną podzielone na trzy zadania badawcze.** W pierwszej kolejności oceniona zostanie korelacja Mfn2 z przeżywalnością neuronów oraz przebiegiem mitofagii i biogenezy mitochondriów w dwóch obszarach hipokampa zwierząt u których eksperymentalnie indukowane będzie przejściowe niedokrwienie mózgu. Wiadomo, że neurony hipokampa w tym modelu badawczym wykazują różną wrażliwość na przejściowy bodziec niedokrwienny, tzn. że ten sam bodziec uszkadzający powoduje śmierć neuronów w jednym obszarze hipokampa a pozostaje bez wpływu na neurony w innym obszarze. Zadanie drugie ma na celu opisanie szczegółowej roli Mfn2 w przebiegu mitofagii i biogenezy mitochondriów po niedotlenieniu i będzie realizowane w modelach komórkowych obejmujących hodowlę pierwotną neuronów hipokampa oraz hodowlę ustalonej linii komórek nerwowych, w których ekspresja mitofuzyny 2 zostanie zahamowana. Natomiast zadanie trzecie ma na celu ocenę, czy krótkotrwały bodziec niedokrwienny zmienia oddziaływanie Mfn2 z białkami Ras, zaangażowanymi w ścieżki sygnałowe zmierzające zarówno do śmierci, jak i przeżycia komórki oraz jak to oddziaływanie wpływa na przeżywalność neuronów. Badania na poszczególnych etapach będą prowadzone za pomocą metod biochemicznych, mikroskopii elektronowej oraz z wykorzystaniem technik fluorescencyjnych.

**W wyniku realizacji niniejszego projektu spodziewamy się** lepiej poznać mechanizmy molekularne, które odpowiadają za przeżycie neuronów wobec bodźca uszkadzającego, co być może ułatwi w przyszłości opracowanie skutecznych terapii neuroprotektoryjnych, ograniczających skutki niedokrwienia mózgu u pacjentów. Jednocześnie spodziewamy się zweryfikować, czy Mfn2 poprzez udział w mitofagii oraz udział w ścieżkach przekazywania sygnału sprzyja przeżyciu neuronów. Ocenimy również, czy na skutek braku Mfn2 dojdzie do znaczącego upośledzenia funkcji mitochondriów i mitofagii oraz wtórnego zaburzenia ich biogenezy.