

Popularnonaukowe streszczenie projektu

Choroby neurodegeneracyjne, takie jak choroba Alzheimera (AD) i Parkinsona, są bardzo poważnym problemem zdrowia publicznego i wpływają na życie rosnącej liczby osób. Choć są odrębnymi jednostkami chorobowymi o odmiennych przyczynach powstania, uważa się, że bardzo ważną rolę odgrywają w nich procesy zapalne oraz mechanizmy genetyczne i epigenetyczne. W ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) układ odpornościowy jest reprezentowany przez komórki mikrogleju. Cechują się one dużą zmiennością, co wynika z ich wszechstronności w reagowaniu na zmiany zachodzące w mikrośrodkowisku. W odpowiedzi na wykryte zagrożenie mikroglej ulega aktywacji, przy czym jego fenotyp zależy od charakteru wykrytego bodźca i związanych z nim mediatorów (tzw. polaryzacja fenotypu). Procesy zapalne toczące się w obrębie OUN i towarzysząca im aktywacja mikrogleju kojarzone są powszechnie ze zmianami patologicznymi, gdyż mogą przyczynić się do uszkodzenia neuronów i neurodegeneracji, ale zapobieganie ich destrukcyjnym skutkom przez stosowanie aktualnie dostępnej farmakoterapii przeciwzapalnej nie zawsze jest skuteczne. Opracowanie skutecznych strategii terapeutycznych w leczeniu chorób, którym towarzyszą procesy zapalne w OUN, wymaga dogłębnego poznania molekularnych mechanizmów tych schorzeń. Procesy acetylacji i deacetylacji białek związanych z DNA są kluczowym epigenetycznym mechanizmem regulującym strukturę chromatyny i aktywność genów. Dzięki posiadaniu tzw. bromodomeny, białka z rodziny BET (ang. bromodomain and extra-terminal domain) rozpoznają acetylowane grupy lizynowe histonu H4 i innych acetylowanych białek, i inicjują tworzenie wielobiałkowych kompleksów regulujących aktywację lub represję transkrypcji genów. W komórkach człowieka (podobnie u myszy) wykryto 3 białka z tej rodziny, Brd2, Brd3 i Brd4. Niedawne opracowanie silnych i specyficznych inhibitorów białek BET zapoczątkowało serię badań nad ich rolą, szczególnie w chorobach nowotworowych, w których białka BET wpływają na ekspresję onkogenów i białek anty-apoptotycznych. Wyniki badań sugerują, że zahamowanie aktywności białek BET może wpływać na przebieg aktywacji procesów zapalnych. Analiza dostępnej literatury naukowej pozwala przypuszczać, że farmakologiczna regulacja funkcji białek z rodziny BET, poprzez wpływ na epigenetyczne mechanizmy regulacji transkrypcji, umożliwi modulację aktywności komórek mikrogleju polegającą nie tyle na hamowaniu, ile na odpowiedniej zmianie ich fenotypu. Badanie nie ogranicza się do obserwacji roli białek z rodziny BET w mikrogleju, ale jednocześnie będzie uwzględniać wpływ modyfikacji fenotypu mikrogleju na jego cytotoksyczną lub cytoprotekcyjną aktywność.

Celem projektu jest uzyskanie nowej wiedzy dotyczącej roli białek z rodziny BET w zależnych od mikrogleju procesach neurodegeneracji. W badaniach wykorzystany zostaną modele eksperymentalne *in vitro* i *in vivo*. Badania *in vitro* umożliwią analizę zarówno bezpośredniego, jak i pośredniego (przez uwalnianie do medium hodowlanego mediatora) działania mikrogleju na neurony. Aktywacja mikrogleju (linia nieśmiertelnych komórek mikrogleju myszy BV2) będzie indukowana przy użyciu amyloidu beta (A β), który odgrywa istotną rolę w patomechanizmach m.in. AD. Aktywny mikroglej lub medium inkubacyjne aktywnego mikrogleju przenoszony będzie do szalek hodowlanych z liniami komórek o fenotypie neuronów (linia HT22), co umożliwi zbadanie różnych aspektów interakcji pomiędzy mikroglejem i neuronami. Planowana jest analiza roli białek z rodziny BET w aktywacji komórek mikrogleju, analiza wpływu inhibicji białek z rodziny BET na aktywność mikrogleju, na uszkodzenie neuronów spowodowane aktywacją mikrogleju w ko-kulturze oraz przez mediatora uwalnianego do medium. Badane będą np. ekspresja i modyfikacje potranslacyjne białek BET, ekspresja markerów aktywacji i fenotypu mikrogleju, uwalnianie wolnych rodników, metabolitów kwasu arachidonowego, cytokin, chemokin, czynników troficznych, składników układu dopełniacza, aktywność czynników transkrypcyjnych, procesy poli(ADP-rybozylacji), aktywność fagocytarna, zmiany białek synaptycznych i czynników troficznych, przeżywalność neuronów, procesy apoptozy, fagoptozy. Poprzez zastosowanie genetycznych i farmakologicznych metod hamowania aktywności białek BET badany będzie ich udział w obserwowanych zjawiskach. Podobne badania prowadzone będą *in vivo* na zwierzęcym modelu przewlekłych procesów zapalnych w OUN, które powodują powstanie w mózgu zaburzeń typowych dla AD.

Wyniki badań dostarczą nowej wiedzy na temat patomechanizmów choroby Alzheimera, a także mogą potencjalnie przyczynić się do opracowania w przyszłości nowych metod terapii. Wyniki te mogą się też okazać ważne ze względu na pogłębienie wiedzy dotyczącej roli białek BET w regulacji układu odpornościowego. Informacje dotyczące działania inhibitorów białek BET mogą się okazać przydatne także poza obszarem chorób neurodegeneracyjnych ze względu na prowadzone obecnie próby kliniczne zastosowania inhibitorów białek BET w terapii innych chorób.