

Neurodegeneracja to proces obumierania komórek nerwowych na skutek działania czynników zewnętrznych (np. niedokrwienie) lub wewnętrznych (np. wrodzone lub postępujące z wiekiem zaburzenia czynności neuronów). Specyficzną cechą neuronów ośrodkowego układu nerwowego jest brak zdolności do spontanicznej regeneracji – wszystkie procesy neurodegeneracyjne, bez względu na swoją przyczynę, są tu nieodwracalne. Proces ten stanowi podłoże wielu chorób ośrodkowego układu nerwowego, takich jak choroba Alzheimera, stwardnienie rozsiane czy udary. Neurodegeneracja leży też u podstawy jaskry, w przebiegu której obumierają komórki zwojowe siatkówki – odpowiedzialne za przekazywanie do mózgu bodźców wzrokowych rejestrowanych przez oko. Biorąc pod uwagę globalny proces starzenia się społeczeństw i rosnącą częstość występowania chorób związanych z wiekiem, zrozumienie mechanizmów procesów neurodegeneracyjnych stało się celem pracy wielu naukowców, chcących opracować coraz lepsze metody leczenia tego typu schorzeń. W ostatnich latach pojawiło się wiele doniesień dotyczących udziału estrogenów (głównych hormonów płciowych u kobiet) oraz selektywnych modulatorów receptora estrogenowego (ang. SERM – syntetyczne substancje działające na konkretny receptor estrogenowy, pozbawione typowych dla estrogenów działań niepożądanych) w procesach związanych z neurodegeneracją. Udział w tych procesach związany jest z interakcją estrogenów z wewnątrzkomórkowymi szlakami przekazywania informacji, głównie szlakiem FasR/FasL (odpowiedzialnym za procesy apoptozy, czyli zaprogramowanej, „samobójczej” śmierci komórki). Uważa się, iż estrogeny wywierają działanie ochronne na neurony, a ich znacząco obniżony poziom, np. w okresie pomenopauzalnym, sprzyja rozwojowi chorób neurodegeneracyjnych. Celem naszego badania jest ocena neuroprotekcynowego działania 17β estradiolu (główny estrogen), raloxifenu (lek należący do SERM) i ONL1204 (białko hamujące szlak FasR/FasL) na siatkówkę szczura poddaną sztucznie wywołanemu niedokrwieniu. Niedokrwienie, wywoływane przez podwyższone ciśnienie wewnątrzgałkowe, prowadzi do śmierci komórek zwojowych siatkówki i innych neuronów. Jest to przydatny model zwierzęcy naśladujący wszystkie choroby naczyniowe siatkówki i nerwu wzrokowego, przebiegające z niedokrwieniem. W pierwszym etapie badania przeprowadzona zostanie ocena wpływu chirurgicznie wywołanej menopauzy na czynność siatkówki w aspekcie rejestracji jej odpowiedzi na bodźce wzrokowe i na liczbę komórek zwojowych w siatkówce. Zwierzęta zostaną podzielone na dwie grupy, z których jedna poddana zostanie zabiegowi ovariectomii (usunięcia jajników, prowadzącego do gwałtownego obniżenia się poziomu estrogenów w surowicy krwi), a druga stanowiła będzie kontrolę. Obie grupy zostaną podzielone na dwie podgrupy, w których jedna poddana zostanie modelowi niedokrwienia siatkówki, poprzez podwyższenie ciśnienia wewnątrzgałkowego. Zwierzęta wykonane będą miały badania ERG (elektroretinografia – obiektywna metoda oceny funkcji siatkówki oka), następnie poddane zostaną eutanazji. W siatkówkach zwierząt oceniona zostanie (przez manualne liczenie na zdjęciach mikroskopowych) liczba komórek zwojowych siatkówki. Dane zostaną poddane analizie statystycznej i porównane między grupami. Spodziewanym rezultatem jest większa przeżywalność komórek zwojowych siatkówki i lepsze funkcjonowanie siatkówki w grupie nie poddanej ovariectomii, co będzie stanowić pośredni dowód neuroprotekcynowego działania estrogenów na komórki zwojowe siatkówki. Drugi etap badania zostanie podzielony na część *in vivo* oraz *ex vivo*, w obu częściach zasady dzielenia zwierząt na grupę badaną i kontrolną są takie same jak w pierwszym etapie badań. W części *ex vivo*, siatkówki pobrane od zwierząt zostaną umieszczone w warunkach hodowli tkankowej i eksponowane będą na działanie badanych substancji (17β estradiol, raloxifen i ONL1204) dodanych do pożywki hodowlanej, a następnie poddane analizie mikroskopowej, frakcjonowaniu i analizie metodą Western Blot oraz badaniu aktywności LDH w medium hodowlanym. Pozwoli to ustalić wpływ badanych substancji na przeżywalność neuronów, w tym komórek zwojowych siatkówki w warunkach ostrego uszkodzenia (symulowanym przez sam proces izolacji siatkówki z oka). W części *in vivo*, grupa badana i kontrolna zostanie podzielona na podgrupy z których każda będzie leczona jedną z badanych substancji (raloxifen będzie podawany doustnie, 17β estradiol i ONL1204 – do ciała szklistego) oraz kontrolowana w badaniach ERG. W następnym etapie wywołane zostanie niedokrwienie siatkówki, kontynuowane będzie podawanie wybranych substancji oraz badań ERG i finalnie – eutanazja zwierząt wraz z badaniami mającymi na celu ocenę przeżywalności komórek zwojowych siatkówki z porównaniem między grupami. Spodziewamy się zwiększonej przeżywalności komórek po ekspozycji na badane substancje świadczącej o ich neuroprotekcynowym działaniu i możliwości potencjalnego wykorzystania u ludzi jako leki w terapii niedokrwienia siatkówki.