

Do prawidłowego rozwoju ośrodkowego układu nerwowego (OUN) niezbędna jest homeostaza w środowisku tkankowym. W rozwijającym się mózgowiu, obok procesów neurogenezy przebiega gliogeneza, w wyniku której powstają komórki glejowe wspierające neurony w ich prawidłowym funkcjonowaniu. Wśród komórek glejowych wyróżnić można oligodendrocyty odpowiedzialne za mielinizację OUN, zapewniające zarówno mechaniczną osłonę włókien nerwowych, jak i szybki przepływ impulsów. Komórki mikrogleju pełnią natomiast funkcje fagocytarne, będąc pierwszą linią odpowiedzi komórkowej na wszelakie uszkodzenia, a jak pokazują najnowsze badania odgrywają również bardzo ważną rolę w dojrzewaniu progenitorów oligodendrocytów (OPCs) i w procesie mielinogenezy. Wyróżniamy dwa fenotypy mikrogleju: M1 – tzw. prozapalny oraz M2 – przeciwzapalny. Zarówno oligodendrocyty, jak i mikroglej są niezwykle wrażliwe na jakiegokolwiek zmiany występujące w mikrośrodowisku, takie jak np. niedobór tlenu czy substancji energetycznych, co może prowadzić do nieodwracalnych uszkodzeń komórek.

Asfiksja neonatalna/encefalopatia niedotlenieniowo-niedokrwienna (HIE) powoduje uszkodzenie mózgu i w efekcie rozwój wielu chorób neurologicznych, co skutkuje pogorszeniem jakości życia. Problem ten dotyczy 4-6% noworodków urodzonych w terminie i ok. 10% wcześniaków. Jak wskazują dane statystyczne, HIE jest najczęstszą przyczyną śmierci dzieci poniżej piątego roku życia. W efekcie hipoksji-ischemii (HI) dochodzi do zaburzenia homeostazy w tkance nerwowej oraz zakłócenia neuro- i gliogenezy, co prowadzi m.in. do zatrzymania dojrzewania OPCs i rozwoju stanu zapalnego w tkance nerwowej. Obecnie stosuje się jedynie umiarkowaną hipotermię dla złagodzenia uszkodzeń, ponieważ nie ma innego lekarstwa a mechanizm ich powstawania nie jest dobrze poznany.

Jak pokazują badania, zarówno oligodendrocyty, jak i mikroglej wydzielają szereg substancji, mogących modulować mikrośrodowisko tkankowe. Nasze badania wstępne pokazały, że czynniki wydzielane przez mikroglej promują wzrost proliferacji OPCs – proces ten jest jednak hamowany w następstwie HI. Uraz niedokrwiennie-niedotlenieniowy silnie wpływa także na profil sekrecyjny mikrogleju i OPCs. Wzajemne interakcje między tymi komórkami mogą być kluczowe do inicjacji mechanizmów neuronaprawczych, właśnie dzięki wzajemnemu modulowaniu aktywności sekrecyjnej obu typów komórek glejowych. Ponadto, obiecujące wydaje się zbadanie czynnika neuroprotekcijnego o właściwościach immunomodulujących, jakim jest grelina. Grelina jest endokrynnym peptydem przenikającym barierę krew-mózg i redukującym stres oksydacyjny wywołany HI. Jak dotąd, nie zbadano jednak jej wpływu na interakcje oligodendrocyty-mikroglej.

Głównym celem proponowanego projektu jest zatem zbadanie oddziaływań zachodzących między oligodendrocytami a mikroglejem oraz analiza wpływu HI na wczesne etapy rozwoju OUN. Kluczowym punktem badań będzie identyfikacja czynników wydzielanych do pożywki hodowlanej, mających znaczący wpływ na oddziaływania oligodendrocyty-mikroglej oraz zbadanie potencjału neuroprotekcijnego greliny, dzięki czemu możliwe stanie się wskazanie punktów uchwytu dla potencjalnych terapii regeneracyjnych oraz próba poznania niezbadanego dotąd mechanizmu zaburzeń rozwoju UN po HI.

Zaplanowano szereg eksperymentów opartych na zaawansowanych technikach badawczych, pozwalających zbadać jakie interakcje zachodzą między oligodendrocytami a mikroglejem w warunkach normoksji fizjologicznej (5% O₂) i w warunkach obniżonego stężenia tlenu (z ang. OGD – oxygen-glucose deprivation), imitujących HI oraz jaki jest ich mechanizm działania. Planujemy zbadać immunomodulacyjny i neuroprotekcynny potencjał greliny oraz aktywność wydzielniczą oligodendrocytów i mikrogleju (zarówno w monokulturach, jak i we współhodowlach obu typów komórek) w modelu asfiksji neonatalnej *in vitro* oraz przeanalizować szereg cytokin i czynników troficznych, zarówno w komórkach, jak i tych uwalnianych do pożywki hodowlanej. Pozwoli nam to ocenić wpływ zmiany aktywności sekrecyjnej na przeżycie, proliferację i różnicowanie komórek. Planujemy również zbadać wpływ HI i podawania greliny szczurzym oseskom na polaryzację mikrogleju w modelu *in vivo* w kontekście wpływu mikrogleju na efektywność mielinizacji, co pozwoli na zbadanie, jaki fenotyp mikrogleju przeważa w rozwijającym się mózgu po HI. Zaplanowane badania pozwolą zarówno poznać podstawowe mechanizmy odpowiedzi komórkowej uruchamiane w wyniku asfiksji okołoporodowej, jak i wskazać możliwe cele terapeutyczne.