

1. Raziskovalna organizacija (*Research organisation*):

Univerza v Ljubljani, *Medicinska fakulteta, Laboratorij za nevroendokrinologijo-molekulska celično fiziologijo, Inštitut za patofiziologijo*

2. Ime in priimek mentorja (*Name and surname of a mentor*):

Robert Zorec

3. Področje znanosti iz šifranta ARRS (*Primary research field*):

3.03. Medicinske vede. Nevrobiologija

4. Kontaktni e-naslov mentorja (*Contact of a mentor*):

robert.zorec@mf.uni-lj.si

5. Kratek opis programa usposabljanja (*Short description of the program*):

Cilj predloga raziskav za usposabljanje mladega raziskovalca/ke je v pridobitvi novih znanj o mehanizmih, kako astrociti prispevajo k signaliziranju v možganih v normalnih in patoloških razmerah.

Neokorteks predstavlja več kot 80% mase človeških možganov. A ta struktura ni sestavljena le iz nevronov. Nasprotno, sestoji predvsem iz ne-nevronov, med katerimi so tudi astrociti. Te heterogene celice glije so sicer električno neaktivne, a so vzdražne na nek drug, poseben način. Vzdražnost sestoji iz povečane koncentracije drugotnih (sekundarnih) prenašalcev, kamor sodita citosolna koncentracija kalcija in cikličnega AMP. Astrociti, ključne celice v možganih, ki vzdržujejo homeostazo v osrednjem živčnem sistemu (CNS), se vzdražijo, ko se v zunajceličnem prostoru pojavijo primarni prenašalci (izločijo se lahko iz nevronov ali iz drugih celic) ter se vežejo na receptorje na plazmalem in/ali v znotrajceličnih strukturah. Vzdraženi astrociti se aktivirajo glede več funkcij, med temi so procesi, ki vzdržujejo dovoljšne količine energije in tudi procesi sproščanja signalnih molekul iz astrocitov. Med mehanizme sproščanja glijasignalov sodi tudi mehanizem, kjer sodelujejo mešički. Ti lahko skladiščijo signalne molekule, ki se sprostijo v zunajcelični prostor ob zlitju membrane mešička s plazmalemo. Pri tem nastane fuzijska pora, ozek, z vodnimi molekulami napolnjen kanal, prek katerega se signalne molekule prenesejo iz lumna mešička v zunajcelični prostor. V kolikor pa so receptorji ali transporterji vgrajeni v membrano mešička, potem se ob spojitvi membrane mešička s plazmalemo, le-ti prestavijo v plazmalemo, s čimer se uravnava signalna narava površine astrocitov. Narava signalne površine astrocita pa se spremeni v patoloških razmerah, med nevrot travmo, v razvojnih in nevrodegenerativnih procesih. Cilj predlaganega projekta je, da mladi raziskovalec, oz. mlada raziskovalka, prispeva k novim pogledom, kako dinamika mešičkov vpliva na nevroinflamatorne procese med nevrodegeneracijo.

V ta namen bomo pripravili kulturo astrocitov oziroma bomo uporabili organotipično kulturo možganskih rezin. Da bomo aktivirali antigen prezentirajočo funkcijo astrocitov, ki se razvije med nevroinflamatornimi procesi, bomo astrocite izpostavili citokinom in/ali interferonu gama. V takšnih razmerah bomo študirali transport mešičkov v posamezni celici s fluorescenčnimi označevalci za specifične subcelične kompartmente. Interakcijo posameznih subceličnih organelov s plazmalemo bomo merili tudi elektrofiziološko s spremljanjem membranske kapacitete. Za identifikacijo subceličnih organelov bomo uporabili imunocitokemijo in protitelesa proti antigenom v lumnu mešičkov ali proti antigenom v membrani mešičkov. Ker nekateri metaboliti, kakor npr. L-laktat delujejo nevroprotektivno, bomo študirali vpliv agonistov in antagonistov za receptor GPR81 oz. sorodnih receptorjev in opazovali modulacijo nevroinflamatornega odgovora. Vprašali se bomo ali ima tudi aktivacija adrenergičnih receptorjev prek noradrenalina, ki se izloča difuzno in nevronov jedra locus coeruleus, enak učinek.

Predlagane študije bodo prispevale k konceptualno novemu znanju o tem, kako se astrociti odzovejo na nevroinflamatorne razmere. Uspešni kandidat bo tako izpostavljen ne le osrednjim znanstvenim izzivom na področju nevroznanosti, pač pa tudi delu v laboratorijih z najmodernejšo opremo in tehnologijami za študij patofiziologije nevroloških obolenj na molekularni in celični ravni. To je nujno potrebno za prepotrebne translacije temeljnih raziskav v terapevtsko prakso.

The aim of this PhD training is to advance the knowledge of how astrocytes contribute to the brain signaling via vesicle dynamics in health and disease.

Neocortex represents 80% of the human brain mass. However, this structure consists of mainly non-neuronal cells, which include astrocytes. While these highly heterogeneous glial cells are electrically silent, they exhibit a special form of excitability, represented by increases in cytoplasmic levels of secondary messengers, such as calcium and cAMP. These key homeostatic cells of the central nervous system (CNS) get excited when extracellular signaling molecules (released by neurons and non-neuronal cells) bind to the receptors located at the plasma membrane and/or in the subcellular structures. This may then lead in many functional changes, including the activation of energy providing metabolism and the release of gliosignaling molecules into the extracellular space by various mechanisms. The latter processes consist also of vesicle-based release, where vesicle membrane merges with the plasma membrane, leading to the formation of the fusion pore, a water-filled channel, through which vesicle cargo can exit the vesicle. Moreover, vesicle merger with the plasma membrane may lead to the exposure of molecules within the vesicle membrane to the extracellular space. In this way the surface signaling landscape of astrocytes is determined. In pathological conditions including neurotrauma, neurodevelopment and neurodegeneration, the signaling capacity of astrocytes is altered. The aim of this project for a young researcher is to get novel insights into the vesicle dynamics during neuroinflammation associated with neurodegeneration.

Therefore, astrocytes will be produced in culture or studied in brain slices. To activate the antigen presenting function of astrocytes as occurs during neuroinflammation, astrocytes will be exposed to cytokines and/or interferon gamma. Then vesicle traffic will be studied by fluorescently labelling vesicular compartments and the interaction of these compartments with the plasma membrane will be studied by electrophysiology – by membrane capacitance measurements. To identify the compartments, we will use immunocytochemistry, antibodies against antigens within the lumen of vesicles or on the vesicular membrane. Here super-resolution microscopy together with confocal and wide-field fluorescence microscopy will be used. Since some metabolites, such as L-lactate act as neuroprotective agents, we will study whether L-lactate receptor GPR81 agonists (and antagonists) modulate inflammatory response in astrocytes and whether this can be mimicked by the action of noradrenaline, released diffusively from locus coeruleus neurones.

These studies will bring conceptually new knowledge of how astrocytes respond to neuroinflammatory conditions. The successful candidate will thus be exposed to grand challenges in neurosciences in a laboratory setting with most modern instrumentation and technology to study pathophysiology of neurological diseases.