

Progetto di Ricerca

RICHIESTA DI UN ASSEGNO DI RICERCA PRIN 2022

TUTOR: DOMENICO TUPONE

Titolo: Studio elettrofisiologico delle strutture nervose che controllano la temperatura corporea in risposta all'infiammazione conseguente a emorragia subaracnoidea.

Stato dell'arte

La febbre neurogenica (FN) è un'ipertermia che emerge in risposta all'emorragia subaracnoidea (ESA), ed altre patologie ischemiche e non risponde a trattamenti antipiretici convenzionali. La FN aumenta notevolmente il rischio di mortalità e contribuisce negativamente sugli esiti di recupero del paziente. Inoltre, un aumento della temperatura cerebrale provoca un maggiore metabolismo neuronale e gliale, aumentando la richiesta di ossigeno ed aggravando il danno al cervello causato da ischemia.

Nonostante siano ancora molto limitate le conoscenze sui meccanismi sottostanti alla generazione della FN, studi recenti hanno indicato che alcune componenti ematiche rilasciate durante ESA vengano in contatto con aree cerebrali devote al controllo della temperatura corporea, causando l'attivazione della FN (Tupone et al., 2021).

Le terapie attualmente disponibili per la il trattamento della FN sono inefficaci e pertanto è fondamentale approfondire la comprensione dei meccanismi nervosi centrali che attivano la FN in risposta della presenza di sangue nello spazio subaracnoideo (Zhang et al., 2011).

Scopo del progetto

Questo progetto mira a descrivere i centri del sistema nervoso centrale coinvolti nella generazione e nel controllo della FN.

Procedure sperimentali

Tutti gli esperimenti verranno condotti nel ratto e saranno divisi in studi anatomici e studi elettrofisiologico dei circuiti centrali coinvolti nella generazione e nel controllo della FN. Gli studi anatomici richiedono l'iniezione di traccianti a livello di strutture cerebrali di interesse attraverso l'utilizzo di un apparecchio stereotassico e sistemi di iniezione automatici.

Gli studi funzionali verranno effettuati su animali anestetizzati e nel quale verranno misurate diverse variabili fisiologiche e le loro risposte (es. attivazione del sistema nervoso simpatico, frequenza cardiaca, temperatura) alla presenza di sangue autologo, o di sue frazioni, a livello subaracnoideo. Inoltre, si procederà alla misura delle variazioni di mediatori dell'infiammazione, in risposta ad emorragia subaracnoidea.

Piano Sperimentale

Obiettivo 1. Esperimenti anatomico funzionali per lo studio dei circuiti nervosi.

Prevede l'uso di traccianti per identificare le vie nervose coinvolte nella generazione di FN in risposta ad emorragia subaracnoidea.

Obiettivo 2. Esperimenti elettrofisiologici e neurofarmacologici in vivo.

Entrambi gli esperimenti, in gran parte di natura terminale, prevedono l'utilizzo di tecniche elettrofisiologiche, farmacologiche, optogenetiche e chemogenetiche per identificare i circuiti coinvolti nella generazione della FN. Successivamente ad un periodo di recupero dell'animale per garantire l'espressione del tracciante, ogni ratto entrerà nel protocollo sperimentale che prevede due opzioni: 1) iniezione di sangue autologo nello spazio subaracnoideo ed espressione del marker di attivazione neuronale Fos, 2) ingresso nel protocollo sperimentale per gli studi funzionali che prevede la registrazione di diverse variabili fisiologiche e della loro risposta alla presenza di sangue autologo, o di sue frazioni, a livello subaracnoideo. Alla fine di ogni esperimento, i cervelli verranno sottoposti a trattamento immunoistochimico, per il rilevamento dei traccianti, dei

marker di attività neuronale (Es. proteina Fos) e per la fenotipizzazione dei neuroni coinvolti nelle riposte febbrili indotte da emorragia subaracnoidea.

Le variazioni dei mediatori dell'infiammazione ematici o del liquido cerebrospinale, verranno misurati con tecniche luminex multiplex assays.

Piano di Attività

L'attività dell'assegnista consisterà in:

- Microchirurgia cranio-encefalica per la somministrazione di sostanze a livello nervoso centrale.
- Impianto di sensori telemetrici e non, per la rilevazione delle variabili elettrofisiologiche.
- Registrazione di nervi simpatici del tessuto adiposo bruno.
- RegISTRAZIONI di attività unitaria neuronale
- Utilizzo di tecniche di optogenetica e chemogenetica
- Esecuzione delle procedure immunostochimiche
- Analisi ed interpretazioni dei dati.

Bibliografia

1. Zhang G., et al., Fever increased in-hospital mortality after subarachnoid hemorrhage. Acta Neurochir Suppl, 2011
2. Tupone D., et al., In a model of SAH-induced neurogenic fever, BAT thermogenesis is mediated by erythrocytes and blocked by agonism of adenosine A1 receptors. Sci Rep, 2021