

Yontucuların Yontusu: Fetal Kolinerjik İşaretleşmenin Sistemler ve Hücre Ölçeğinde Etkisini İnceleme Yöntemleri

Çeviri: Dr. Yusuf TAMAM

Özet

Kolinerjik işaretleşmenin nöronal olmayan, immünolojik etkileri, gözlenen sistem ölçeğinde vagus siniri ile, hücre ölçeğinde periferdeki miyeloid hücrelere veya beyin mikrogliya ve astrositlerine işaret gönderen $\alpha 7$ nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR) üzerinden uygulanır. Bu tür çok-skala işaretleşmenin gelişimsel etkileri psikonöroimmünolojik (PNI) homeokinezinin bir örneği olarak ele alınabilir ve literatürde yer almasına karşın henüz sistematik olarak iyi bir şekilde çalışılmamıştır. Daha iyi anlaşılması için bu çok-skala etkileşimlerin iç içe geçmişliği karşılıkları olan pre-klinik hayvan modelleri gerektirir. Kronik olarak aygıt takılmış, anestezi altında olmayan fetal kuzu modeli tezgah-tan-yatağa translasyonu ait güçlü bir izleme kaydı ve farklı örgütlenme skalalarına göre insan fizyolojisi için güçlü benzerlik ve karşılıklarıya kendisini kanıtlamıştır. Yakın tarihlerde vagus sinir uyarılmasının (VNS) doğmalık bağışıklık, metabolizma ve duygular gibi çeşitli organ sistemleri ve PNI fenotipinin programlanmasına olan pleiotropik etkileri giderek artan bir ilgiye mazhar olmuştur. Burada, memeli organizmasında vagus sinir aktivitesinin kaydı ve manipülasyonu için gereken işlem anlatılmaktadır. Bu in vivo modeli hücre seviyesinde in vitro modele dönüştürerek koyun fetal mikrogliya ve astrositlerdeki işaretleşmeyi manipüle etmede ve bunların yanıtlarının protein ve RNA düzeyinde analiz edilmesinde kullanılacak bir yöntem sunmaktayız. Bir araya getirilen bu modeller kolinerjik işaretleşmenin PNI fenotipi üzerine olan etkilerine çoklu-skala düzeyinde mekanik bir bakış sağlayabilir.

Anahtar sözcükler Vagus siniri, Vagotomi, Sinir uyarılması, ENG, Hayvan modeli, Fizyoloji, Cerrahi, Kronik deneyleme, Mültivariyant veri edinilmesi, Sinir bilim

1 Giriş

Vagal sinir uyarılması (VNS) ilaca dirençli epilepsi tedavisi için uzun zamandır kullanılmaktadır [1]. Çok daha yakın tarihlerde, klinik olarak iyi tolere edilen bu tedavi yaklaşımı çok sayıda hayvan deneysel modellerine ve beyinin doğal immün sistemi denetlemesini içeren bir dizi tablonun tedavisi için klinik denemelere kadar genişletilmiştir [2]. Bu yaklaşımın altında yatan mantık vagus sinirlerinin

şükran borçludurlar. Yazarlar sağladıkları teknik yardım için Esther Simard, Marco Bosa, Carl Bernard, Dr. Lucien Daniel Durosier, Hai Lun Liu ve Carmen Movila ile grafik tasarımı için Jan Hamanishi'ye de teşekkür ederler.

Kaynaklar

1. Fraschini M, Demuru M, Puligheddu M, Floridia S, Polizzi L, Maleci A, Bortolato M, Hillebrand A, Marrosu F (2014) The re-organization of functional brain networks in pharmaco-resistant epileptic patients who respond to VNS. *Neurosci Lett* 580:153–157
2. Kwan H, Garzoni L, Liu HL, Cao M, Desrochers A, Fecteau G, Burns P, Frasch MG (2016) VNS in inflammation: systematic review of animal models and clinical studies. *Bioelectron Med* 3:1–6
3. Wang X, Rousset CI, Hagberg H, Mallard C (2006) Lipopolysaccharide-induced inflammation and perinatal brain injury. *Semin Fetal Neonatal Med* 11:343–353
4. Gotsch F, Romero R, Kusanovic JP, Mazaiki-Tovi S, Pineles BL, Erez O, Espinoza J, Hassan SS (2007) The fetal inflammatory response syndrome. *Clin Obstet Gynecol* 50:652–683
5. Svedin P, Kjellmer I, Welin AK, Blad S, Mallard C (2005) Maturation effects of lipopolysaccharide on white-matter injury in fetal sheep. *J Child Neurol* 20:960–964
6. Nitsos I, Rees SM, Duncan J, Kramer BW, Harding R, Newnham JP, Moss TJ (2006) Chronic exposure to intra-amniotic lipopolysaccharide affects the ovine fetal brain. *J Soc Gynecol Investig* 13:239–247
7. Yan E, Castillo-Melendez M, Nicholls T, Hirst J, Walker D (2004) Cerebrovascular responses in the fetal sheep brain to low-dose endotoxin. *Pediatr Res* 55:855–863
8. Burns P, Liu HL, Kuthiala S, Fecteau G, Desrochers A, Durosier LD, Cao M, Frasch MG (2015) Instrumentation of near-term fetal sheep for multivariate chronic non-anesthetized recordings. *J Vis Exp* (105): e52581
9. Carmel E, Burns P, Durosier D, Duchatellier C, Cao M, Desrochers A, Fecteau G, Frasch M (2012) Fetal brain MRI- experiences in the ovine model of cerebral inflammatory response. *Reprod Sci* 19 (3):347A–348A
10. Pavlov VA, Tracey KJ (2012) The vagus nerve and the inflammatory reflex—linking immunity and metabolism. *Nat Rev Endocrinol* 8:743–754
11. Pavlov VA, Tracey KJ (2015) Neural circuitry and immunity. *Immunol Res* 63:38–57
12. Hosoi T, Okuma Y, Nomura Y (2000) Electrical stimulation of afferent vagus nerve induces IL-1 β expression in the brain and activates HPA axis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279:R141–R147
13. Farrokhi CB, Tovote P, Blanchard RJ, Blanchard DC, Litvin Y, Spiess J (2007) Cortagine: behavioral and autonomic function of the selective CRF receptor subtype 1 agonist. *CNS Drug Rev* 13:423–443
14. Porges SW (1995) Cardiac vagal tone: a physiological index of stress. *Neurosci Biobehav Rev* 19:225–233
15. Porges SW (2009) The polyvagal theory: new insights into adaptive reactions of the autonomic nervous system. *Cleve Clin J Med* 76(Suppl 2):S86–S90
16. Que CL, Kenyon CM, Olivenstein R, Macklem PT, Maksym GN (2001) Homeokinesis and short-term variability of human airway caliber. *J Appl Physiol* (1985) 91:1131–1141
17. Clancy JA, Mary DA, Witte KK, Greenwood JP, Deuchars SA, Deuchars J (2014) Non-invasive vagus nerve stimulation in healthy humans reduces sympathetic nerve activity. *Brain Stimul* 7:871–877
18. Liu RP, Fang JL, Rong PJ, Zhao Y, Meng H, Ben H, Li L, Huang ZX, Li X, Ma YG, Zhu B (2013) Effects of electroacupuncture at auricular concha region on the depressive status of unpredictable chronic mild stress rat models. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013:789674
19. Ylikoski J, Lehtimäki J, Pirvola U, Makitie A, Aarnisalo A, Hyvärinen P, Ylikoski M (2017) Non-invasive vagus nerve stimulation reduces sympathetic preponderance in patients with tinnitus. *Acta Otolaryngol* 137(4):426–431
20. Frangos E, Ellrich J, Komisaruk BR (2015) Non-invasive Access to the vagus nerve central projections via electrical stimulation of the external ear: fMRI evidence in humans. *Brain Stimul* 8:624–636
21. Diz-Chaves Y, Pernia O, Carrero P, Garcia-Segura LM (2012) Prenatal stress caus-

- es alterations in the morphology of microglia and the inflammatory response of the hippocampus of adult female mice. *J Neuroinflammation* 9:71
22. Diz-Chaves Y, Astiz M, Bellini MJ, Garcia-Segura LM (2013) Prenatal stress increases the expression of proinflammatory cytokines and exacerbates the inflammatory response to LPS in the hippocampal formation of adult male mice. *Brain Behav Immun* 28:196–206
 23. Slusarczyk J, Trojan E, Glombik K, Budziszewska B, Kubera M, Lason W, Popiolek-Barczyk K, Mika J, Wedzony K, Basta-Kaim A (2015) Prenatal stress is a vulnerability factor for altered morphology and biological activity of microglia cells. *Front Cell Neurosci* 9:82
 24. Cortes M, Cao M, Liu HL, Burns P, Moore C, Fecteau G, Desrochers A, Barreiro LB, Antel JP, Frasch MG (2017) RNAseq profiling of primary microglia and astrocyte cultures in near-term ovine fetus: a glial in vivo-in vitro multi-hit paradigm in large mammalian brain. *J Neurosci Methods* 276:23–32
 25. Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Watkins LR, Wang H, Abumrad N, Eaton JW, Tracey KJ (2000) Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* 405:458–462
 26. Cao M, Cortes M, Moore CS, Leong SY, Durosier LD, Burns P, Fecteau G, Desrochers A, Auer RN, Barreiro LB, Antel JP, Frasch MG (2015) Fetal microglial phenotype in vitro carries memory of prior in vivo exposure to inflammation. *Front Cell Neurosci* 9:294
 27. Cortes M, Cao M, Liu HL, Moore CS, Durosier LD, Burns P, Fecteau G, Desrochers A, Barreiro LB, Antel J (2017) $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor signaling modulates the inflammatory and iron homeostasis in fetal brain microglia. *bioRxiv*:097295
 28. Shytle RD, Mori T, Townsend K, Vendrame M, Sun N, Zeng J, Ehrhart J, Silver AA, Sanberg PR, Tan J (2004) Cholinergic modulation of microglial activation by $\alpha 7$ nicotinic receptors. *J Neurochem* 89:337–343
 29. Frasch MG, Szykaruk M, Prout AP, Nygard K, Cao M, Veldhuizen R, Hammond R, Richardson BS (2016) Decreased neuroinflammation correlates to higher vagus nerve activity fluctuations in near-term ovine fetuses: a case for the afferent cholinergic anti-inflammatory pathway? *J Neuroinflammation* 13:103
 30. Durafour BA, Moore CS, Blain M, Antel JP (2013) Isolating, culturing, and polarizing primary human adult and fetal microglia. *Methods Mol Biol* 1041:199–211
 31. Langmead B, Salzberg SL (2012) Fast gappedread alignment with Bowtie 2. *Nat Methods* 9:357–359
 32. Kim D, Pertea G, Trapnell C, Pimentel H, Kelley R, Salzberg SL (2013) TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. *Genome Biol* 14:R36
 33. Anders S, Pyl TP, Huber W (2015) HT-Seq—a python framework to work with highthroughput sequencing data. *Bioinformatics* 31(2):166–169
 34. Love MI, Huber W, Anders S (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-Seq data with DESeq2. *Genome Biol* 15(12):550
 35. Warnes GR (2008) Gplots: various R programming tools for plotting data
 36. Chen J, Bardes EE, Aronow BJ, Jegga AG (2009) ToppGene Suite for gene list enrichment analysis and candidate gene prioritization. *Nucleic Acids Res* 37:W305–W311
 37. Kaimal V, Bardes EE, Tabar SC, Jegga AG, Aronow BJ (2010) ToppCluster: a multiple gene list feature analyzer for comparative enrichment clustering and network-based dissection of biological systems. *Nucleic Acids Res* 38:W96–W102
 38. Franceschini A, Szklarczyk D, Frankild S, Kuhn M, Simonovic M, Roth A, Lin J, Minguez P, Bork P, von Mering C, Jensen LJ (2013) STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration. *Nucleic Acids Res* 41:D808–D815
 39. Mi H, Poudel S, Muruganujan A, Casagrande JT, Thomas PD (2016) PANTHER version 10: expanded protein families and functions, and analysis tools. *Nucleic Acids Res* 44: D336–D342
 40. Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. *Methods* 25:402–408
 41. Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M, Rozen SG (2012) Primer3—new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Res* 40:e115