

Wpływ sygnałów cytotoksycznych na aktywność *N*-acetylotransferazy asparaginianowej w neuronach cholinergicznyc

Znaczenie projektu Choroba Alzheimera (AD) jest jedną z najczęściej występujących chorób neurodegeneracyjnych, na którą cierpi około 15 milionów ludzi na całym świecie, a mechanizm choroby wciąż nie jest w pełni poznany. Rozwój AD ogranicza samodzielne funkcjonowanie chorych obniżając ich sprawność psychiczną i psychomotoryczną. Jedną z pierwszych zauważalnych oznak choroby jest preferencyjne, postępujące uszkodzenie neuronów cholinergicznyc. Postuluje się, że ich szczególnie wrażliwość na sygnały cytotoksyczne jest związana z zaburzeniami metabolizmu acetylo-CoA, metabolitu powstającego w mitochondriach komórkowych z pirogronianu w obecności kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej (PDHC). Powstały acetylo-CoA jest niemal wyłącznie używany do produkcji energii oraz syntezy *N*-acetyloasparaginianu (NAA). Dodatkowo, neurony cholinergiczne utylizują acetylo-CoA w czasie syntezy acetylocholino (ACh) z uwalnianiem następująco jako neuroprzekaznika cholinergicznego. Kolejnym symptomem postępującej neurodegeneracji jest zwiększona akumulacja amyloidu-

(A β), korelująca ze zwiększoną produkcją tlenków azotu (NO), i wzrostem syntezy wolnych rodników tlenowych (ROS). Ponadto u osób cierpiących z powodu AD, podwyższonemu poziomowi A β (1-42) towarzyszy obniżony poziom NAA. Synteza odbywa się w obecności mało poznanej enzymy *N*-acetylotransferazy asparaginianowej (Asp-NAT, NAT8L). Na podstawie danych literaturowyc oraz wyników badań uzyskanych w Zakładzie Medycyny Laboratoryjnej (ZML) można postulować, że obniżony poziom NAA u osób z AD może być wynikiem akumulacji A β i zwiększonej produkcji NO. Według naszej hipotezy, oddziaływanie tych czynnikow na neurony cholinergiczne może prowadzić do wyczerpania zasobow substratow wykorzystywanych nie tylko do produkcji energii ale również i syntezy waznych metabolitow OUN jakim jest NAA. Ponadto, zmieniony stan oksydacyjny i energetyczny neuronow cholinergicznyc może hamować aktywność enzymy Asp-NAT i w konsekwencji prowadzi do obniżenia poziomu NAA. W związku z tym **celem projektu** jest poznanie potencjalnego wpływu wybranych neurotoksyn na aktywność *N*-acetylotransferazy asparaginianowej (Asp-NAT) i poziom syntezywanego przez ni *N*-acetyloasparaginianu w komórkach o różnym stopniu ekspresji fenotypu cholinergicznego.

Metoda badawcza. Badania będą prowadzone z wykorzystaniem komórkowego modelu neuronow cholinergicznyc, tj. ludzkiej neuroblastoma z różnym stopniem ekspresji fenotypu cholinergicznego. Zgodnie z założeniami projektu, w trakcie realizacji schematu badawczego komórki będą poddawane chronicznemu działaniu NO oraz A β w stężeniach neurotoksycznych. Po zakończeniu eksperymentu zbadane zostaną parametry pozwalające wykazać czy obniżony poziom NAA jest skorelowany z akumulacją neurotoksyn wewnątrz neuronow cholinergicznyc. Badaniu zostaną oddane parametry enzymatyczne oraz metaboliczne. Ostatecznie, zmierzone zostaną parametry regulujące aktywność Asp-NAT.

Wpływ rezultatow. Proponowane badania powinny dostarczyć nowych informacji na temat wpływu niedoborow substratowyc (acetylo-CoA) oraz zmian aktywności enzymatycznej (Asp-NAT) na biosyntezę NAA w komórkach neuronalnych z różną ekspresją fenotypu cholinergicznego.