

Receptory *N*-metylo-D-asparaginowe (NMDAR) to tzw. jonotropowy podtyp receptorów dla glutaminianu (Glu), głównego neuroprzekaźnika pobudzającego w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN). Oprócz bezpośredniego udziału w neurotransmisji glutaminianergicznej, NMDAR odgrywają kluczową rolę w rozwoju mózgu, jego plastyczności, w procesach uczenia się i pamięci, zaś ich nadmierna aktywność powoduje ekscytotoksyczność, przyczyniając się do rozwoju najbardziej rozpowszechnionych chorób OUN, m.in. udaru mózgu czy chorób zwyrodnieniowych: choroby Huntingtona, Parkinsona i Alzheimerera. Prawie wszystko, co wiemy o NMDAR, dotyczy tych zlokalizowanych w neuronach. W ostatnich latach udowodniono obecność NMDAR w astrocytach, komórkach, które w OUN są aktywnym partnerem neuronów w procesie neurotransmisji; niewiele jednak wiadomo, jakie funkcje pełnią w astrocytach. Wstępne wyniki badań własnych wykazały, że pobudzenie receptora NMDA w astrocytach hamuje ekspresję i aktywność syntetazy glutaminy (GS), astrocytarnego enzymu katalizującego syntezę i unieczynnienie Glu, tym samym mającego bezpośredni wpływ na regulację neuroprzekaźnictwa glutamatergicznego. Powstało pytanie, jakie wewnątrzkomórkowe szlaki metaboliczne pośredniczą w regulacji GS w następstwie aktywacji astrocytarnych NMDAR. Próba uzyskania odpowiedzi na to pytanie stanowi istotę niniejszego projektu. Pośrednie przesłanki skłoniły do zajęcia się dwoma szlakami sygnałowymi odgrywającymi dość uniwersalną rolę w metabolizmie komórek zwierzęcych: i) szlakiem kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K)-Akt-Foxo oraz ii) ścieżką angażującą zależną od cykliny kinazę 5 (Cdk5) związaną z jądrowym czynnikiem (pochodzenia erytroidalnego) typu 2 (Nrf2). Badania przeprowadzone będą na hodowlach astrocytów mysich, które traktowane będą NMDA i/lub inhibitorami procesów stanowiących składowe tych szlaków. W przypadku Nrf2 zastosowane będzie również hamowanie jego ekspresji przy użyciu metody wyciszania małymi interferującymi cząsteczkami RNA (siRNA). Badania obejmą analizę ekspresji mRNA i białka GS metodami PCR w czasie rzeczywistym oraz Western blot, oraz aktywności enzymu. Szczegółowa analiza tych szlaków obejmie pomiary poziomu i modyfikacji aktywności (stopnia ufosforylowania) wchodzących w ich skład białek.

Poznanie molekularnego mechanizmu przekładania się aktywacji astrocytarnych NMDAR na regulację poziomu i aktywności GS, może pozwolić na ujawnienie nowego, związanego z neuroprzekaźnictwem glutaminianergicznym, aspektu plastyczności astrocytów.