

## **Mózgowy cytochrom P450 jako nowy cel w leczeniu chorób neurologicznych i psychicznych. Badania na ludzkich komórkach neuronalnych i zwierzętach transgenicznym.**

Monooksygenazy cytochromu P450 (CYP) to enzymy uznawane za unikalny system ochrony wewnętrznego środowiska komórek. Badania ostatnich lat wskazują, że mózgowe enzymy CYP biorą udział w syntezie neuroprzekaźników, które wpływają na choroby neurologiczne i psychiatryczne. Badania *in vitro* z enzymami rekombinowanymi i mikrosomami wątrobowymi oraz eksperymenty *in vivo* (mikrodializa mózgu szczura) dowiodły, że enzymy podrodziny CYP2D mogą katalizować syntezę dopaminy i serotoniny w mózgu (hydroksylację tyraminy do dopaminy oraz *O*-demetylację 5-metoksytryptaminy do serotoniny). Dalsze badania pokazały, że wydajność ludzkiego CYP2D6 w syntezie dopaminy i serotoniny jest znacznie wyższa niż jego odpowiedników u gryzoni, co zwiększa znaczenie tego enzymu u człowieka. Ponadto, wykazano podwyższony poziom serotoniny w mózgu myszy transgenicznych, po wprowadzeniu do mysiego genomu ludzkiego genu *CYP2D6*. Niestety, ilość wprowadzonych genów nie została określona.

Zatem zdolność enzymu CYP2D6 do syntezy dopaminy i serotoniny w mózgu została już udokumentowana, jednak wciąż pozostaje nieznanym względny udział alternatywnych szlaków w całkowitej syntezie neuroprzekaźników w mózgu, co wymaga dalszych badań. Na szczególną uwagę zasługuje udział CYP2D6 w syntezie neuroprzekaźników w ludzkich komórkach nerwowych, ponieważ enzym ten mógłby służyć jako nowy cel farmakologiczny w celu podniesienia poziomu serotoniny i dopaminy w mózgu, co pomogłoby złagodzić objawy depresji lub chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona. Interesujące jest też, że gen *CYP2D6* ma wiele wariantów i może dostarczać enzym o różnej aktywności katalitycznej, co może wpływać na cechy charakteru (lękliwość, impulsywność). Nasze ostatnie badania wskazują, że aktywność mózgowego CYP2D zmienia się wraz z wiekiem, tak jak i wzrasta niedobór serotoniny, co może mieć związek z procesem neurodegeneracyjnym i depresją. Obserwacje te wskazują na funkcjonalną rolę CYP2D6 w mózgu, sugerując możliwość wykorzystania tego enzymu jako celu terapeutycznego.

Celem projektu jest ocena znaczenia syntezy dopaminy i serotoniny za pośrednictwem enzymu CYP2D6 w całkowitej puli neuroprzekaźników w ludzkich komórkach nerwowych (*in vitro*) oraz w mózgu szczura z nadekspresją ludzkiego genu *CYP2D6* (*in vivo*):

**Zadanie 1** – Poznanie swoistej sekwencji genu *CYP2D6* w wybranych liniach komórkowych. Określenie poziomu ekspresji genu *CYP2D6* i funkcji białka (pomiar mRNA, białka i aktywności enzymu) w liniach komórkowych typu dzikiego WT (*ang.* wild-type)

**Zadanie 2** – Stworzenie linii komórkowych z brakiem genu *CYP2D6* (*CYP2D6-KO*) oraz linii ze zwiększoną ekspresją tego genu (*CYP2D6+OX*). Przeprowadzenie badań funkcjonalnych linii komórkowych *WT*, *CYP2D6-KO* i *CYP2D6+OX* w kierunku syntezy dopaminy i serotoniny.

**Zadanie 3** – Opracowanie modelu szczurzego *in vivo* z nadekspresją ludzkiego genu *CYP2D6* w mózgu. Przeprowadzenie badań funkcjonalnych ludzkiego enzymu CYP2D6 w mózgu szczura.

**Zadanie 4** – Badania roli mózgowej i wątrobowej 5-metoksytryptaminy (substratu enzymu CYP2D6) w syntezie serotoniny przez mózgowy CYP2D6 u szczurów z nokautem genu mózgowej hydroksylazy tryptofanu (*TPH2-KO*) lub obwodowej hydroksylazy tryptofanu (*TPH1-KO*). Badania zostaną przeprowadzone przy współpracy z Max-Delbrück-Center for Molecular Medicine (Berlin).

Powyższe badania przyczynią się do poznania znaczenia ludzkiego enzymu CYP2D6 w mózgu jako nowego celu dla terapii zaburzeń neurologicznych i psychiatrycznych. Dostarczą one dowodów na mózgową aktywność enzymu CYP2D6 w kierunku katalizowania alternatywnych ścieżek syntezy dopaminy i serotoniny w ludzkich komórkach neuronalnych. Dodatkowo, zostaną opracowane nowe modele eksperymentalne do identyfikacji aktywności ludzkiego cytochromu CYP2D6 w komórkach neuronalnych oraz w mózgu z funkcjonującym ludzkim enzymem CYP2D6.