

## **Znaczenie poliamin dla zróżnicowanej wrażliwości subregionów hipokampa na ekscytotoksyczność.**

Hipokamp jest regionem mózgu odpowiedzialnym przede wszystkim za pamięć i uczenie się. Składa się z Zakrętu Zębatego oraz Rogu Amona (łac. Cornu Ammonis; CA). CA dzieli się na podregiony CA1, CA2 oraz CA3. Region CA2, ze względu na swoje niewielkie rozmiary i słabo zaznaczone granice, jest najslabiej poznaną strukturą w ramach hipokampa, pomimo że charakteryzują go szczególne właściwości, spośród których wyjątkowa odporność na uszkodzenie (w przeciwieństwie do CA1, który jest bardzo wrażliwy) jest najbardziej znacząca.

Wstępne analizy wykonane w naszym Laboratorium wskazują, że hipokamp może charakteryzować się unikalną anatomiczną dystrybucją białek związanych z metabolizmem aminokwasu, argininy (Arg). W neuronach Arg może być wykorzystywana przez enzym nazywany neuronalną syntazą tlenku azotu (neuronal nitric oxide synthase; nNOS) do produkcji tlenku azotu (NO), który jest ważnym przekaźnikiem sygnału w komórce, który jednak, jeżeli jest wytwarzany w nadmiarze staje się toksyczny i może wywoływać śmierć neuronów. Ten mechanizm jest zaangażowany w uszkodzenie neuronów w ekscytotoksyczności, zjawisku, gdzie określony typ neuronalnych receptorów jest nadmiernie stymulowany przez długi czas. Nadprodukcja NO w ekscytotoksyczności odpowiada za dysfunkcje i śmierć neuronów w licznych schorzeniach neurologicznych, w tym w udarze, padaczkę czy urazowym uszkodzeniu mózgu. Z drugiej strony, Arg może być przekształcana w neuronach w poliaminy (PAs), w wielostopniowej ścieżce metabolicznej, która rozpoczyna się od reakcji, w której Arg jest wykorzystywana przez konkurencyjny wobec nNOS enzym, arginazę 2 (Arg2) do produkcji prekursora PAs, ornityny (Orn). PAs odgrywają wiele różnych funkcji w komórce i, co istotne, znane są ze swych właściwości neuroprotektoryjnych. Nasze wstępne analizy sugerują, że region CA2 jest znacząco wzbogacony w Arg2 oraz niektóre białka zaangażowane w produkcję PAs, a także ubogi w nNOS, w przeciwieństwie do regionu CA1, który jest ubogi w Arg2 i białka związane z PAs, ale wzbogacony w nNOS. Zakładam, że to może wyjaśniać zróżnicowaną wrażliwość neuronów tych regionów na ekscytotoksyczność, gdzie neurony CA1 szybko umierają, natomiast neurony CA2 zazwyczaj przeżywają. Podobny wzorec uszkodzenia komórek zaobserwowałam w moim eksperymentalnym modelu ekscytotoksyczności, ale tylko wtedy, gdy szlak produkcji PAs nie był eksperymentalnie modyfikowany. Gdy tylko blokowałam produkcję PAs przy użyciu specyficznego związku, który hamuje aktywność białka odpowiedzialnego za przekształcenie Orn do pierwszej PA, putrescyny, neurony w regionie CA2 stawały się wrażliwe na ekscytotoksyczność. Ten eksperyment wydaje się potwierdzać moją hipotezę i w tym projekcie planuję podjąć próby szczegółowego zgłębienia związków pomiędzy produkcją PAs w neuronach hipokampa a odpowiedzią tych neuronów na ekscytotoksyczność w odniesieniu do podziału hipokampa na regiony CA1-3.

Zacznę moje eksperymenty od opracowania i udoskonalenia metody na specyficzne uwidocznienie regionu CA2 w moim modelu. Region ten znajduje się pomiędzy CA1 i CA3 i jego granice z tymi regionami nie są łatwo zauważalne. Uwidocznienie CA2 umożliwi mi dokładne wykonywanie moich kolejnych eksperymentów i uzyskanie, z dużą precyzją, odrębnych danych dla CA1, CA2 i CA3 ułatwiając porównywanie wyników pomiędzy regionami. Następnie zmierzę zawartość poszczególnych PAs i innych związanych z nimi związków w regionach hipokampa, aby potwierdzić hipotezę, że region CA2 jest szczególnie wzbogacony w te metabolity w porównaniu do CA1. Sprawdzę również, czy neurony poszczególnych regionów odpowiadają na ekscytotoksyczny bodziec modyfikując produkcję PAs. W kolejnym doświadczeniu, poprzez blokowanie poszczególnych etapów szlaku produkcji PAs, postaram się rozpoznać która z PAs jest najbardziej wydajna w neuroprotekcji w neuronach CA2. Na koniec zbadam czy Arg2 może chronić neurony CA2 poprzez dostarczanie Orn do syntezy PAs czy poprzez obniżanie zawartości Arg, uniemożliwiając tym samym nadmierną syntezę toksycznego NO przez nNOS, czy też, być może, poprzez kombinację obydwu efektów

Wszystkie moje doświadczenia zostaną wykonane z użyciem hodowli organotypowych hipokampa szczurzego – modelu, gdzie tkanka jest hodowana na szalce, w warunkach które pozwalają jej przeżyć wiele dni i utrzymać jej fizjologiczne funkcje. W porównaniu do eksperymentów in vivo, gdzie patologia byłaby wywoływana w żywych zwierzętach, hodowle organotypowe pozwalają na uniknięcie stresu i cierpienia u zwierząt, nadal oferując model, gdzie mechanizmy komórkowe mogą być badane z uwzględnieniem anatomii tkanki. Spodziewam się, że po zakończeniu, mój projekt pomoże poszerzyć naszą wiedzę o funkcjonowaniu mózgu i przyczyni się do zaprojektowania nowych terapii przeciwko wybranym schorzeniom neurologicznym.