

dr Michał Węgrzynowicz

kierownik Pracowni Molekularnych Podstaw Neurodegeneracji

ZNACZENIE MITOCHONDRIALNEGO UNIPORTERA WAPNIA DLA SZCZEGÓLNEJ ODPORNOŚCI NEURONÓW REGIONU CA2 HIPOKAMPA NA USZKODZENIE

Hipokamp jest regionem mózgu odpowiedzialnym przede wszystkim za uczenie się i pamięć. Zbudowany jest z zakrętu zębatego oraz rogu Amona (CA). CA dzieli się na regiony CA1, CA2 oraz CA3. Region CA2, ze względu na swoje niewielkie rozmiary i słabo zaznaczone granice z sąsiednimi regionami, jest najslabiej poznaną strukturą w hipokampie, pomimo, że charakteryzują go szczególne właściwości, spośród których słaba podatność na długotrwałe wzmocnienie (LTP; podstawowy proces zaangażowany w uczenie się i pamięć), a także wyjątkowa odporność na uszkodzenie wydają się być najbardziej znaczące. Te właściwości stoją w uderzającym przeciwieństwie do charakterystyki regionu CA1, który łatwo poddaje się LTP i jest niezwykle wrażliwy na uszkodzenie.

Jak zostało wykazane wcześniej przez innych badaczy, hipokamp, w zależności od regionu, charakteryzuje się zróżnicowaną aktywnością jonów wapnia, po przeniknięciu ich do komórki. Region CA2 jest wyposażony w mechanizmy, które pozwalają mu zredukować zawartość wolnego wapnia do minimum dzięki wiązaniu go do specjalnych białek, usuwaniu go z komórki na zewnątrz, a także poprzez akumulowanie go w mitochondriach, jednym z komórkowych magazynów wapnia. Region CA1 jest pozbawiony tych mechanizmów na takim poziomie efektywności i uważa się, że może być to główną przyczyną dla której region ten jest bardziej podatny na LTP, ale też wrażliwy na uszkodzenie w różnych chorobach – komórkowy wapń jest głównym pośrednikiem w tych dwóch ścieżkach. Zostało częściowo potwierdzone, że sposób w jaki neurony CA2 radzą sobie z wapniem odpowiada za specyficzny dla tych komórek bark wrażliwości na LTP, jednak nadal nie wiemy, w jaki sposób wpływa to na odpowiedź neuronów CA2 na patologiczne bodźce. Moje wstępne badania wskazują, że funkcjonalne zablokowanie białka o nazwie MCU, które jest nieobecne w CA1, lecz obecne w CA2, gdzie pośredniczy w przenoszeniu wapnia do mitochondriów, skutkowało uwrażliwieniem neuronów CA2 na eksperymentalnie wywołaną neurotoksyczność, prowadząc do ich śmierci. Gdy MCU nie było blokowane, neurony CA2 bez problemu przeżywały ekspozycję na toksyczny bodziec, podczas gdy neurony CA1 traktowane tą samą neurotoksyną umierały w obydwu układach (zarówno z, jak i bez blokowania MCU). Na podstawie tego spostrzeżenia założyłem, że MCU może być kluczowym czynnikiem w odporności neuronów CA2. W tym projekcie planuję przeprowadzenie serii eksperymentów dla potwierdzenia tej hipotezy. Porównam odpowiedź neuronów CA1 i CA2 na neurotoksyczny czynnik (nazywany NMDA), poprzez sprawdzenie zmian w komórkowym i mitochondrialnym wapniu, zbadanie funkcjonowania mitochondriów, a także określenie komórkowej produkcji innego toksycznego czynnika zaangażowanego w śmierć neuronów, tlenku azotu (NO; zgodnie z moimi wstępnymi badaniami, neurony CA2 prawdopodobnie produkują nadzwyczaj mało NO, co może dodatkowo wspierać ich przeżywalność w warunkach patologicznych). Następnie, przy użyciu farmakologicznych i genetycznych modyfikacji, sprawdzę w jaki sposób modyfikacja aktywności MCU i produkcji NO wpłynie na zróżnicowaną przeżywalność neuronów CA1 i CA2 narażonych na działanie NMDA, i w jaki sposób zmodyfikuje inne badane parametry w tych regionach. Wierzę, że ten projekt pozwoli nam na wyjaśnienie jakie są powiązania pomiędzy regionalną dystrybucją MCU i białek związanych z produkcją NO a zróżnicowanymi wzorcami przepływów wapnia, fizjologią mitochondriów, poziomem produkcji NO, i, ostatecznie przeżywalnością neuronów w patologiach hipokampa. To umożliwi nam dokładniejsze zrozumienie podstaw funkcjonowania hipokampa i może pomóc w zaprojektowaniu nowoczesnych terapii przeciwko chorobom dotykającym hipokamp, takimi jak epilepsja, udar czy urazowe uszkodzenie mózgu.

Należy podkreślić, że większość moich eksperymentów zostanie przeprowadzona z użyciem hodowli organotypowych hipokampa mysiego – modelu, gdzie tkanka jest hodowana na szalce, w warunkach które pozwalają jej przeżyć wiele dni i utrzymać jej fizjologiczne funkcje. Dodatkowo, wykorzystam modele modyfikowane genetycznie, które pozwalają na dokładne umieszczenie markerów fluorescencyjnych w konkretnym typie komórki, w moim przypadku w neuronach regionu CA2, co pozwoli mi dokładnie wyznaczyć region CA2, który normalnie jest bardzo trudno odróżnialny od sąsiednich regionów CA1 i CA3. Hodowle organotypowe, z jednej strony pozwalają na zachowanie struktury tkanki do eksperymentów, a z drugiej, ułatwiają manipulację próbką i jej analizę. Co niezwykle istotne, ten model pozwala na znaczące ograniczenie liczby zwierząt, wykorzystywanych do procedur *in vivo* podczas badań. Dzięki takiemu podejściu wykonam tylko pojedynczy eksperyment *in vivo*, aby potwierdzić jedynie najważniejsze odkrycia z eksperymentów na skrawkach organotypowych.