mgr inż. Edyta Makuch

Tytuł rozprawy doktorskiej:

WPŁYW FOSFODIESTERAZY 2 NA REGULACJĘ EKSPRESJI GENU HYDROKSYLAZY TYROZYNY W KOMÓRKACH SZCZURZEGO GUZA CHROMOCHŁONNEGO PC12

STRESZCZENIE

Katecholaminy (adrenalina, noradrenalina i dopamina) są syntezowane i wydzielane z komórek chromochłonnych i zakończeń nerwów współczulnych do krwiobiegu w odpowiedzi na czynniki stresowe (m.in. stres psychologiczny, niedotlenienie, hipoglikemię). Pełnią one wówczas funkcję hormonów, które m.in. przez podniesienie ciśnienia krwi, przyśpieszenie pracy serca, czy rozszerzenie oskrzeli, przygotowują organizm do wysiłku fizycznego. Jednakże długotrwały, wysoki poziom katecholamin w krwiobiegu jest niepożądany, gdyż prowadzić może do nadciśnienia i uszkodzenia serca w wyniku przeciążenia. Dlatego też ważne jest wyjaśnienie mechanizmów przeciwdziałających nadmiernej syntezie katecholamin, co może przyczynić się do projektowania racjonalnej farmakoterapii. Jak wskazują dane literaturowe, długotrwały wzrost syntezy katecholamin możliwy jest dzięki zmianom w ekspresji genu kodującego hydroksylazę tyrozyny (TH), enzymu który limituje tempo biosyntezy katecholamin. W warunkach przewlekłego stresu dochodzi do wzrostu ekspresji genu *TH* w komórkach rdzenia nadnerczy w odpowiedzi na stymulację adenozyną oraz polipeptydem aktywującym przysadkową cyklazę adenylanową (PACAP). Wstępne obserwacje poczynione w Laboratorium Białek Sygnałowych pokazały, że (szczurzy) przedsionkowy peptyd natriuretyczny (rANP) hamuje ekspresję genu kodującego TH w odpowiedzi na adenozynę w komórkach PC12, modelowej linii komórek chromochłonnych. Stąd celem niniejszej pracy było wyjaśnienie mechanizmu hamowania przez rANP transdukcji sygnału od receptora adenozyny do ekspresji genu *TH*.

Uzyskane wyniki pokazały, że rANP hamuje transkrypcję genu *TH* indukowaną zarówno przez adenozynę, jak i przez PACAP. Z kolei obserwacja, w której rANP indukując wzrost akumulacji cGMP przyczynia się do obniżenia akumulacji cAMP indukowanej adenozyną lub PACAP, zasugerowała, iż rANP hamuje odpowiedzi na adenozynę i PACAP za pośrednictwem wspólnego mechanizmu. Doświadczenia z wykorzystaniem inhibitorów fosfodiesteraz wskazały, że to fosfodiesteraza 2 (PDE2) umożliwia połączenie ścieżek sygnałowych rANP i adenozyny oraz rANP i PACAP na poziomie cyklicznych nukleotydów, gdyż PDE2 zwiększa tempo hydrolizy cAMP w odpowiedzi na stymulację przez cGMP. Dalsze badania wskazały, że wzrost aktywności hydrolitycznej PDE2 stymulowany przez rANP (indukuje akumulację cGMP), jak i przez syntetyczny aktywator (5,6-DM-cBIMP), prowadzi do osłabienia aktywacji promotora genu *TH* oraz zmniejszenia ilości mRNA *TH* w odpowiedzi na adenozynę w komórkach PC12.

Skupiając się na odpowiedzi indukowanej przez adenozynę, scharakteryzowano hamowaną przez PDE2 ścieżkę sygnałową prowadzącą do ekspresji genu *TH.* Uzyskane wyniki wskazały, że PDE2 hydrolizując cAMP osłabia aktywację kinazy białkowej A (PKA) oraz czynnika transkrypcyjnego CREB (bezpośredniego celu fosforylacji dla PKA) w odpowiedzi na adenozynę. Rezultaty te w połączniu z wynikami pokazującymi, iż upośledzenie wiązania białek rodziny CREB z elementem odpowiedzi na cAMP (CRE) w DNA skutkuje osłabieniem aktywacji promotora genu *TH* w odpowiedzi na adenozynę, zasugerowały wniosek, iż PDE2 hamuje zależną od PKA oraz białek rodziny CREB ekspresję genu *TH*.

Podsumowując, otrzymane wyniki badań wskazują, że PDE2 może pełnić rolę negatywnego regulatora ekspresji genu *TH* indukowanej adenozyną lub PACAP w komórkach PC12. Sugeruje się, że wzrost aktywności hydrolitycznej PDE2 skutkuje obniżeniem wewnątrzkomórkowego stężenia cAMP, co prowadzi do słabej aktywacji PKA oraz czynnika transkrypcyjnego CREB i w konsekwencji do zahamowania indukowanej adenozyną ekspresji genu *TH* w komórkach PC12.