

Nowa perspektywa udziału mitochondriów w rozwoju cytotoksycznego obrzęku mózgu w ostrej niewydolności wątroby

Obrzęk mózgu jest najgroźniejszym powikłaniem encefalopatii wątrobowej (EW) wynikającej z ostrego uszkodzenia wątroby. EW jest zbiorem zaburzeń neuropsychiatrycznych objawiających się zanikami świadomości, zaburzeniami funkcji intelektualnych i motorycznych, a w najgorszych przypadkach prowadzi do śpiączki i śmierci pacjentów. Obrzęk mózgu występuje nawet u 70% pacjentów z ostrą niewydolnością wątroby. Obecnie brak jest terapii w pełni niwelujących jego obecność a środki łagodzące i zapobiegające dalszemu rozwojowi obrzęku mózgu w dużej części przypadków ograniczają się do ochładzania organizmu. W najgorszym wypadku może on prowadzić do wgłobienia mózgu i śmierci pacjentów. EW jest chorobą wieloczynnikową i nadal nie do końca poznaną. Zakłada się, że dwoma głównymi czynnikami powodującymi rozwój choroby są wysokie stężenie amoniaku, który nie jest metabolizowany przez uszkodzoną wątrobę oraz stan zapalny, który objawia się podwyższonym poziomem cytokin.

Obrzęk mózgu ma dwie składowe: naczyniopochodną, związaną z uszkodzeniem bariery krew-mózg oraz cytotoksyczną, spowodowaną obrzmiewaniem komórek mózgowych - astrocytów. Ta druga występuje w pierwszej kolejności i jej obecność wydaje się dominująca w przypadku ostrej EW. Dokładna przyczyna powstawania obrzęku cytotoksycznego nie jest w pełni poznana, lecz dotychczasowe badania wskazują na główną rolę glutaminy (Gln). Jest to aminokwas, który w mózgu powstaje wyłącznie w astrocytach w wyniku reakcji amoniaku i glutaminianu (Glu). Zakłada się, że akumulacja Gln w astrocytach powoduje ich obrzęk w dwojaki sposób: poprzez swoje osmotyczne właściwości, przyczyniając się do wnikania wody do komórek oraz poprzez uszkodzenie mitochondriów, organelli odpowiedzialnych m.in. za dostarczanie energii, których dysfunkcja pogłębia powstawanie obrzęku. Mechanizm uszkodzenia mitochondriów opisuje hipoteza „konia trojańskiego” z 2006 roku, w której zakłada się wnikanie Gln do mitochondriów, gdzie w wyniku działania enzymu glutaminazy, jest rozkładana do Glu i amoniaku. Wysokie stężenie amoniaku prowadzi do powstawania stresu oksydacyjnego, zaburzeń potencjału błon mitochondrialnych i powstawania kanałów w ich błonach powodujących ich dysfunkcję. Od 2006 nie wyjaśniono w jaki sposób glutamina wnika do mitochondriów, a potwierdzenie hipoteza znalazła w badaniach in vitro i ex vivo z wykorzystaniem histydyny (His) jako inhibitora transportu glutaminy.

Wstępne wyniki własne w mysim modelu ostrej EW oraz modelu wyciszenia astrocytarnego transportera Gln – SN1 sugerują, że pomimo obrzęku astrocytów i akumulacji Gln w komórkach mózgowych obu modeli, zmiany morfologiczne mitochondriów sugerujące ich dysfunkcję występują jedynie w modelu ostrej EW. Na tej podstawie oraz najnowszej pracy naukowej wskazującej, że mitochondrialnym transporterem Gln w komórkach nowotworowych trzustki jest białko ASCT2, postawiliśmy hipotezę. Zakłada ona, że akumulacja Gln sama w sobie nie jest wystarczającym czynnikiem do spowodowania dysfunkcji mitochondriów, a do tego celu potrzebny jest udział/interakcja innych czynników takich jak wysokie stężenie amoniaku i/lub cytokin. Dodatkowo, za transport Gln w astrocytarnych mitochondriach może być odpowiedzialny transporter ASCT2, a regulacja jego aktywności przez któryś z wymienionych czynników może przyczyniać się do powstawania cytotoksycznego obrzęku mózgu.

Przestrzenna analiza morfologiczna mitochondriów w komórkach astrocytarnych przy użyciu mikroskopii konfokalnej, pomiar parametrów świadczących o funkcjonalności mitochondriów oraz pomiar poziomu i aktywności transportera ASCT2 w wyizolowanych mitochondriach astrocytarnych w obu modelach zwierzęcych pozwolą zrealizować założony cel. Dodatkowo planuje się badania aktywności i ekspresji ASCT2 w warunkach odwzorowujących główne czynniki patogenne w ostrej EW w badaniach in vitro. Zastosowanie niewykorzystywanych do tej pory w badaniach nad obrzękiem cytotoksycznym, nowych technik biologii molekularnej pozwoli w nowatorski sposób uchwycić rolę podwyższonego poziomu glutaminy w uszkodzeniu mitochondriów. Model lokalnego wyciszenia transportera SN1 u myszy, według naszej wiedzy, w sposób unikalny odwzorowuje podwyższenie poziomu glutaminy w astrocytach jako jedyne badanego czynnika. Dzięki jego zastosowaniu możliwe jest wyeksponowanie roli glutaminy w badaniu mechanizmu obrzęku mózgu.

Wyniki pozwolą zaktualizować hipotezę „konia trojańskiego” i dokładniej poznać mechanizm powstawania obrzęku mózgu poprzez oddziaływanie wysokiego stężenia glutaminy, amoniaku i cytokin na mitochondria astrocytarne. W dłuższej perspektywie, pogłębienie wiedzy o przyczynach powstawania cytotoksycznego obrzęku mózgu w ostrej EW przyczyni się do powstania nowych terapii. Dodatkowo zweryfikuje ASCT2 jako mitochondrialny transporter Gln w astrocytach. Dysfunkcja mitochondriów staje się jednym z najczęściej opisywanych procesów patologicznych w etiologii wielu zaburzeń neurologicznych, takich jak: choroba Huntingtona, choroba Parkinsona, stwardnienie zanikowe boczne, padaczka, schizofrenia, stwardnienie rozsiane, ból neuropatyczny i choroba Alzheimera. Lepsze poznanie ogólnego mechanizmu ich uszkodzenia oraz czynników wpływających na ich dynamikę będzie stanowiło istotny wkład w ogólną wiedzę i może mieć istotny wpływ na rozwój badań i terapii związanych wymienionymi schorzeniami.