

Michał Grabowski „Analiza wybranych czynników molekularnych wpływających na poziom homocysteiny w patogenezie niedokrwiennego udaru mózgu

Udar mózgu jest trzecią co do częstości występowania przyczyną śmierci i pierwszą przyczyną niepełnosprawności w krajach rozwiniętych. Koszty społeczne i ekonomiczne występowania udaru plasują te schorzenie jako jedną z najintensywniej badanych chorób. Mimo intensywności badań wciąż nie w pełni rozumiemy mechanizm odpowiedzialny za rozwój udaru mózgu. Liczne badania wyróżniły czynniki mogące prowadzić do rozwoju udaru mózgu. Wśród wielu czynników ryzyka można wyszczególnić akumulację homocysteiny we krwi tj. hiperhomocysteinemię. Homocysteina jest endogennym aminokwasem uczestniczącym w metabolizmie grupy metylowej. Akumulacja homocysteiny wywołuje stan stresu oksydacyjnego i przyczynia się do znacznego przyspieszenia powstawania blaszki miażdżycowej. Hiperhomocysteinemia wywoływana jest głównie poprzez zaburzenia w aktywności enzymów szlaku metabolicznego homocysteiny – syntazy metioninowej oraz reduktazy metylenotetrahydrofolianowej wywołanej mutacjami w genach obu białek. Zmiany w sekwencjach kodujących enzymy szlaku metabolicznego homocysteiny mogą prowadzić do znacznego zmniejszenia ich aktywności bądź do wystąpienia efektu termowraliwości. Stres oksydacyjny wywołany akumulacją homocysteiny prowadzi do nadprodukcji białek szoku termicznego (Hsp). Nadprodukcja białek szoku termicznego w rejonie blaszki miażdżycowej sugeruje, że mogą odgrywać one pewną rolę w zmniejszaniu efektów akumulacji homocysteiny. Weryfikację tej hipotezy przeprowadzono z wykorzystaniem bakteryjnej syntazy metioninowej – MetH. W warunkach stresu termicznego białka szoku termicznego wydajnie chroniły ten enzym przed inaktywacją. Obecność witaminy B<sub>12</sub> znacznie zwiększała poziom ochrony. W przypadku wcześniejszej inaktywacji, białka szoku termicznego przywracały aktywność MetH tylko w obecności kobalaminy. Dodatkowo przeprowadzono badania wpływu białek szoku termicznego na termowrażliwy wariant bakteryjnej reduktazy metylenotetrahydrofolianowej – MetF117, odpowiadającego ludzkiemu polimorfizmowi C677T. Oczyszczono termowrażliwe białko MetF117 oraz wykonano testy aktywności w warunkach stresu, w obecności białek szoku termicznego. Eksperymenty wykazały aktywność białek szoku termicznego znoszących efekt mutacji i pozwalających utrzymać wysoką aktywność białka MetF117, mimo występowania niekorzystnych warunków. Nadprodukcja białek szoku termicznego, mimo pozytywnego oddziaływania na enzymy szlaku metabolicznego homocysteiny, mogła prowadzić do zwiększenia reakcji zapalnej w rejonie blaszki miażdżycowej i tym samym zwiększać tempo jej przyrastania. Doświadczenia mające na celu wyjaśnienia możliwej korelacji między poziomem przeciwciał przeciw białkom szoku termicznego a czynnikami ryzyka udaru mózgu wykonano we współpracy z Kliniką Neurologii

Doroślých GUMed. Badania wykonano stosując technikę immunoenzymatyczną ELISA. Wyniki analizy statystycznej potwierdziły korelację między podwyższonym poziomem przeciwciał przeciw białkom szoku termicznego a występowaniem udaru. Wykazano również korelację między poziomem przeciwciał oraz czynnikami ryzyka udaru mózgu. Działanie białek szoku termicznego może prowadzić do zmniejszenia poziomu homocysteiny we krwi poprzez podtrzymanie działania enzymów. Dodatkowo pojawiające się doniesienia literaturowe sugerowały zmniejszenie poziomu homocysteiny poprzez stosowanie w diecie produktów sojowych zawierających głównie genisteinę. Genisteina jako główny izoflawon soi stosowany jest jako substytut estrogenu w hormonalnej terapii zastępczej. Stosowanie genisteiny zmniejszało poziom homocysteiny we krwi. Do próby poznania mechanizmu działania genisteiny wykorzystano enzym MetF oraz LDH (dehydrogenaza mleczanowa). Doświadczenia wykazały hamujące działanie genisteiny na aktywność reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MetF), co powinno prowadzić do akumulacji homocysteiny. Dalsze eksperymenty wykazały mieszany typ inhibicji wynikający z oddziaływania genisteiny z enzymem oraz z jednym z substratów – NADH. Mechanizm działania genisteiny zakładał tworzenie trwałego kompleksu genisteiny i homocysteiny. Kompleks ten znosi działanie genisteiny wobec MetF. Działanie to jest na tyle trwałe, że można je zaobserwować również w doświadczeniach *in vivo* w hodowli szczepu bakteryjnego *B. subtilis*.