



A γ -aminovajsav metabolizmusa izolált mitokondriumokban, és központi idegrendszeri tumorsejtekben

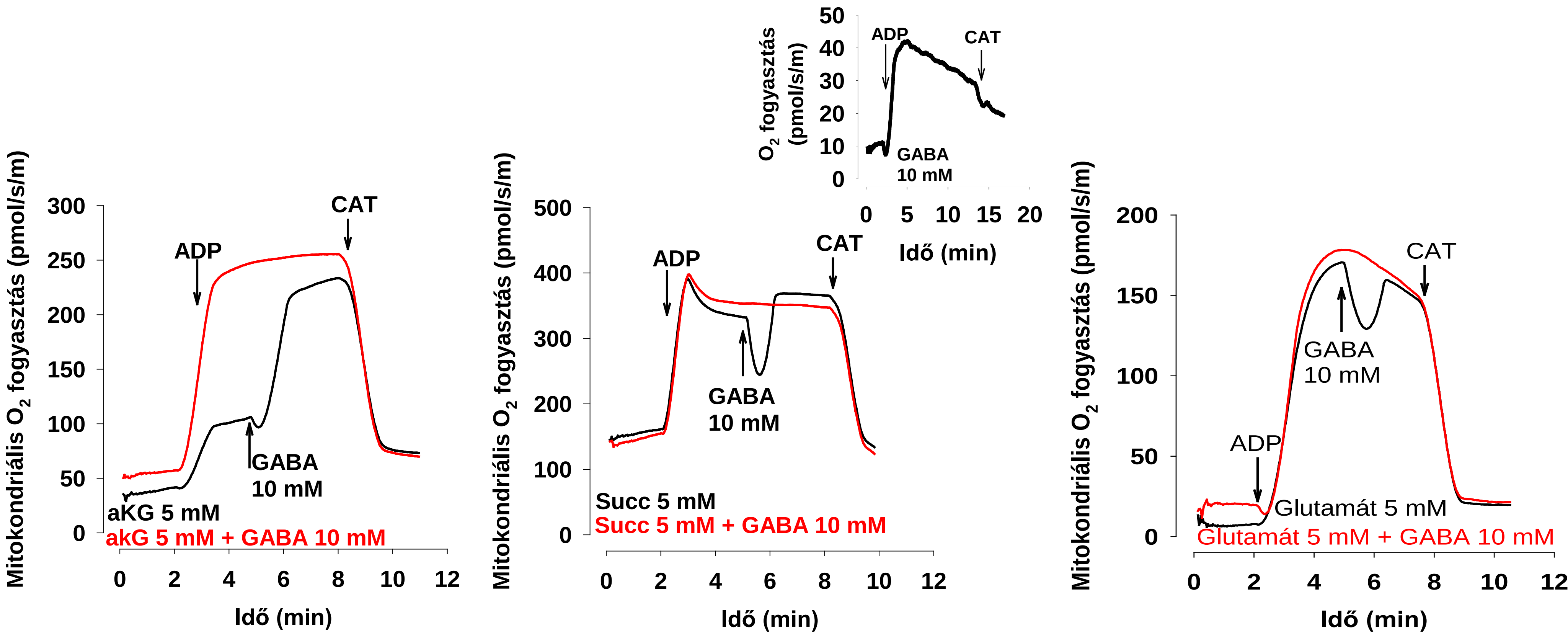


Mászi Anikó, Horváth Gergő, Sváb Gergely, Tretter László
Semmelweis Egyetem Orvosi Biokémiai Intézet

Mitokondriális légzés GABA jelenlétében

Bevezetés

A γ -aminovajsav (GABA) a központi idegrendszer fő gátló neurotransmittere. A GABA-shuntön keresztül metabolizálódik, többnyire gliasejtekben. Metabolizmusa során szukcinát-szemialdehid keletkezik, majd szukcináttá történő oxidációja után lép be a citrát körbe. Az irodalomban legtöbbször gátló neurotransmitterként találkozhatunk a GABA-val. Folytattak kutatásokat mitokondriális metabolizmusban betöltött szerepéről, azonban ez mostanáig csak kevésbé ismert. Kutatócsoportunk a GABA metabolizmusra kifejtett hatását vizsgálta agyi mitokondriumokban, mikrogliaiban és központi idegrendszeri tumorsejtekben.

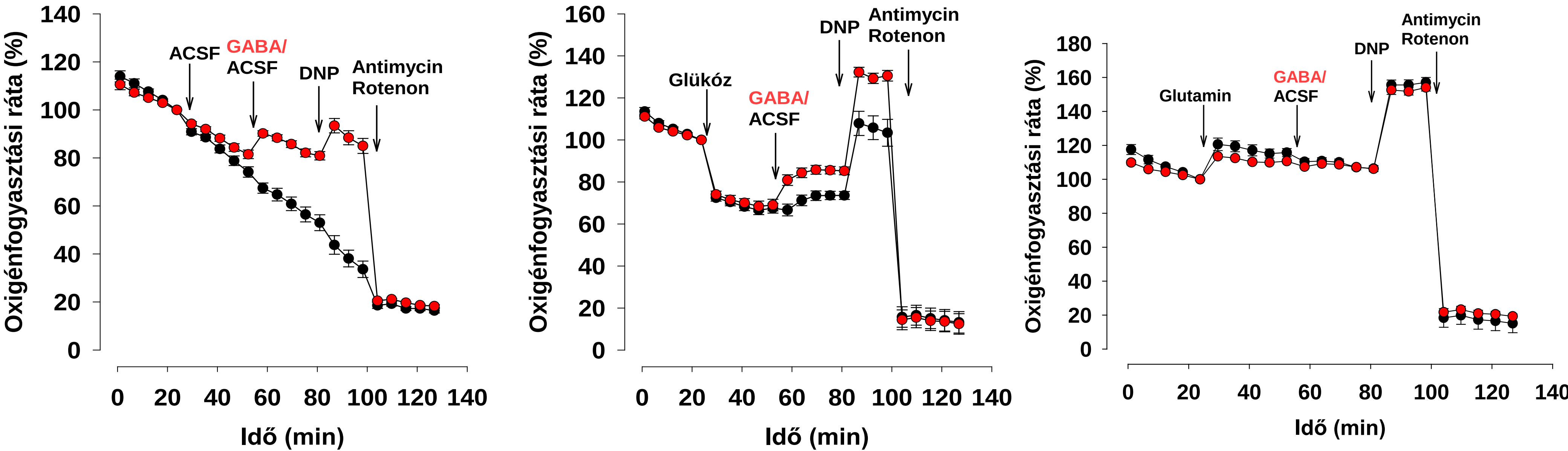


GABA α -ketoglutaráttal, illetve szukcináttal kombinációban fokozza az oxidációt, azonban önmagában és glutamát jelenlétében nem tapasztaltunk fokozódást.

Eredmény - Mitokondrium

- Különböző szubsztrátokkal kombinációban vizsgáltuk a GABA hatását.
- GABA-val inkubált mitokondriumok esetében azt tapasztaltuk, hogy a GABA önmagában nem fokozta nagymértékben az oxidációt.
- α -ketoglutaráttal inkubált mitokondriumok esetén utólagos GABA hozzáadásra látványos növekedést tapasztaltunk az oxigénfogyasztásban. Míg α -ketoglutarát és GABA kombinációjával inkubált mitokondriumokon már ADP hozzáadásának hatására rögtön megfigyelhető a fokozott oxidáció.
- Szukcinát-GABA kombinációval történt méréseinkben kismértékű fokozódást tapasztaltunk az oxidációban.
- A vizsgált idegrendszeri szubsztrátok közül egyedül glutamáttal kombinációban nem tapasztaltunk növekedést az oxigénfogyasztásban.

BV-2 mikroglia sejtek GABA metabolizmusa



A GABA önmagában jól oxidálódott.

Glükóz jelenléte tovább fokozta az oxidációt.

Glutamin jelenlétében nem tapasztaltunk változást.

Anyagok és módszerek

- Mitokondriummal folytatott kísérleteink során tengerimalac agykéregből izolált mitokondriumokon vizsáltuk az oxigénfogyasztást. Méréseinkhez Clark-elektrodot használtunk.
- Sejtes vizsgálatainkat BV-2 mikroglia és U251 glioblasztoma sejteken végeztük. A letapadt sejtek oxigénfogyasztást Seahorse fluoreszcens plate-reader műszerrel követtük nyomon.

Összegzés és következtetés

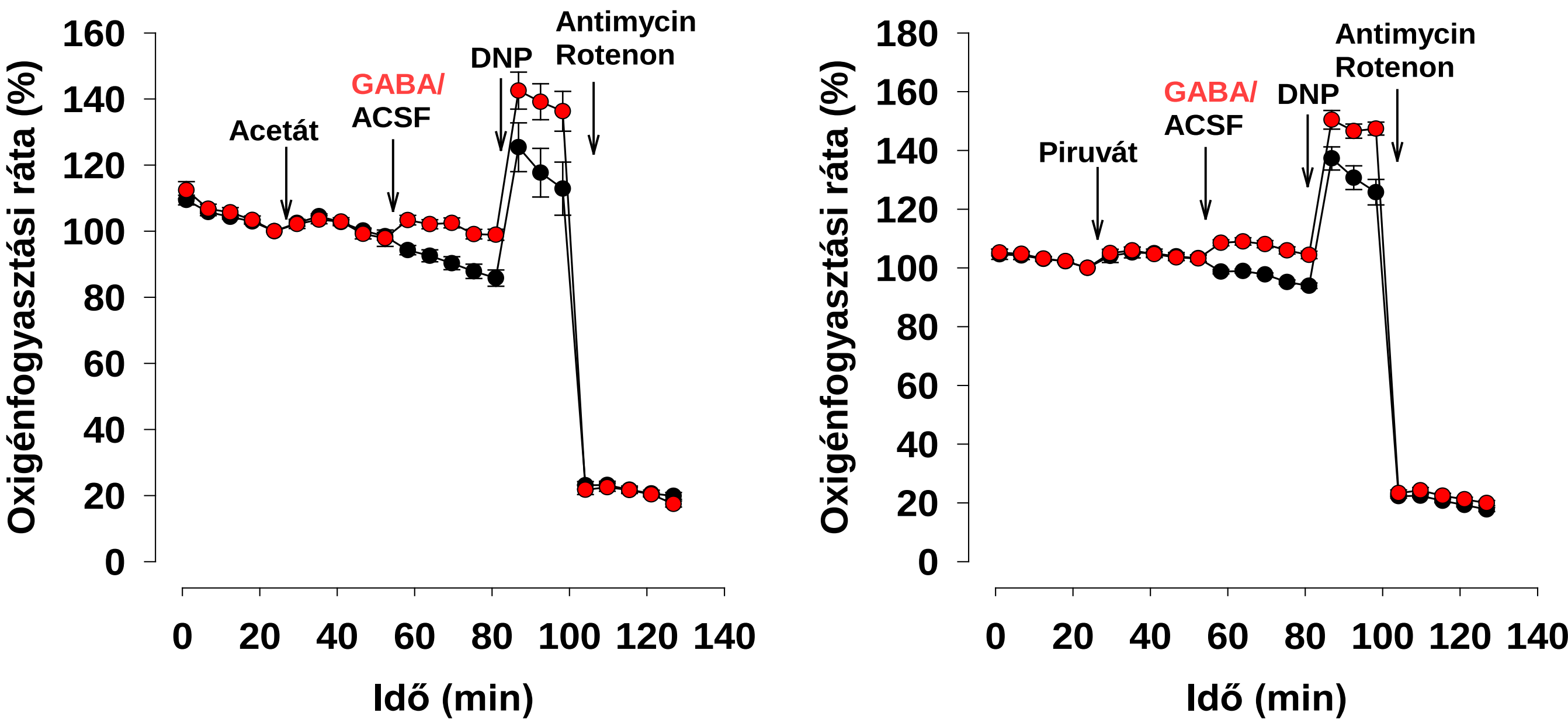
Eredményeink alapján tehát elmondható, hogy a GABA izolált mitokondriumokon önmagában kevésbé hatékony szubsztrát. α -ketoglutaráttal nagymértékű, szukcináttal kismértékű fokozódás figyelhető meg az oxigénfogyasztásban. Ebből következik, hogy a GABA-nak jó oxidációhoz transzaminálási partnerre van szüksége. Sejteken vizsgálva a GABA magában, illetve más központi idegrendszeri szubsztrátok jelenlétében fokozta a légzést. Méréseinkből látszik, hogy a központi idegrendszeri tumorsejtekben a GABA metabolizmusa intenzív, így ennek befolyásolása potenciális farmakológiai célpontnak ígérkezik a daganatos betegségek kezelésében.

Köszönetnyilvánítás:

OTKA (NK 81983), TÁMOP (4.2.2./B-09/1), MTA (MTA TKI 2013), Nemzeti Agykutatási Program (KTIA_13_NAP-A-III/6)

Eredmény - Sejtek

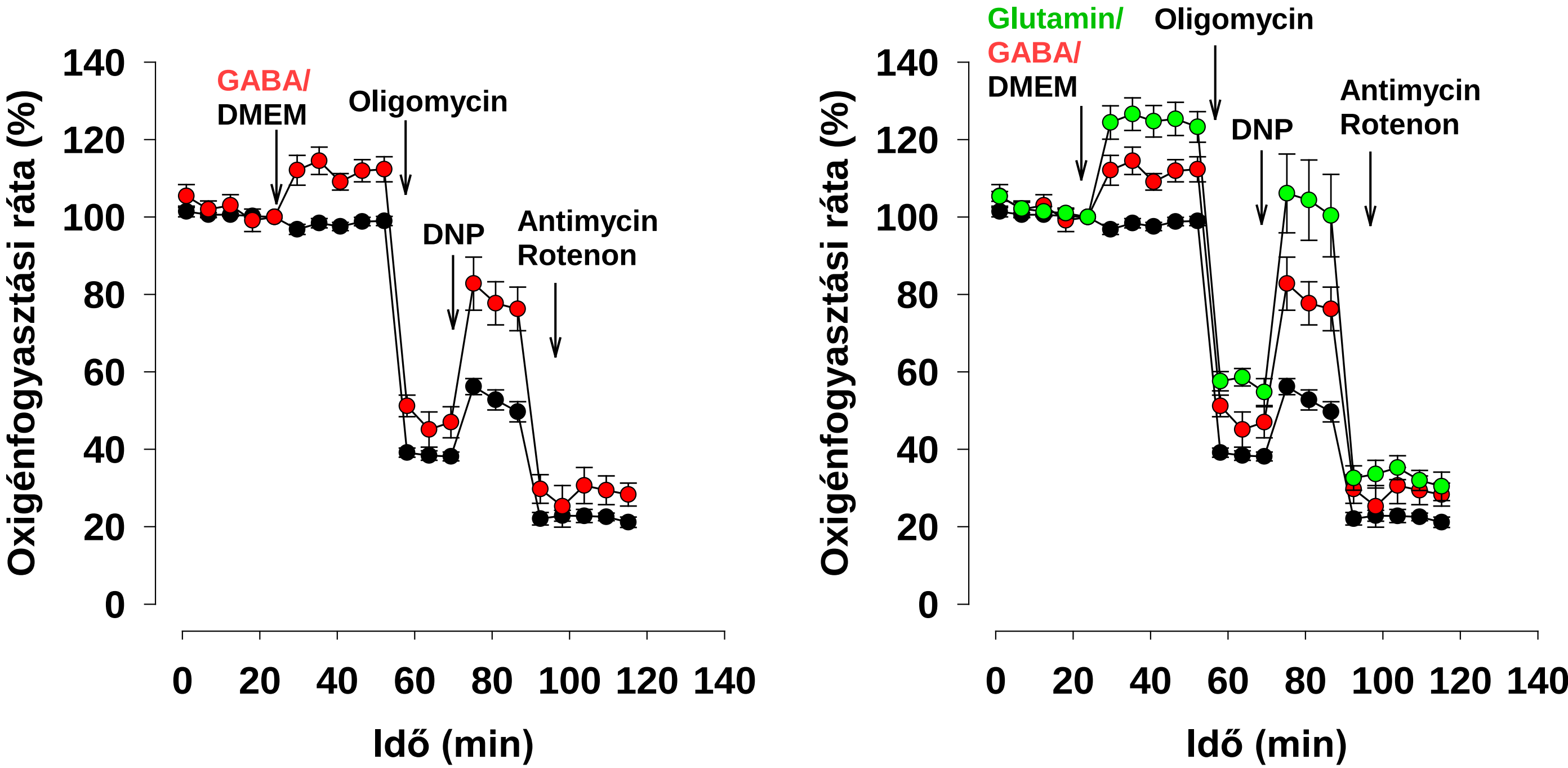
- Az ábrákon feketével a kontroll sejtek láthatók, piros színnel pedig azon sejtek oxidációja, melyekhez GABA-t adtunk. A sejtek felveszik a GABA-t, oxidálják, ezáltal nő az oxigénfogyasztás.
- A továbbiakban glükóz hatását vizsgáltuk a sejteken. Ezen sejtekre jellemző a tumoroknál gyakori Warburg-effektus. GABA hozzáadását követően azt tapasztaltuk, hogy fokozódott az oxigénfogyasztás. A GABA aktiválja a mitokondriális légzési lánc működését, úgynevezett „anti-Warburg” szer.
- Korábban munkacsoportunk vizsgálta a BV-2 mikroglia sejtek metabolizmusát, ez alapján az acetát és a piruvát jó szubsztrátnak bizonyultak. Méréseinkből kiderült, hogy GABA-val kombinációban az oxidáció ezen szubsztrátok esetén is tovább fokozható.
- Kivélt képez a központi idegrendszeri szubsztrátok között a glutamin, amely a legjobban fokozza az oxidációt, oxigénfogyasztást, így ennek további fokozódását GABA hatására már nem tapasztaltuk.
- Vizsgáltuk továbbá U251 glioblasztoma sejtek GABA metabolizmusát, ami kismértékben fokozta a tumorsejtek oxigénfogyasztását. Megfigyeltük a GABA hatását glutaminnal szemben, azt tapasztaltuk, hogy a glutamin önmagában is nagymértékben fokozta az oxidációt. A tumoroksejtekre jellemző glutaminolízis figyelhető meg, és ebben az esetben a glutaminhoz képest GABA hatása kevésbé érvényesül.



Acetát jelenlétében fokozódott az oxidáció.

Piruvát jelenlétében az oxidáció szintén fokozódott.

U251 glioblasztoma sejtek GABA metabolizmusa



GABA jelentősen fokozza az oxigénfogyasztást.

Azonban glutamin mellett a hatás kevésbé érvényesül