



Etl Bálint¹, Horváth Gergő¹, Sváb Gergely¹, Gál Anikó²
Ádám Veronika¹, Molnár Mária Judit², Tretter László¹

¹ Semmelweis Egyetem Orvosi Biokémiai Intézet, MTA-SE Neurobiokémiai Kutatócsoport

² Semmelweis Egyetem Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete

Bevezetés

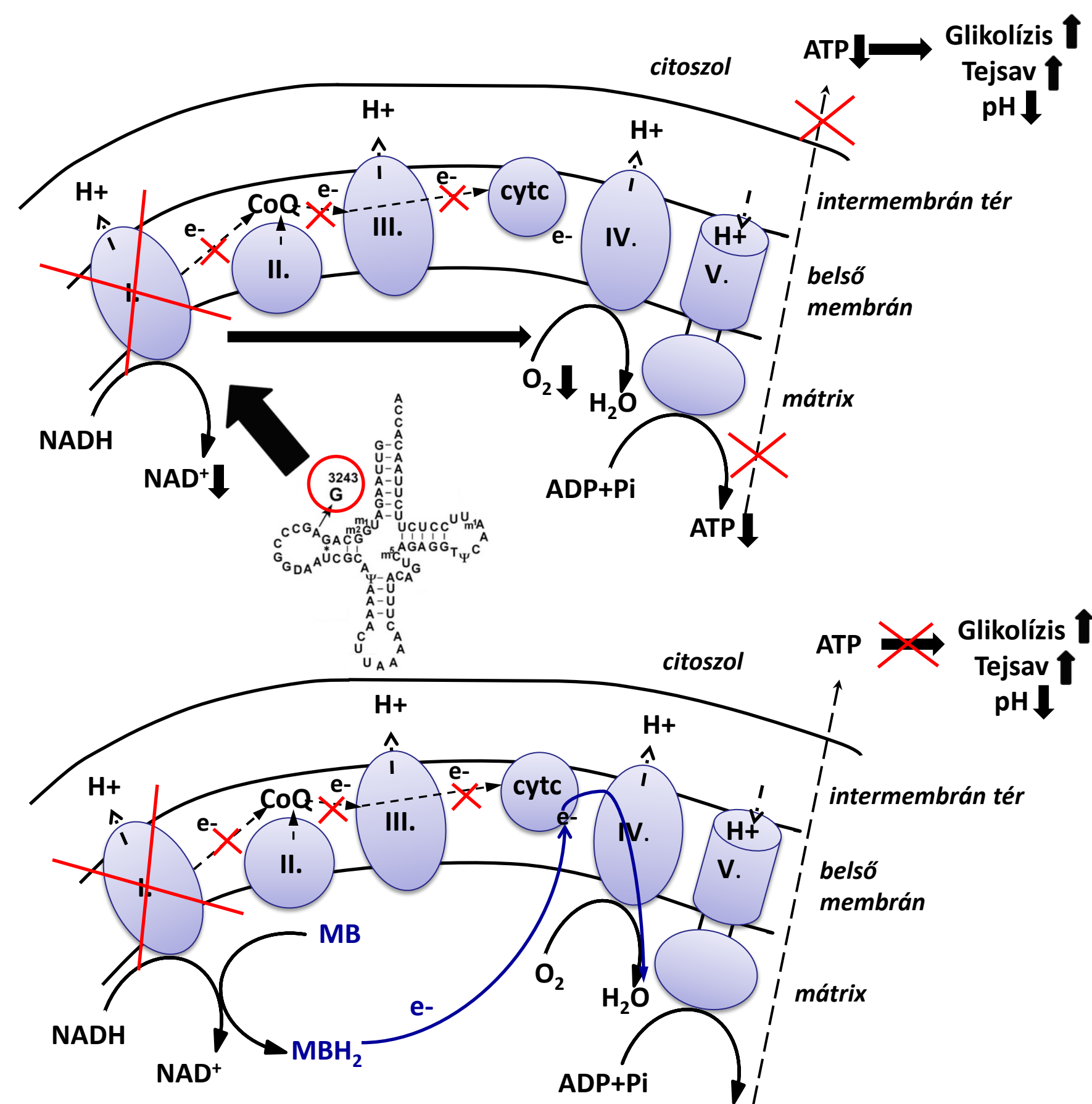
A MELAS-szindróma egy, a mitokondriális betegségek közé tartozó, több szervet érintő, progresszív, neurodegeneratív kórkép. A MELAS betűszó a Mitokondriális Enkefalomiopátia, Laktát Acidózis és Stroke-szerű epizódok rövidítéséből ered. Tüneteit a heteroplazmia (a sejtekben megtalálható mutáns mitokondriumpopuláció aránya) határozza meg, mely egyetlen betegen belül is széles határok között változhat. Tünetei közé tartozhat számos neuropszichiátriai kórkép (érzékenységek, depresszió, migrénes fejfájás, epilepszia), izomgyengeség, gyakori metabolikus krízisek, visszatérő stroke-ok, cukorbetegség. Prognózisa rendkívül rossz, gyakorlatilag gyógyíthatatlan, kezelése jelenleg vitaminokkal, koenzimokkal, antioxidánsokkal, aminosavakkal történik.

A kórkép kialakulásának oka leggyakrabban a MT-TL1 gén (mitokondriális leucin-tRNS 1 (UUA/UUG)) pontmutációja okozza (3243. A>G). A károsodott tRNS specifikus töltőenzimének aktivitása jelentősen csökken, egyúttal megszűnik a wobble lehetősége, így az UUA/UUG bázisripleteket tartalmazó mitokondriális fehérjék szintézise mennyiségi és minőségi zavart szenved, ez különösen a mitokondriális elektrontranszportlánc I. komplexét érinti. Ennek eredményeképpen a légzési lánc aktivitása a károsodott mitokondriumokat tartalmazó sejtekben drasztikusan lecsökken, a mitokondriumok energiatermelő funkciója elromlik. Ezen sejtek stressztűrő képessége jelentősen romlik, glikolitikus aktivitásuk pedig fokozódik, ami hozzájárul a metabolikus krízisek kialakulásához.

Céltűzéseink közé tartozott összehasonlítani egy MELAS-mutáns sejtvonalat egy egészséges sejtvonallal, demonstrálva a bioenergetikai paraméterek jelentős romlását. Ezt követően egy potenciálisan hatékony gyógyszerkezelést, a metilénkék hatását vizsgáltuk a mutáns sejtvonala.

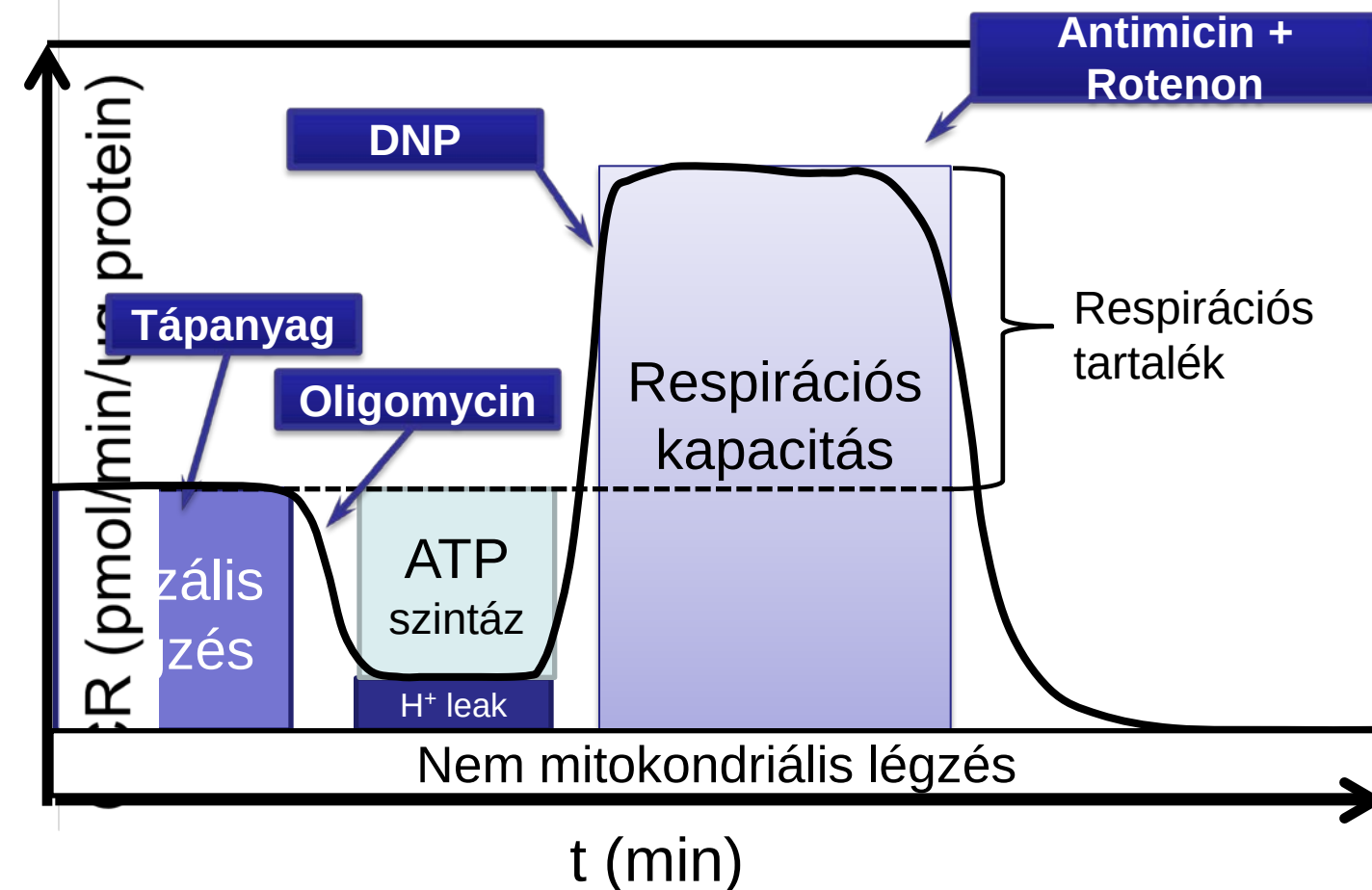
A vizsgálatainkhoz szükséges MELAS-sejtvonalat, mely egy MELAS-szindrómás betegtől származó fibroblaszt vonal volt, a SE Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete biztosította. A sejtek O₂-fogyasztását (OCR) és az extracelluláris médium savanyodását (ECAR) 96 lyukú plate-en, Seahorse XF fluoreszcens platereaderrel vizsgáltuk.

A MELAS mitokondriális szintű patomechanizmusa, a metilénkék hatása



A metilénkék régi gyógyszermolekula, jelenleg is használatos methemoglobinémia kezelésére az Egyesült Államokban, a mitokondriális betegségek kezelése egy új terápiás indikációja lehet. A mitokondriális funkciókat alternatív elektrontranszfer útján képes javítani: oxidált formája elektronokat vesz át a NADH-tól, majd az I., III. komplexeket kikerülve a cyt c-nek juttatja azokat. Így a légzési lánc részlegesen helyreáll, a IV. komplex újra protonokat pumpálhat, az ATP szintézis újraindulhat, és segíthet megelőzni a metabolikus krízis kialakulását.

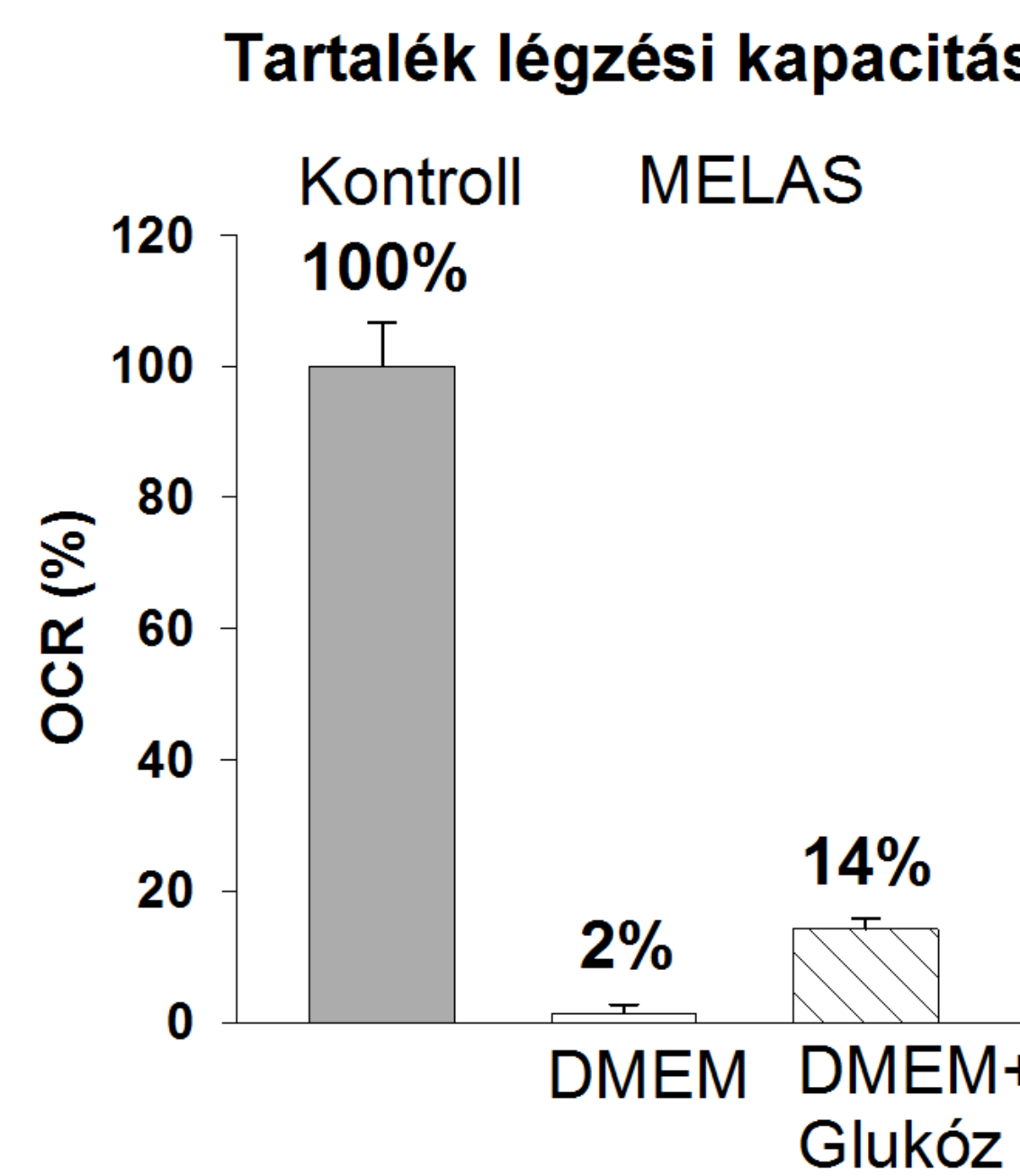
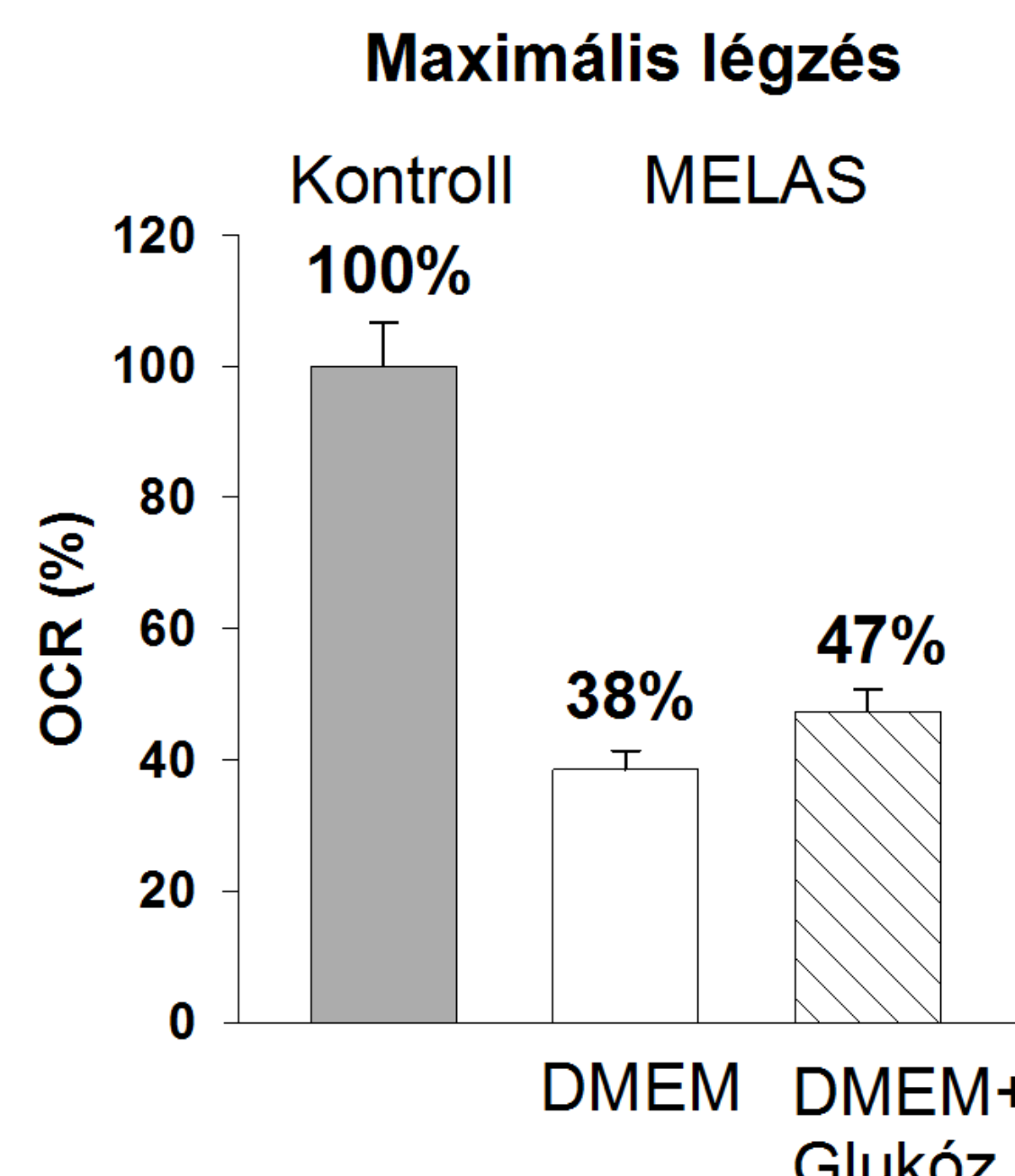
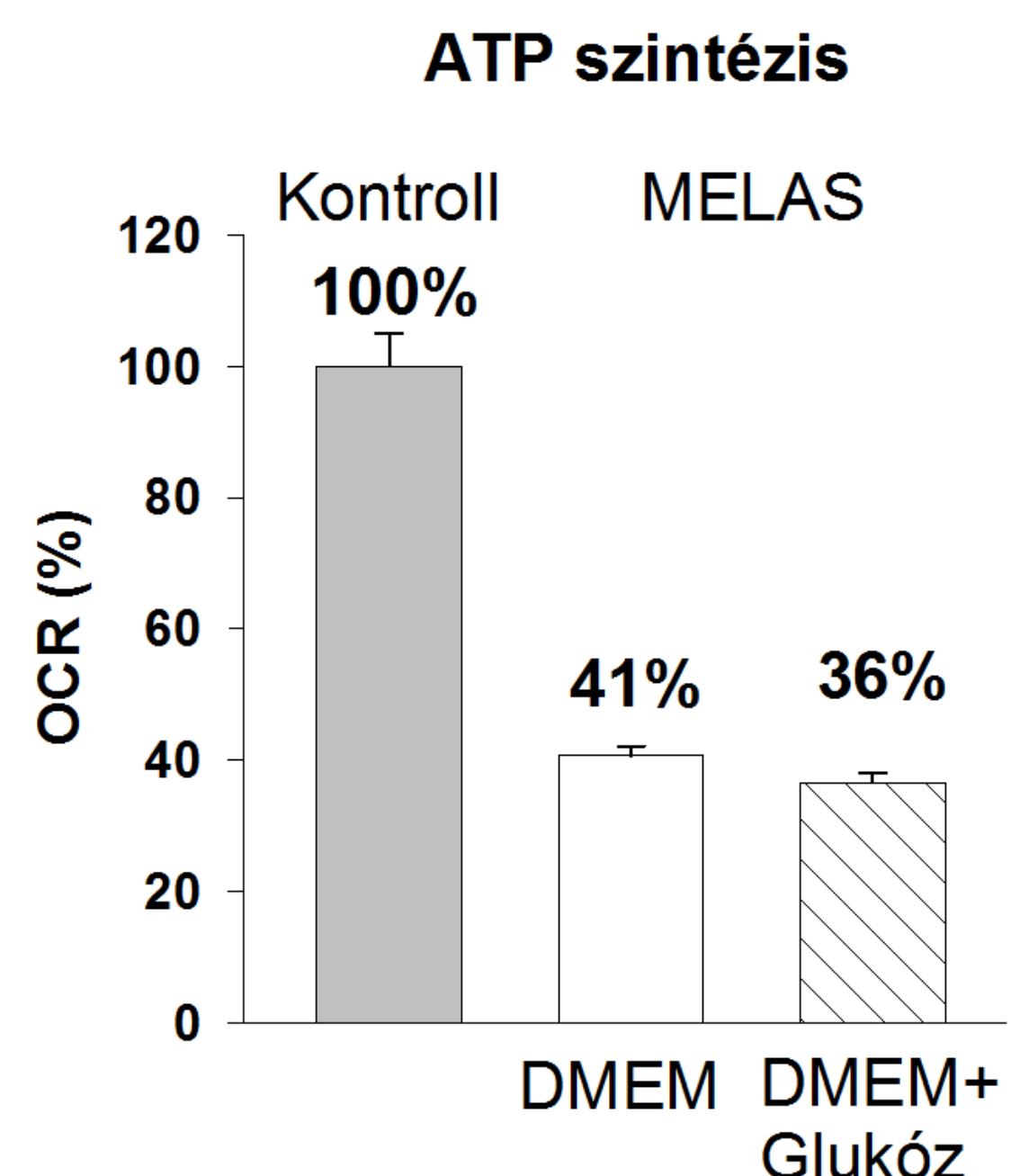
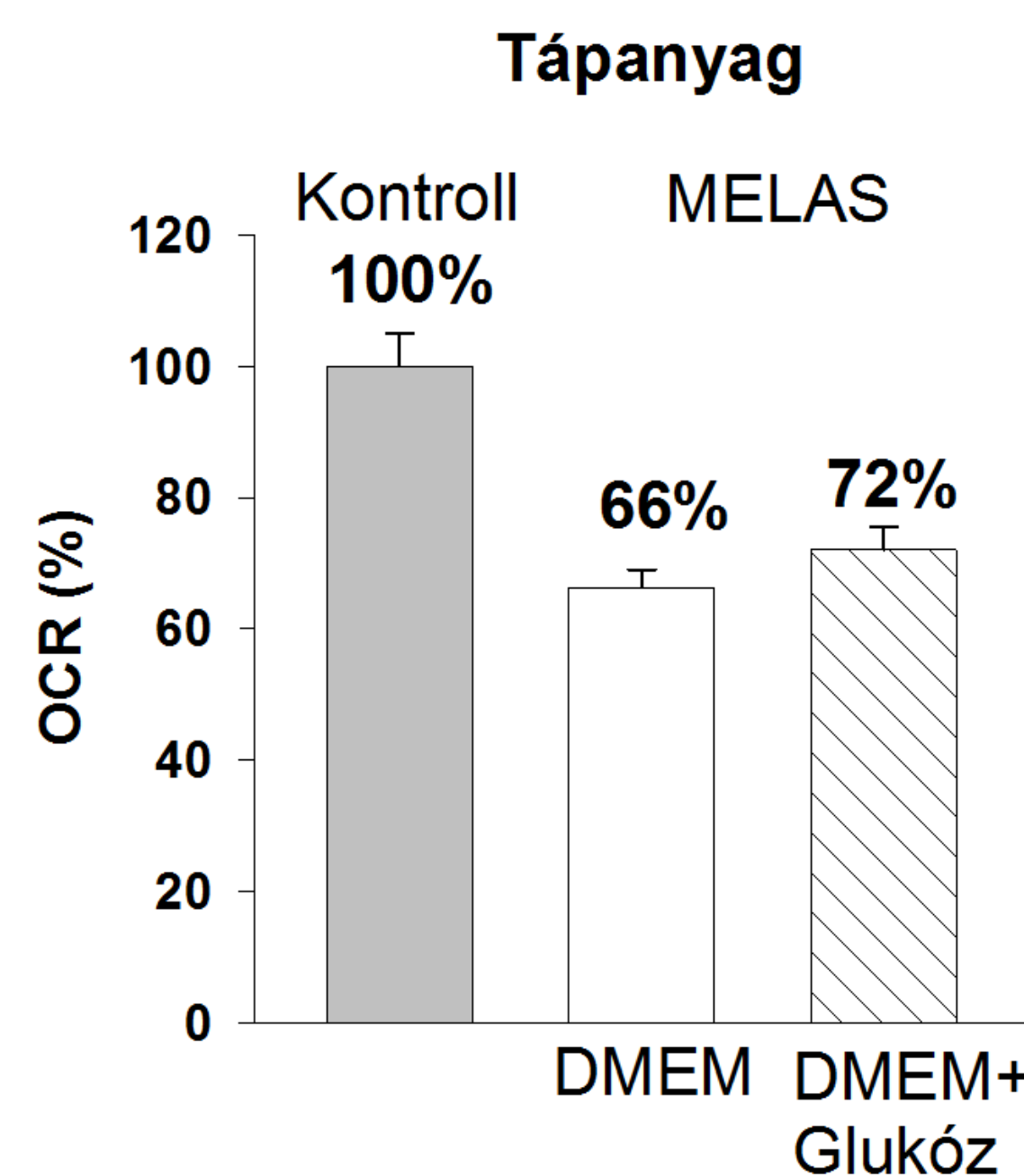
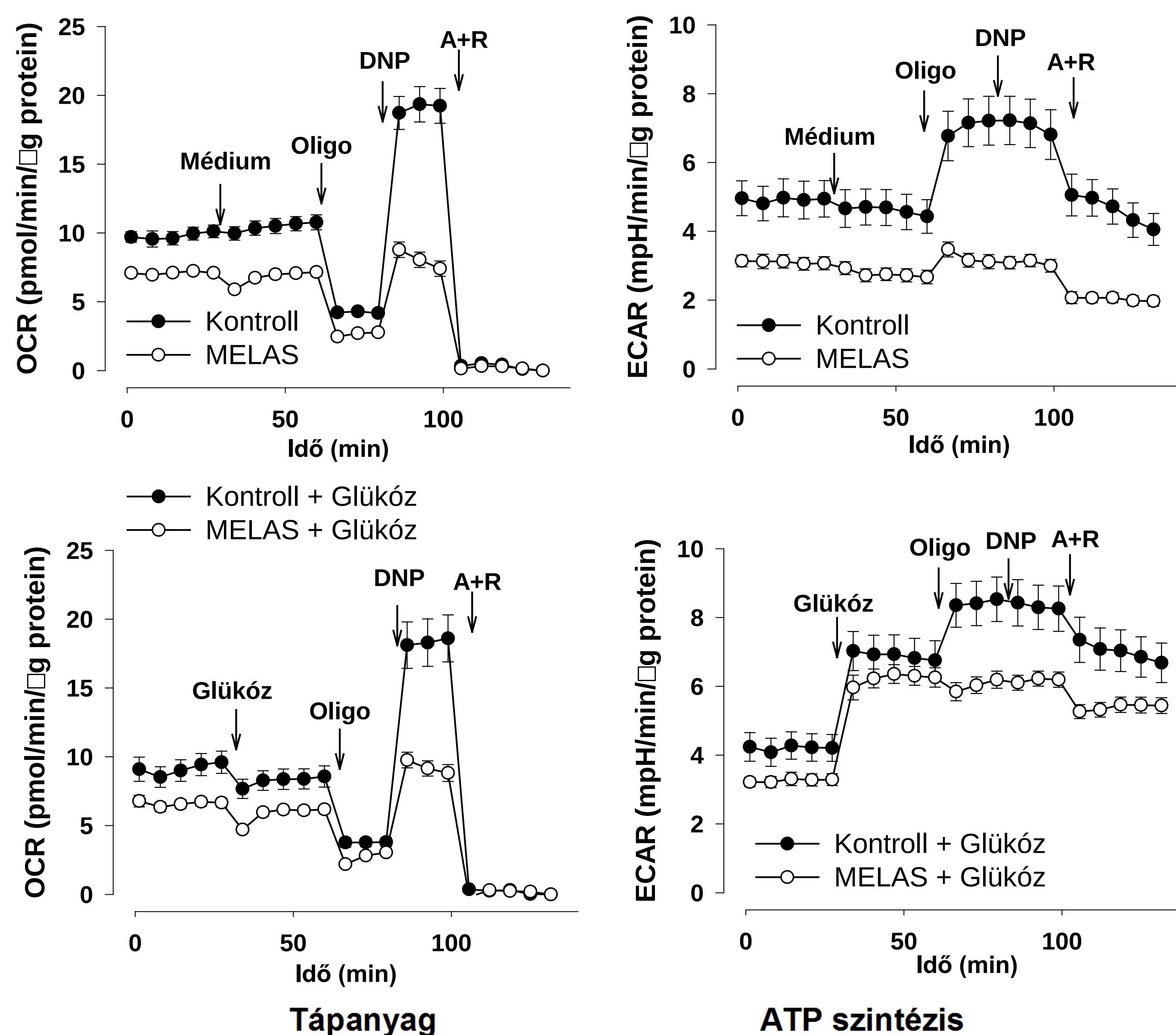
A Seahorse XF által szolgáltatott paraméterek



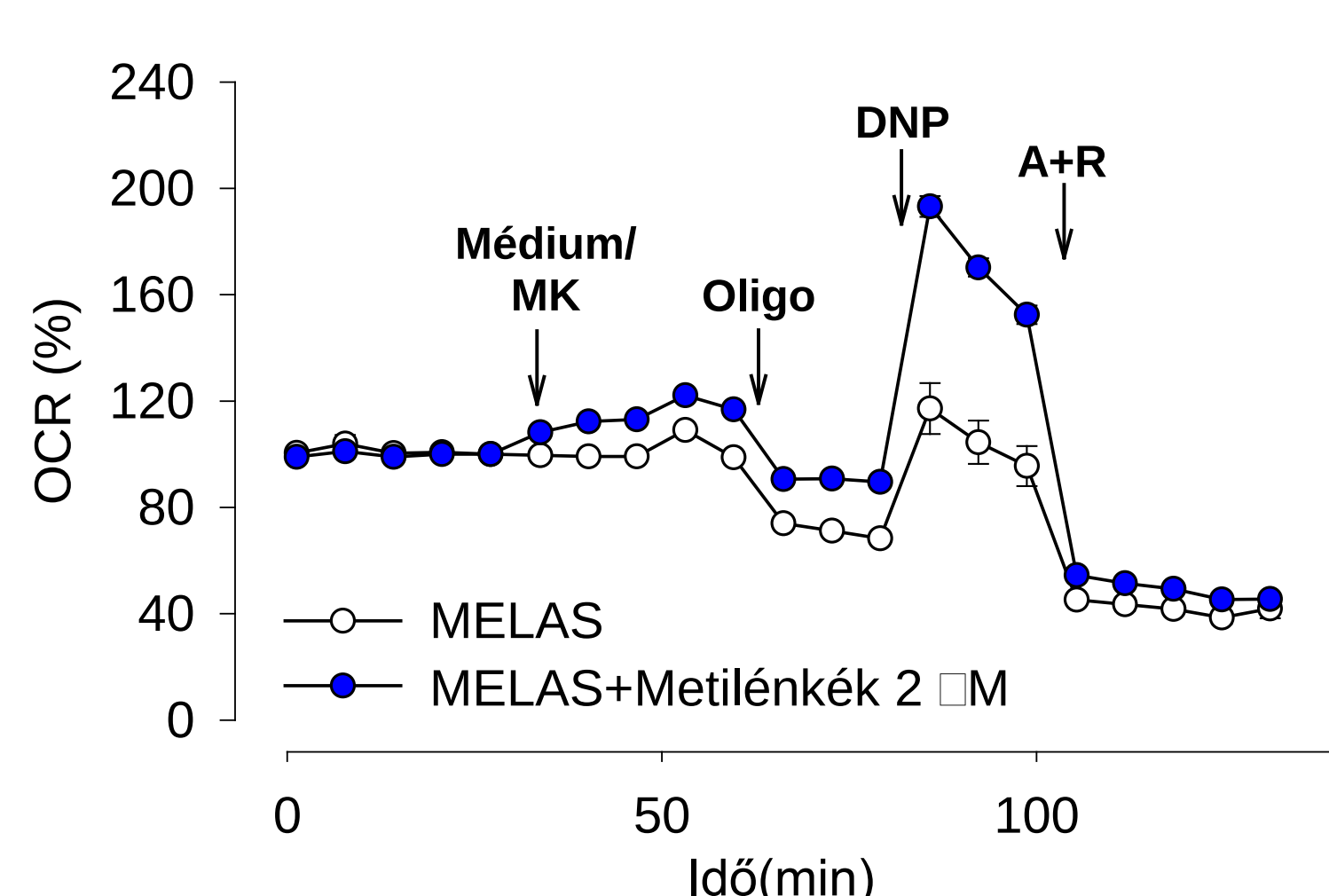
A Seahorse 4 reagens automatikus hozzáadását tudja elvégezni a mérés időtartama alatt. Ezek tipikusan az alábbiak:

1. Tápanyag / vizsgált gyógyszermolekula
2. Oligomycin – az ATP szintáz gátlószere
3. DNP (2,4-dinitrofenol) – Szétkapcsolószér
4. Antimicin és Rotenon – mitokondriális légzési lánc gátlószerei

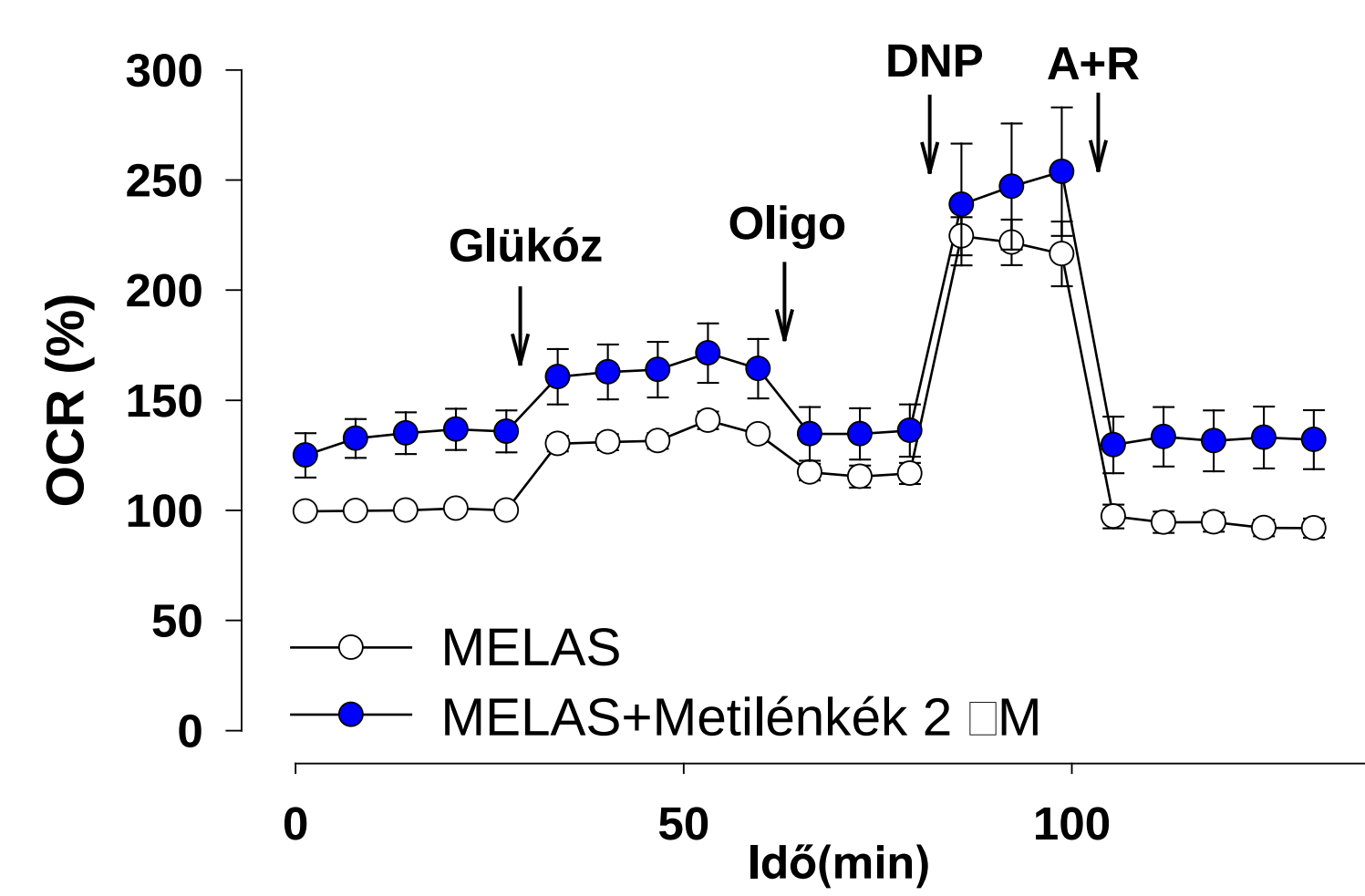
Bioenergetikai paraméterek összehasonlítása



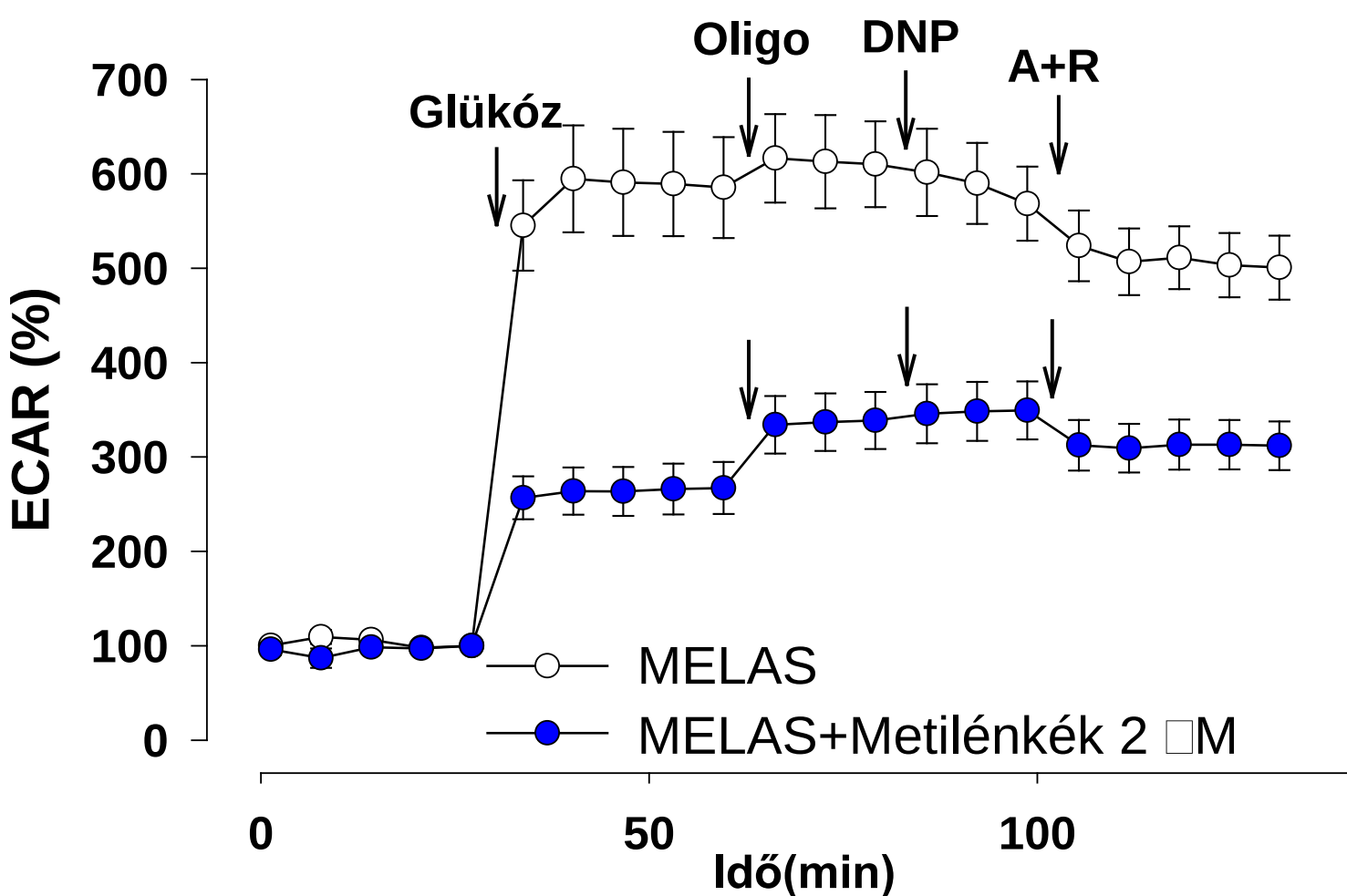
Bioenergetikai paraméterek metilénkék jelenlétében



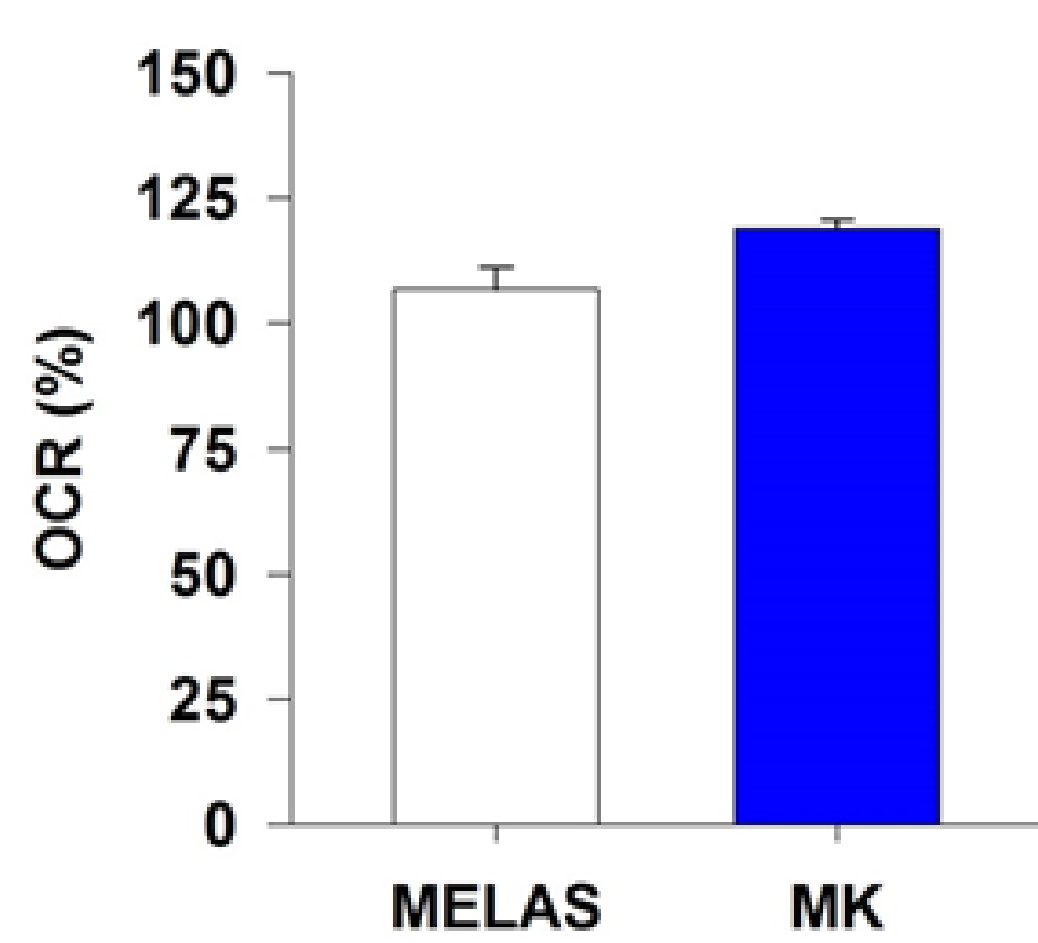
MELAS-sejtek légzése glükóz nélkül



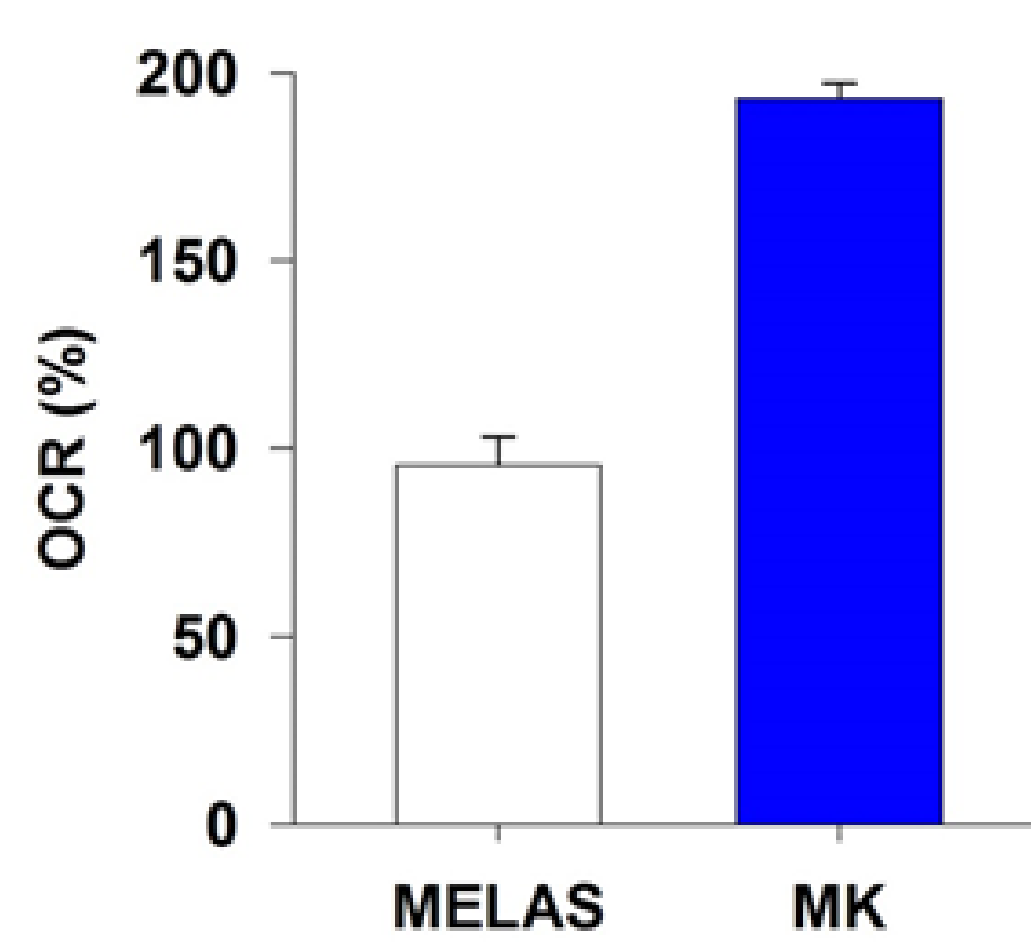
MELAS-sejtek légzése, illetve glikolitikus aktivitása glükóz jelenlétében



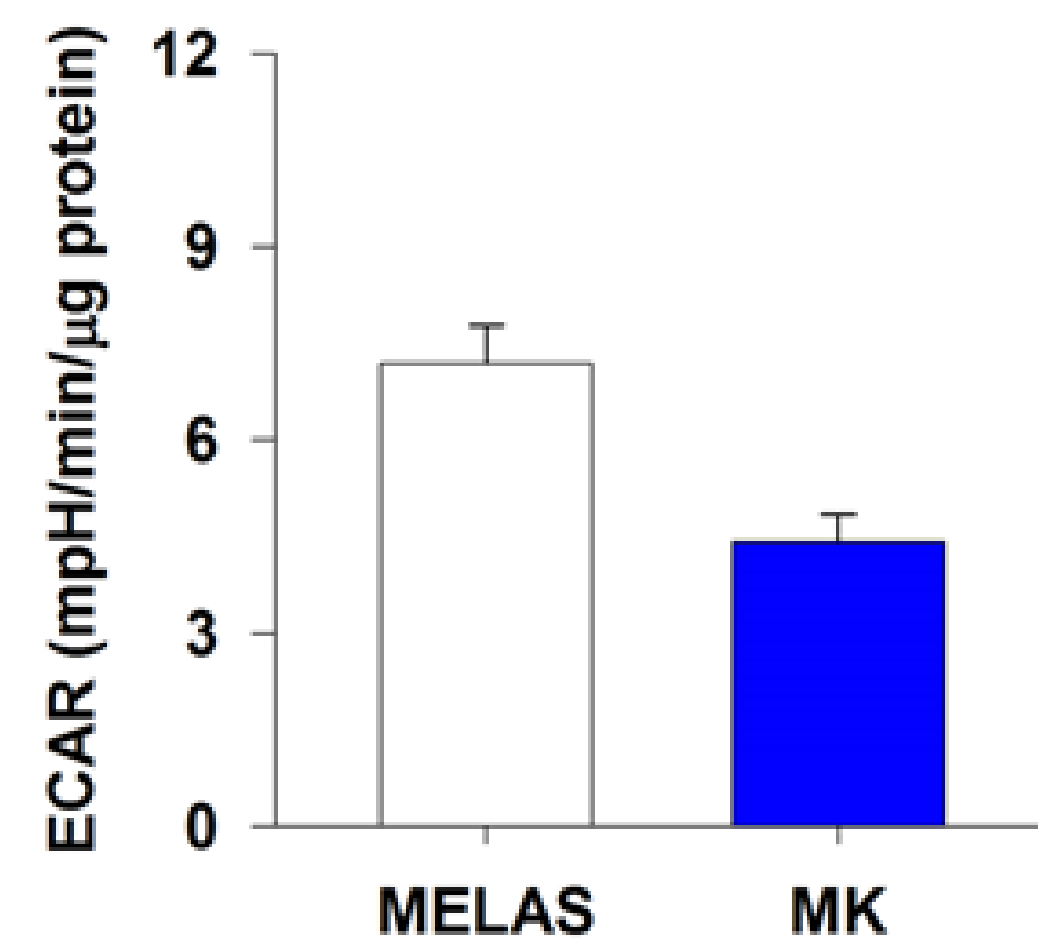
Bazális respiráció



Respirációs kapacitás



Glikolízis



Glikolitikus kapacitás

