

Adrianna Budzińska

Streszczenie pracy doktorskiej pt. „Wpływ bisfosfonianów stosowanych w terapii osteoporozy na metabolizm tlenowy komórek śródbłonka”

Osteoporoza jest najczęstszą chorobą metabolizmu kości, głównie wśród kobiet w wieku pomenopauzalnym. Najczęściej stosowanymi lekami zmniejszającymi resorpcję kości są bisfosfoniany zawierające azot (N-BPs). Mechanizm działania N-BPs opiera się na blokowaniu enzymu syntazy farnesylopirofosforanu (FPPS) w szlaku mewalonowym. Szlak mewalonowy odgrywa ważną rolę w wielu procesach komórkowych takich jak prenylacja białek i modyfikacje potranslacyjne a także synteza cząsteczek zawierających jednostki izoprenoidowe, w tym hemów a (grup prostetycznych kompleksu IV) czy koenzymu Q (CoQ). CoQ jest kluczowym przenośnikiem elektronów w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym oraz ważnym przeciwutleniaczem chroniącym przed uszkodzeniami peroksydacyjnymi, obecnym we wszystkich błonach komórki, głównie mitochondrialnych. Komórki śródbłonka wyściełają naczynia krwionośne, co sprawia, że mają ciągły kontakt z substancjami transportowanymi przez krew, w tym lekami.

Praca doktorska koncentruje się na wieloaspektowym wpływie N-BPs na metabolizm tlenowy komórek śródbłonka naczyń krwionośnych. Rozprawa złożona jest z dwóch prac doświadczalnych i jednej pracy przeglądowej, które prezentują analizę mechanizmów, za pomocą których N-BPs, takie jak alendronian i zoledronian, wpływają na metabolizm energetyczny, stres oksydacyjny i funkcjonowanie mitochondriów w komórkach.

Materiałem badawczym użytym w pracach doświadczalnych były ludzkie komórki śródbłonka EA.hy926, traktowane przez sześć dni 5 μ M alendronianem lub 1 μ M zoledronianem, oraz izolowane mitochondria z tych komórek. Analiza zmian metabolizmu energetycznego wywołanych przez N-BPs została przeprowadzona w dwóch etapach tj. na poziomie komórkowym (Publikacja 1) oraz mitochondrialnym (Publikacja 2).

Doświadczenia przeprowadzone na całych komórkach śródbłonka (Publikacja 1) pokazały, że N-BPs wywołują spadek żywotności komórek, nasilony stres oksydacyjny i stan zapalny oraz obniżenie aktywności szlaku sygnałowego ERK1/2 zależnego od prenylacji. Stwierdzono także istotne zmiany w metabolizmie energetycznym komórek polegające na zwiększeniu oddychania beztlenowego, obniżeniu mitochondrialnego utleniania głównych substratów oddechowych (oprócz kwasów tłuszczowych) i spadku poziomu ATP. Po raz pierwszy pokazano, że zahamowanie szlaku mewalonowego przez N-BPs wywołuje w komórkach śródbłonka znaczny spadek poziomu całkowitego CoQ oraz utratę jego zredukowanej puli. Zmianom tym towarzyszy wzrost produkcji reaktywnych form tlenu (RFT). Badania wskazują, że N-BPs zmieniają także dynamikę mitochondriów poprzez redukcję ich fragmentacji. A zatem, N-BPs modulują metabolizm energetyczny komórek śródbłonka prowadząc do zmian w statusie energetycznym komórek, homeostazie redoks CoQ, aktywności metabolizmu tlenowego i kontroli jakości mitochondriów.

Kolejne badania prowadzone na poziomie mitochondriów izolowanych z komórek śródbłonka poddanych sześciodniowej hodowli z N-BPs (Publikacja 2) koncentrowały się na adaptacji bioenergetyki mitochondriów do dużego ponad 40% spadku poziomu mitochondrialnego CoQ (mtCoQ) wywołanego zahamowaniem szlaku mewalonowego. W mitochondriach komórek traktowanych N-BPs w porównaniu do mitochondriów kontrolnych, obniżeniu całkowitej puli i utracie zredukowanej puli mtCoQ towarzyszy większa produkcja RFT i aktywacja systemów antyoksydacyjnych. Niedobór mtCoQ prowadzi do obniżonego utleniania substratów oddechowych (oprócz kwasów tłuszczowych), obniżonej aktywności kompleksów II i

III oraz syntazy ATP, spadku potencjału błonowego mitochondriów, efektywności syntezy ATP oraz reorganizacji superkompleksów łańcucha oddechowego. Większa produkcja RFT związana jest z większym poziomem redukcji mtCoQ. Po raz pierwszy zaobserwowano, że N-BPs mogą prowadzić do obniżenia poziomu hemów a w mitochondriach. A zatem wyniki te wskazują, że wywołane przez N-BPs zaburzenie homeostazy redoks mtCoQ może istotnie wpływać na aktywność bioenergetyczną mitochondriów komórek śródbłónka.

Praca przeglądowa przedstawiona w ramach rozprawy (Publikacja 3) zbiera wyniki dotychczasowych badań, wskazujące na szerokie spektrum działania N-BPs poza tkanką kostną – w tym ich wpływ na organizację cytoszkieletu, apoptozę zależną od mitochondriów, gospodarkę wapniową oraz procesy związane z kontrolą jakości mitochondriów. N-BPs, jako inhibitory szlaku mewalonowego, powodują szereg skutków ubocznych zarówno na poziomie całej komórki jak i dotyczących funkcjonowania mitochondriów. Dalsze badania nad złożonym powiązaniem pomiędzy szlakiem mewalonowym, funkcjonowaniem mitochondriów a ogólną homeostazą komórkową mogą być istotne dla optymalizacji klinicznego zastosowania N-BPs, być może uwzględniającego suplementację CoQ10, i ograniczenia efektów ubocznych w tkankach niebędących celem terapii.

Wnioski z pracy doktorskiej podkreślają istotne, potencjalnie niepożądane skutki działania N-BPs na komórki niezwiązane z kośćcem, na przykładzie komórek śródbłónka. Przedstawione badania sugerują, że efekty te mogą przyczyniać się do powikłań sercowo-naczyniowych u pacjentów leczonych N-BPs, a mechanizmy mitochondrialne mogą stanowić istotny punkt docelowy dalszych badań oraz potencjalnych strategii ochronnych.