

STRESZCZENIE POPULARNONAUKOWE W JĘZYKU POLSKIM

Encefalopatia wątrobowa (HE) jest zespołem objawów neuropsychiatrycznych, powstałych najczęściej w wyniku uszkodzenia wątroby. Można wyróżnić postać utajoną HE, która charakteryzuje się dyskretnymi objawami neuropsychicznymi (widocznymi dopiero w badaniach psychometrycznych czy badaniach „critical flicker frequency test”) i dotyka około 70% pacjentów oraz postać jawną, w której objawy są gwałtowne. Przyczyną HE może być krwotok do przewodu pokarmowego, wirusowe zapalenie wątroby, przedawkowanie leków lub zatrucie substancjami toksycznymi, z kolei postać przewlekła rozwija się wskutek np. przedawkowania alkoholu. Objawy choroby dotyczą zarówno zaburzeń fizycznych jak i psychicznych, a w zależności od stadium zaawansowania choroby, obejmują od kłopotów z koncentracją, dezorientację, spowolnienie ruchowe, otępienie, aż do śpiączki prowadzącej niekiedy do śmierci. Mechanizm jej powstawania nie jest w pełni poznany, dlatego leczenia pacjentów opiera się głównie na eliminowaniu czynników pogarszających stan pacjentów (diety niskobiałkowe, środki przeczyszczające) oraz usuwaniu objawów (dializy, antybiotyki) a nawet przeszczepie wątroby.

Patomechanizm HE nie został dokładnie poznany, wiadomo jednak, że głównym czynnikiem wywołującym chorobę jest wysokie stężenie amoniaku, spowodowane nieprawidłową detoksykacją w wątrobie. Wysokie stężenie tej neurotoksyny w mózgu powoduje szereg zmian fizjologicznych i morfologicznych, z dysfunkcją astrocytów i wystąpieniem stresu oksydacyjnego na czele. Obecny pogląd zakłada, że zaburzenia neurotransmisji, prowadzące do powstawania objawów HE, są spowodowane nieprawidłowym działaniem kanałów jonowych oraz białek transportujących neurotransmitery wywołanym dysfunkcją astrocytów. Niektóre doniesienia literaturowe oraz wstępne badania własne skłaniają nas jednak do wniosku, że zmiany ekspresji i lokalizacji białek synaptycznych, morfologia synaps oraz niektóre parametry elektrofizjologiczne mogą bezpośrednio wpływać i przyczyniać się do powstania zaburzeń neurotransmisji.

W wyniku uszkodzenia wątroby, oprócz amoniaku we krwi rośnie także stężenie TGF- β 1. Jest to cytokina, która kontroluje wzrost komórek, ich proliferację, różnicowanie i apoptozę m. in. regulację przeżycia neuronów. W przypadku wystąpienia niektórych urazów mózgu, jak np. w warunkach ekscytotoksycznego uszkodzenia, pełni rolę neuroprotekcijną. Wzrost ekspresji tej cytokiny w mózgu może powodować wzrost ekspresji podjednostek układów AMPA i NMDA i nadmiernie pobudzać działanie układu glutaminergicznego. Dlatego też, białko to może odgrywać istotną rolę w patogenezie HE, a jego rola, zwłaszcza dotycząca wpływu na ekspresję i lokalizację komórkową/subkomórkową białek z przestrzeni synaptycznej, będzie przedmiotem prezentowanego projektu.

Dane literaturowe, a także wyniki naszych badań wstępnych skłoniły nas do zaproponowania projektu, w którym planujemy przy wykorzystaniu sprawdzonego w Zakładzie Neurotoksykologii mysiego azoksymetanowego (AOM) modelu ostrej encefalopatii wątrobowej, zbadać ekspresję białek przestrzeni pre- i post-synaptycznej, ich lokalizację komórkową, morfologię synaps, podstawowe parametry elektrofizjologiczne oraz wpływ neutralizacji cytokiny TGF- β 1 na te czynniki. Zbadanie wpływu TGF- β 1 możliwe będzie poprzez zneutralizowanie tej cytokiny u myszy kontrolnych oraz w modelu AOM. Ekspresja białek biorących udział w dokowaniu pęcherzyków do błony synaptycznej, takich jak synaptofizyny, synaptotagminy i syntaksyny-1 oraz białe tworzących kompleks PSD-95-nNOS-NMDA w przestrzeni postsynaptycznej zostanie zmierzona metodą western blot. Wykorzystując metody obrazowania -mikroskop konfokalny, badana będzie komórkowa lokalizacja tychże białek. Dzięki użyciu mikroskopu elektronowego poznana zostanie morfologia synaps. Przy użyciu metody rejestracji whole-cell patch-clamp będzie określana charakterystyka prądowo-napięciowa badanych neuronów a następnie będą rejestrowane spontaniczne postsynaptyczne prądy pobudzające (sEPSC) i hamujące (sIPSC). W obecności tetrodotoksyny, blokera kanałów sodowych, będą rejestrowane miniaturowe EPSC i IPSC. Zmierzone zostanie także długotrwałe wzmocnienie synaptyczne (LTP).

Podsumowując, zbadanie postawionych w projekcie hipotez (1) w HE dochodzi do zaburzeń w ekspresji/lokalizacji komórkowej białek synaptycznych, morfologii synaps oraz parametrów elektrofizjologicznych, takich jak EPSC, IPSC i LTP, oraz (2) TGF- β 1 (transforming growth factor beta) wpływa na te zmiany, może w przyszłości stworzyć podstawy do szybszych, a przez to skuteczniejszych interwencji farmakologicznych, nacelowanych zwłaszcza na zatrzymanie czy opóźnienie zmian w neurotransmisji, które u pacjentów w późniejszym stadium rozwoju choroby prowadzi do zaburzeń poznawczych, zaburzeń motoryki i koordynacji. Być może, badania umożliwią zaprojektowanie terapii nakierowanej na cytokinę TGF- β 1, a jednocześnie poszerzą naszą ogólną wiedzę na temat jej roli w rozwoju zmian neuronalnych.