

Mgr Rafał Kampa
„Flawonoidy kardioprotekcyjne: nowe regulatory mitochondrialnych kanałów potasowych”

Streszczenie

Choroby układu krążenia jako efekt nieprawidłowego stylu życia i niezdrowej diety często prowadzą do zawału mięśnia sercowego, a nawet zgonu. Ostatnio coraz więcej uwagi poświęca się roli mitochondrialnych kanałów potasowych w ochronie komórek przed skutkami niedotlenienia lub stresu oksydacyjnego. Wykazano, że aktywacja kanałów potasowych obecnych w wewnętrznej błonie mitochondrialnej może zapobiegać skutkom niedokrwienia lub znacznie je ograniczać, indukując szlaki cytoprotekcyjne w komórce. Jednak syntetyczne aktywatory kanałów potasowych wykazują szereg skutków ubocznych. Dlatego celem niniejszej rozprawy doktorskiej było poszukiwanie nowych aktywatorów mitochondrialnego kanału potasowego o dużym przewodnictwie regulowanego jonami wapnia (mitoBK_{Ca}) pochodzenia naturalnego - kardioprotekcyjnych flawonoidów oraz określenie ich roli w cytoprotekcji indukowanej przez aktywację kanału mitoBK_{Ca}. Na podstawie literatury, do badań wyselekcjonowano kilka flawonoidów: naringeninę i jej pochodne, luteolinę, kwercetynę i cyjanidynę.

Praca koncentruje się na opisie bezpośredniego oddziaływania flawonoidów z mitochondrialnymi kanałami potasowymi wykorzystując technikę patch-clamp. Fizjologiczną rolę regulacji kanałów potasowych obserwowano w testach migracji oraz apoptozy i nekrozy. Z kolei bezpośredni efekt mitochondriotropowy flawonoidów określano poprzez ocenę zmian potencjału wewnętrznej błony mitochondrialnej, oddychania komórkowego czy ekspresji genów i białka podjednostek kanału mitoBK_{Ca}.

W wyniku przeprowadzonych badań zidentyfikowano nowe aktywatory kanału mitoBK_{Ca} pochodzenia naturalnego: kwercetynę i naringeninę oraz aktywatory kanału w środowisku zredukowanym: cyjanidynę i luteolinę. Wykazano, że pochodne naringeniny: naringenina-TPP⁺, chalkon naringeniny i 6-C-glukozyd naringeniny są inhibitorami kanału mitoBK_{Ca}. Naringenina-TPP⁺, jako inhibitor mitoBK_{Ca}, hiperpolaryzuje błonę mitochondrialną i spowalnia migrację komórkową, jednakże ochrania komórki przed apoptozą i nekrozą. Dla cyjanidyny i luteoliny nie wykazano znaczącej roli fizjologicznej. Kwercetyna i naringenina, jako aktywatory mitoBK_{Ca} ochraniają komórki przed śmiercią, przyspieszają migrację oraz depolaryzują wewnętrzną błonę mitochondrialną. Kwercetyna dodatkowo zwiększa oddychanie i wpływa na ekspresję podjednostki β3 kanału mitoBK_{Ca}. Co ciekawe, w wyniku aktywacji mitoBK_{Ca} przez kwercetynę, paksylina nie wykazuje właściwości blokujących aktywność kanału, czego nigdy wcześniej nie zaobserwowano.

Mgr Rafał Kampa
„Flawonoidy kardioprotekcyjne: nowe regulatory mitochondrialnych kanałów potasowych”

Abstract

Cardiovascular diseases as a result of an incorrect lifestyle and unhealthy diet often lead to myocardial infarction and even death. Recently, more and more attention has been paid to the role of mitochondrial potassium channels in protecting cells from the effects of hypoxia or oxidative stress. It has been shown that activation of potassium channels present in the inner mitochondrial membrane can prevent or significantly reduce the effects of ischemia by inducing cytoprotective pathways in the cell. However, synthetic potassium channel activators have a number of side effects. Therefore, the aim of this dissertation was to search for new large-conductance calcium-regulated mitochondrial potassium channel activators (mitoBK_{Ca}) of natural origin - cardioprotective flavonoids and to determine their role in cytoprotection induced by mitoBK_{Ca} channel activation. Based on the literature, several flavonoids were selected for research: naringenin and its derivatives, luteolin, quercetin and cyanidin.

The work focuses on the description of the direct interaction of flavonoids with mitochondrial potassium channels using the patch-clamp technique. The physiological role of potassium channel regulation was observed in migration, apoptosis and necrosis tests. In turn, the direct mitochondriotropic effect of flavonoids was determined by assessing changes in the potential of the inner mitochondrial membrane, cellular respiration or gene and protein expression of the mitoBK_{Ca} channel subunits.

As a result of the conducted research, new mitoBK_{Ca} channel activators of natural origin were identified: quercetin and naringenin and channel activators in a reduced environment: cyanidin and luteolin. The naringenin derivatives: naringenin-TPP⁺, naringenin chalcone and naringenin-6-C-glucoside have been shown to be inhibitors of the mitoBK_{Ca} channel. Naringenin-TPP⁺, as an inhibitor of mitoBK_{Ca}, hyperpolarizes the mitochondrial membrane and slows down cell migration, but protects cells against apoptosis and necrosis. For cyanidin and luteolin, no significant physiological role was demonstrated. Quercetin and naringenin, as mitoBK_{Ca} channel activators, protect cells against death, accelerate migration and depolarize the inner mitochondrial membrane. Quercetin additionally increases respiration and influences the expression of the β3 subunit of the mitoBK_{Ca} channel. Interestingly, as a result of mitoBK_{Ca} activation by quercetin, paxilline does not exhibit any channel activity blocking properties, which has never been observed before.