

# Isofluraani moduloi mikrotubulusten stabiliteettia ja kuljetuskykyä keskushermostossa mikroRNA-9:n ekspresion välityksellä *in vitro* ja *in vivo*

Anand Rao<sup>1</sup>, Oiva Arvola<sup>1,2</sup>, Brian Griffiths<sup>1</sup>, Creed Stary<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Anesthesiology, Perioperative and Pain Medicine, Stanford University, CA, USA

<sup>2</sup>Leikkaus- ja anestesiaosasto, Jorvin Sairaala, HUS, Helsingin Yliopisto

► **TUTKIMUKSEN TARKOITUS.** Laajasta käytöstä huolimatta inhalaatioanesteettien tarkat vaikutusmekanismit ovat huonosti tunnettuja. Mikrotubulukset ovat solun toiminnalle välttämättömiä solusisäisiä tubuliini-alayksiköiden polymeerejä. Niiden stabiilisuuden muutokset häiritsevät mitokondrioiden, välittäjäaineita sisältävien rakkuloiden, kalvoproteiinien ja muiden muun muassa aivojen kehitykseen ja toimintaan tarvittavien solusisäisten lastien kuljetusta. Mikrotubulusten stabiilisuutta säätelevät mikrotubuluksiin assosioituneet proteiinit (MAP) ja tubuliinin modifikaatiot. Muutokset näissä kehityksen, ikääntymisen ja/tai vaurioiden seurauksena on hyvin dokumentoitu, mutta inhalaatioanestesian vaikutusta tässä yhteydessä ei ole tutkittu. MikroRNA:t ovat luokka proteiineja koodaamattomia RNA:ita, jotka vaimentavat kohdegeenien proteiinin translaation. Isofluraani nostaa mikroRNA-9-pitoisuutta merkittävästi keskushermostossa<sup>1</sup>, mikä vaikuttaa mikrotubuluksiin useiden MAP:ien, kuten mikrotubulusten destabilisaattori stathmin-1:n välityksellä<sup>2</sup>. Tutkimme hypoteesia, jonka mukaan inhalaatioanesteetit häiritsevät

mikroRNA-9-välitteisesti stathmin-1:n kautta hermo- ja gliasolujen mikrotubulusten stabiliteettia vaikuttaen merkittävästi solusignalointiin.

**AINEISTO JA MENETELMÄT.** Astroosyyti- ja hermosoluviljelmät altistettiin 2% isofluraanille 2–6 tunnin ajan, jota seurasi mikroRNA-9:n pitoisuus, tubuliinin biokemiallinen ja immunofluoresoiva arviointi ja mikrotubulusväliteinen mitokondriokuljetuksen kuvantaminen elävien solujen fluoresenssikuvauksella. MikroRNA-9:n vaikutus mikrotubulusten dynamiikkaan mitattiin jatkuvalla fluoresoivalla elävien solujen EB3-komeetakuvausella. Hiirimalissa injektointiin unilateraalisesti aivokammionsisäisesti mikroRNA-9-inhibiittoria, mikroRNA-9-kopiota tai kontrolliliuosta, ja hiirten käyttäytymisen muutokset vasteena isofluraanille arvioitiin. Myös stathmin-1:n ja mikrotubulusten stabiilisuuden morfologiset muutokset määritettiin.

**TULOKSET.** Stabiilin ja epästabiilin tubuliinin suhde väheni hermosolujen ja astroosyytien isofluraanialtistuksen seurauksena. Samaan aikaan mikroRNA-9:n ekspresio

lisääntyi. Isofluraanialtistus vähensi EB3-komeettojen lukumäärää ja johti mikrotubulusten kasvuvauhdin hidastumiseen, kun taas mikroRNA-9:n esto lisäsi stabiilisuutta hermosoluviljelmissä. MikroRNA-9-inhibiittorilla hoidetuilla hiirillä havaittiin lisääntynyttä latenssia vasteena anestesiaalle ja lyhentynyttä oikaisurefleksin aikaa. Värjäykset osoittivat muutoksia mikroRNA-9- ja stathmin-1-tasoissa.

**JOHTOPÄÄTÖKSET.** Isofluraanialtistus epävakauttaa mikrotubuluksia indusoimalla mikroRNA-9-pitoisuutta. MAP:ien ja mikroRNA-9:n ollessa ikäspesifisiä kriittisiä hermosolukehityksen säätelijöitä, löydökset voivat selittää anestesian eroja eri ikäisillä, kuten MAC-arvossa, neurotoksisuudessa ja -suojauksessa. ■

## VIITTEET

1. Zhang L, Zhang Y, Hu R, et al. Isoflurane inhibits embryonic stem cell self-renewal and neural differentiation through miR-9/E-cadherin signaling. *Stem Cells Dev.* 2015;24(16):1912-1922.
2. Delaloy C, Liu L, Lee JA, et al. MicroRNA-9 coordinates proliferation and migration of human embryonic stem cell-derived neural progenitors. *Cell Stem Cell.* 2010;6(4):323-335.