



ÚJ MOLEKULÁRIS MECHANIZMUSOK, DIAGNOSZTIKUS ÉS TERÁPIÁS CÉLPONTOK METABOLIKUS ÉS KARDIOVASZKULÁRIS KÓRKÉPEKBEN

GINOP-2.3.2-15-2016-00006

SZÉCHENYI



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Regionális
Fejlesztési Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE

Új molekuláris mechanizmusok, diagnosztikus és terápiás célpontok metabolikus és kardiovaszkuláris kórképekben

.....

Egyedi azonosító:

GINOP-2.3.2-15-2016-00006

METAKARD

Felhíváskód:

GINOP-2.3.2-15

Pályázat pénzügyi adatai:

Projekt összköltsége:

1 439 117 609 Ft.

Pályázati intenzitás: 100 %

Debreceni Egyetem által

igényelt támogatás:

550 000 000 Ft.

Konzorcium tagjai:

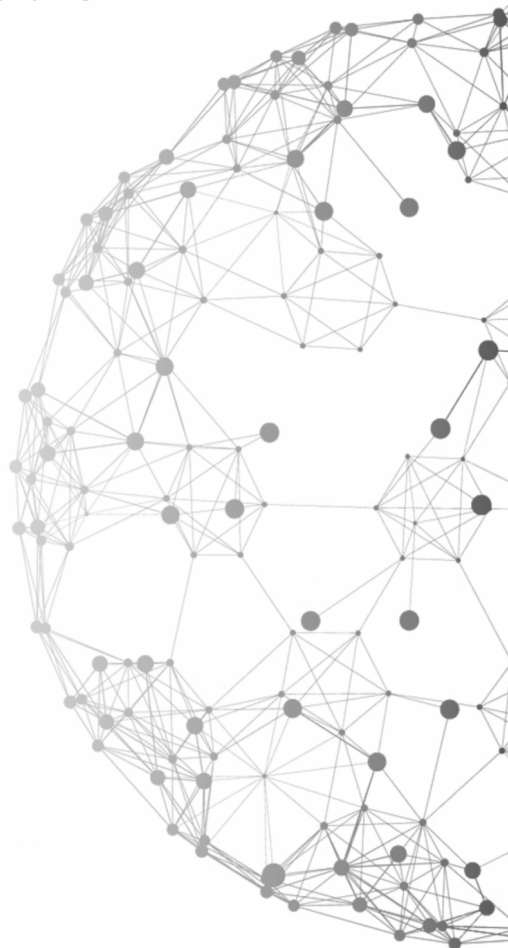
- Debreceni Egyetem
- Szegedi Tudományegyetem
- MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont

Pályázat kezdete:

2016. 09. 23.

Pályázat vége:

2021. 11. 29.



A metabolikus folyamatok zavara meghatározó a leggyakoribb emberi betegségekben, mint a cukorbetegség, érelmeszesedés, stroke és a szívélégtelenség. A perifériás szövetekben kialakuló anyagcsere elváltozások közvetlen következményei a szív és érrendszer megbetegedései, ezért kontinuumként kell kezelni a zsírszövetben, a vázizomban vagy a májban lezajló kórélettani folyamatokat és a kialakuló szív és érrendszeri komplikációkat a molekuláris okok kutatásában. Az ezen az elven készült pályázatban vázolt kutatási program klinikailag nem, vagy csak részben megoldott problémákra (obezitásban a zsírsejtképződés és termoreguláció zavara, a diabétesz és a metabolikus szindróma szöveti háttere, a szívélégtelenség) keresett molekuláris magyarázatokat és azok alapján új transzlációs diagnosztikus és kezelési célpontokat. A Debreceni Egyetem (DE), a Szegedi Tudományegyetem (SZTE) és a Szegedi Biológiai Kutatóközpont (SZBK) kiemelkedő kutatócsoportjainak részvételével kiválósági együttműködés jött létre, mely partnere hasonló külföldi műhelyeknek, biotechnológiai és gyógyszeripari cégeknek.

A projektben a három intézmény részéről összesen 132 fő vett részt szakmai megvalósítóként, közülük 48 kutatói és 26 fő technikai munkatárs alkalmazás volt. A résztvevő kutatócsoportok között 11 új kutatás program valósult meg. A pályázati forrás támogatásával 141 közlemény született, 24 fiatal kutató szerzett PhD fokozatot, 7 új egyetemi kurzus indult el, 10 vállalkozási/ipari együttműködés jött létre. A közlemények közül 104 tudományos cikk az adott szakterület legjobb 25%-ába tartozó folyóiratban jelent meg. Valamennyi kutatócsoport között az MTA/MTMT besorolása szerinti D1 (legmagasabb) minősítésű folyóiratban. A közlések óta eltelt rövid idő ellenére a megjelent cikkeket több mint 3500 alkalommal idézték.

A közlemények részletes listája elérhető az alábbi helyen:

<http://konferencia.unideb.hu/hu/szakmai-nyagok-az-uj-molekularis-mechanizmusok-diagnosztikus-es-terapias-celpontok-metabolikus-es-o>

Prof. Dr. Fésüs László
akadémikus
a projekt szakmai vezetője

Prof. Dr. Varró András
MTA doktora
szakmai koordinátor

Prof. Dr. Vigh László
akadémikus
szakmai koordinátor

A projekt tudományos háttere

A szénhidrát, zsír és aminosav anyagcserének a sejtek önemésztésével, autofágiájával is összekapcsolt fiziológiai és kóros folyamatai döntően határozzák meg a szervek működését. A zsírszövet állapota fontos szabályozó: mind a túlzott zsírraktározás (obezitás), mind az elégtelen mennyiségű zsírszövet kóros folyamatok része vagy eredménye. A nagy populációkat érintő obezitás súlyos következményekkel jár (diabétesz, kardiovaszkuláris, tüdő és rákos megbetegedések). Már gyermek és fiatal felnőttkorban növeli a kardiometabolikus rizikó faktorokat, idősebb korban pedig diasztolés és szisztolés funkciózavarokhoz, szívélégtelenséghez vezet.

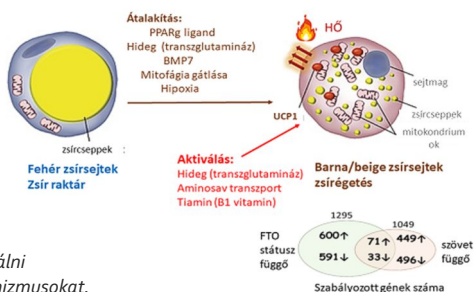
A folyamatban a szívizom ATP függő Ca^{2+} pumpának, és a $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ cseremechanizmusnak közvetlen szabályozó szerepe van. A szívizom metabolizmusának zavara kalcium túlterheléshez vezethet, ami tovább ronthatja a szívizomsejtek energetikai állapotát, sejthalál és/vagy aritmia következhet be. Az obezitás kialakulásában újabban felvetődött a felnőttekben is megtalált barna és beige (fehér zsírszövetben barna) zsírsejtek hőtermelő képességének csökkenése. A kövérséggel a legszorosabb asszociációt mutató FTO genetikai allél a fehér zsírsejtek arányát növeli a barna/beige rovására.

Molekuláris mechanizmusok feltárása az obezitás leküzdésében fontossá vált humán barna és beige zsírsejtek hőtermelésének szabályozásában

Sejtbiokémiai-Termogenezis kutatócsoport – Fésüs László, Kristóf Endre (DE)

Az utóbbi években egyértelművé vált, hogy az obezitás terápiás leküzdésében az étvágy szabályozás mellett kiemelt szereppel bír a humán szövetekben jelenlévő barna és beige zsírsejtek mennyiségének növelése és hőtermelésük fokozása. Ezek a sejtek évente sok kg zsír elégetésére képesek, ha megtaláljuk számuk fokozásának és a szervezet számára tolerálható módon történő aktiválásuk molekuláris mechanizmusát. Ehhez járulnak hozzá a projekt során feltárt új ismereteink. Eredményeink azt mutatják, hogy a fehérje módosító transzglutamináz 2 hiányos egerekben csökken a hidegtűrés, mert nem képesek beige (hőtermelő) adipocitákat indukálni minden szövetben (Mádi et al. 2017, BBA Mol Cell Biol Lip); ezen eredmények megerősítése izolált primer sejtekkel és egész testes metabolikus vizsgálatokkal megtörtént (Lénárt et al. 2020, Int J Mol Sci), továbbá kiderült, hogy a transzglutamináz hiányában jelentősen csökkennek a mitokondrium funkciók (Lénárt et al. 2021, bírálta alatt).

A humán szövetekben a barna/beige sejtek állandóan jelen vannak, de a fehér zsírsejtekből is átalakulhatnak, ami jelentős génkifejeződési változásokkal jár, beleértve a hőtermelést kivitelező szétkapcsoló fehérje (UCP1) indukcióját. A hőtermeléshez a barna/beige zsírsejteket aktiválni kell. Az ábra kiemeli a feltárt molekuláris mechanizmusokat.



A humán sebészeti biopsziás szöveti mintákból differenciálódó sejteken valamint humán SGBS sejteken (Klusóczki et al. 2019, Sci Rep) génmintázati, citokin felszabadulási, a mitokondriumokat érintő autofágiás, és hipoxiás méréseket végeztünk a barna és a beige sejtek hőtermelése molekuláris szabályozásának tisztázására. Megállapítottuk, hogy az IL-6 autokrin hatása elősegíti a beige differenciálódást (Kristóf et al. 2019, Exp Cell Res), a mitofágia csökkentése jelentősen hozzájárul a beige potenciál kialakításához (Szatmári-Tóth et al. 2020, Int J Mol Sci) és hogy a hipoxia növeli a beige potenciált (Tóth et al. 2021, BMC Genomics). A bőr alatti és mély nyaki zsírszövet mintákból származó preadipocitákat fehér és barna zsírsejteké differenciáltattuk és elvégeztük azok teljes mRNS-ének szekvenálását.

A génkifejeződési mintázatok alapján meghatároztuk hogy mely géncsoportok és azok milyen kölcsönhatásai játszanak meghatározó szerepet a hőtermelő képesség kialakításában és felismertük ebben a szöveti szabályozó környezeti tényezők, a kövérségre hajlamosító FTO allél és a PPARγ receptor aktiválás kiemelt jelentőségét (Tóth et al. 2020, Cells). Megállapítottuk az ASC-1 aminosav transzportert (Arianti et al. 2021, FEBS Letts) és a tiamin transzporter ThTr2 kiemelt fontosságát a termogenezisben, részleteiben vizsgáltuk a tiamin hatás molekuláris mechanizmusát feltárva a kapcsolódó génexpressziós és közvetlen enzim aktiválási szabályozást. Kiderült, hogy a nyaki eredetű adipocitákban a BMP7 indukál, az Irisin nem indukál termogenezis választ; az Irisin itt citokin indukcióval és gyulladás szabályozással vesz részt a szöveti környezet alakításában (Shaw et al. 2021, Front Cell Dev Biol; 2021, Pharmaceuticals).

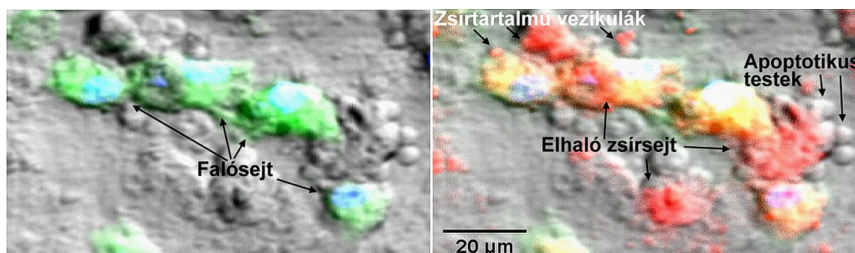
Az elhalt sejtek eltakarítása (efferocitózis) és a kövérség (obezitás)

Sejtbiokémiai-Apoptózis kutatócsoport – Szondy Zsuzsa (DE)

Szervezetünkben naponta milliárdnyi sejt hal el programozottan és takarítódik el profeszszionális falósejtek által. A folyamat a szöveti egyensúly fenntartásának fontos eszköze. Ha az elhalt sejtek nem takarítódnak el gyorsan, szétesnek és krónikus gyulladásos folyamatokat indítanak. Kísérleteinkben bemutattuk, hogy a zsírsejtek sajátos elhalási programba lépnek, melynek során először zsírtartalmuk kis vezikulákba pakolódik, melyeket a zsírszöveti falósejtek vesznek fel, majd nagy sejttestük a klasszikus apoptózis sejthalálprogrammal darabolódik szét, hogy a sokkal kisebb falósejtek fel tudják venni azokat. Kimutattuk, hogy a zsírvézikulák integrin receptor függően védődnek fel, és ha abból sok van (transzglutamináz 2 hiányos egér) akkor a gyors zsírfelvétel hamar zsírszöveti gyulladást és gyors 2-es típusú cukorbetegség kialakulást eredményez magas zsírdiétán tartott egerekben (Sághy et al. 2019, Cell Death Dis).

Az élő zsírsejtek is bocsájtanak ki zsírvézikulát. Ha ennek átvétele a falósejtek által lassabb, akkor ez normál diétán is elzsírosodáshoz vezet (retinol szaturáz hiányos egér) (Sarang et al. 2019, Biomolecules). Ismert, hogy obez egyénekben a falósejtek mindenütt rosszabban takarítanak el. Ennek oka lehet, hogy több magas energiatartalmú zsírsavat vesznek fel a keringésből, amely eredményeink szerint az energia érzékelő jelpályák aktiválásán keresztül blokkolja az efferocitózist. Izomsérülés kapcsán a regeneráció a sérült sejtek eltakarításával kezdődik. Ha az eltakarítás lassú pl. falósejt receptorok genetikai hiánya miatt (transzglutamináz 2, Mer tirozin kináz hiányos egér) az egész izomregeneráció lelassul és romlik (Al-Zaeed et al. 2021, Cell Death Dis; Budai et al. 2021, Cells). Obez egyének gyakrabban szenvednek társult krónikus gyulladásos betegségekben, izomregenerációjuk romlik.

Adataink arra utalnak, hogy ezen társbetegségek megjelenéséhez döntően hozzájárulhat az obez egyénekben kialakuló nem megfelelő elhalt sejt eltakarítás (Szondy et al. 2017, Front Immunol). Azonosítottunk két fehérjét, melyek hiánya megvédi a zsírdiétán tartott egereket az elhízástól. Az egyik egy sejtfelszíni receptor, melynek létezik antagonistája, tehát gyógyszercélpont lehet.



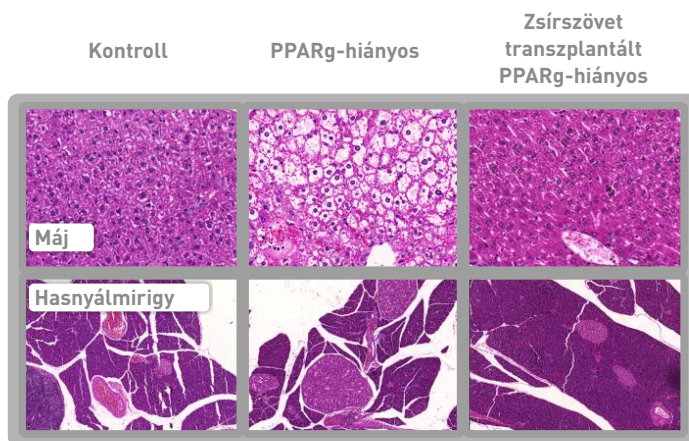
Szűrűmeheztetés hatására apoptózis programmal elhaló 3T3 zsírsejteket felvevő falósejtekről készült lézer pásztázó citometriás kép. A falósejteket fehérjefestékekkel zöldre, magjukat Hoechst DNS festékkel kékre festettük, míg a zsírsejtek lipid tartalma nilus vörös festés hatására piros. A bal oldali képen csak a zöld és kék, míg a jobb oldali képen mindhárom szín egyszerre látszódik. A piros színű zsírtartalmú vezikulákat felvevő zöld falósejtek a két szín összevetülése miatt sárgák lesznek, a még fel nem vett vezikulák pirosak. Figyeljük meg, hogy a zsírsejt többi része zsírmentes apoptotikus sejtmarabokat alakít ki (Sághy et al., 2019, Cell Death Dis).

A zsírtranszplantáció helyreállítja a legtöbb anyagcsere deficienciát a PPAR γ hiányos egerekben

Magreceptor kutatócsoport – Nagy László (DE)

A lipid ligand aktivált transzkripció faktor, PPAR γ elengedhetetlenül szükséges a zsírsejtek kialakításához. A projekt keretében létrehoztunk egy olyan mutáns egértörzset, amelynek összes szövetéből hiányzik ez a transzkripció faktor. Ezek az egerek jelentős anyagcsere inflexibilitással rendelkeznek, a diabétesz tüneteit mutatják magas az éhgyomri vércukor-szintjük, magas a vér triglicerid és koleszterin szintjük és nagyon jelentős a májban tárolt zsír mennyisége is.

Ezeket az állatokat jellemeztük anyagcsere fenotípus, máj és zsírszövet transzkriptomikai és lipidomikai analízissel, hogy megértsük a receptor hiányában kialakuló patofiziológiai állapot molekuláris hátterét. Terápiás megközelítésként egészséges állatok szubkután zsírszövetét transzplantáltuk ezekbe az állatokba, ami normalizálta a szénhidrát és lipid anyagcserét és megszüntette a zsírmájat is. A transzplantált állatok transzkriptomikai és lipidomikai elemzése is sok, de nem minden, esetben helyreállította a vad típusú egerekre jellemző mintázatokat.



A kép a PPAR γ -hiányos egerek súlyos tüneteit mutatja, a zsírmájat és a hasnyálmirigy inzulin termelő béta sejtjeinek hiperpláziáját. A bőrálatti zsírszövet transzplantációja ezeket a szövettani eltéréseket és az anyagcsere paraméterek legtöbbjét normalizálja.

PPAR γ KO egér primer embrionális fibroblasztokból sikerült indukált pluripotens stem sejt vonalakat létrehozni, továbbá ezekből új protokoll szerint adipocitákat differenciáltatni. Bizonyítottuk, hogy a PPAR γ az alternatív makrofág polarizáció késői szabályozója, valamint az Egr2 transzkripció faktor molekuláris összekötőként működik az IL4 indukált STAT6/PPAR γ jelátviteli útvonalon az alternatívan aktivált makrofágokban (Daniel et al. 2018, Immunity; 2020, Genes Dev).

A PARP enzimek metabolikus funkcióinak feltérképezése

Mitokondrium kutatócsoport – Bay Péter (DE)

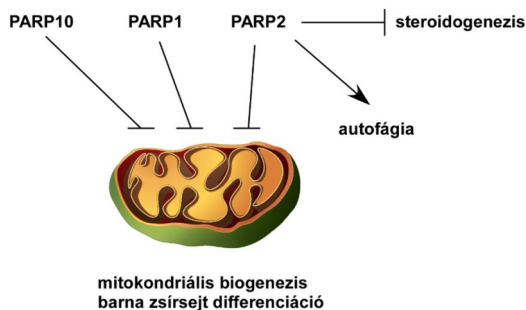
A PARP enzimeket eredetileg DNS hibajavításban írták le több, mint 50 évvel ezelőtt. Az első bizonyítékok arra vonatkozóan, hogy a PARP enzimek részt vesznek az anyagcsere szabályzásában közvetlenül az ezredforduló előtt születtek meg (Szántó és Bai, 2020, Genes Dev).

Csoportunk kulcsszerepet játszott azoknak a folyamatoknak a megismerésében, amelyeken keresztül a PARP enzimek aktivációja központi metabolikus útvonalak megszakításával a sejtek energetikai zavarát okozza és hozzájárul több metabolikus betegség kialakulásához, illetve ezek a folyamatok játszanak szerepet az iszkémia-reperfúziós károsodás kialakulásában (Szántó et al. 2021, Prog Lipid Res). A PARP1, a PARP2 és a PARP10 enzimek aktivációja általában diszruptív, károsítja a sejtek energiatermelő sejtorgáncskeit, a mitokondriumokat és a bennük zajló folyamatokat.

Kimutattuk több modellrendszerben, hogy a PARP2 enzim csendesítésekor, bár megnő a mitokondriális aktivitás, a mitokondriális rendszer szétesik, mitokondriális fisszió történik (Jankó et al. 2021, Cells). A jelenség oka a mitokondriális gyöktermelés megemelkedése, ami fontos triggere a PARP2 hiányában meginduló mitokondriális biogenezisnek. Ezzel párhuzamosan, a PARP2 hiányában, az autofágia elakadását tapasztaltuk. A major PARP enzimek farmakológiai gátlása humán zsírszövet eredetű őssejtekben a klasszikus barna zsírszövet differenciálódását indukálta és segítette a mitokondriális biogenezist (Nagy et al. 2019, Biochem Pharmacol). Hasonló elvek mentén a farmakológiai PARP gátlás elősegítette az UVB besugárzáson átesett bőr hámsejtek túlélését és energetikai alkalmazkodását.

Megleپő módon feltártunk egy eddig ismeretlen útvonalat, az UVB besugárzás hatására kialakuló ciklobután-pirimidin dimerekből a keratinociták túléléséhez szükséges szignálok indulnak ki (Hegedűs et al. 2021, Redox Biol). Szintén váratlan felfedezésünk, hogy a PARP2 hiányában a harántcsíkolt izmok belső anabolikus szteroid háztartása átalakul és befolyásolja az izomerőt (Márton et al. 2018, Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids). Egy minor PARP enzim, a PARP10, esetében kimutattuk, hogy gátlása mitokondriális biogenezist okoz (Márton et al. 2018, PLoS One).

A PARP enzimek működése olyan farmakológiai inhibitorokkal gátolható, amelyek elérhetők a klinikai gyakorlatban, így eredményeinknek akár direkt transzlációs alkalmazása is lehetséges. Fontos az az eredményünk, hogy a farmakológiai PARP gátlás jótékony hatású az alkoholos és nem alkoholos májgyulladás állatmodelljeiben. A PARP1 genetikai gátlása a mikrobiom diverzitását növeli és ezen keresztül pleiotrop hatásokat közvetíthet (Vida et al. 2018, Mol Med Rep).



A PARP1, PARP2 és a PARP10 enzimek aktivációja gátolja a mitokondriális energiatermelést, befolyásolja az autofágiát és a steroidogenezist.

Biológiai membránok és lipidek szerepe betegségekben és a celluláris védelmi válaszbán

Stressz és lipid kutatócsoport – Vigh László (SZBK)

Multidiszciplináris megközelítéssel, biofizikai ultraszenzitív mikroszkópai módszerek és nagy térfelbontású lipidomika alkalmazásával sejt- és állatmodelleken, humán mintákon vizsgáltuk a kórfolyamatok membrán-lipid összefüggéseit, valamint új membrán-lipid terápiás lehetőségeket tártunk fel.

A PARP2-csendesített, ill. kontroll mioblaszt sejtek membrándinamikáját hasonlítottunk össze kép alapú fluoreszcencia korrelációs spektroszkópia módszerrel (együtműködés Mitokondrium csoporttal). Megállapítottuk, hogy a PARP2 csendesítésnek nincs szignifikáns hatása a lipidpróbák sejtfelszíni diffúziójára, azonban a mioblaszt sejtek, ill. PARP2 KO és kontroll egerek izommintáinak komprehenzív lipidomikai elemzése megmutatta, hogy a PARP2 csendesítés a lipidom globális átrendeződését indukálta [Jankó et al. 2021, Cells].

Vizsgáltuk a perfundált kontroll, ill. iszkémiának kitett szívek lipidomjának változásait. (Együtműködés a kardiobiokémiai kutatócsoporttal). Megállapítottuk, hogy mind a kezelése, mind maga a perfúzió jelentős metabolit változásokat indukált, valószínűleg foszfolipáz aktivációk keresztül. A fruktóz etetéssel létrehozott prediabetészes állapot tanulmányozása során rámutattunk, hogy már a kezdeti prediabetés is veszélyezteti a szívizom mitokondriális funkciójának épségét. A miokardium jelentősen megváltozott lipidomja - ezen belül a kardiolipin molekulaszpecifikus átrendeződés - a mitokondriális funkció károsodásához vezethet [Szűcs et al. 2019, Oxid Med Cell Longev].



Bebizonyítottuk, hogy a humán liquor tömegspektrometriás lipidomikai analízise kiválóan riportálja az aggyal kapcsolatos patológiás folyamatok lipid metabolikus vonatkozásait.

Vizsgálataink során kimutattuk, hogy a Guillain-Barré szindrómás (GBS) betegek liquor-jában a fehérjeszint növekedésével párhuzamosan jelentős lipidemelkedés detektálható. A kontroll és GBS betegek mellett a sclerosis multiplex (SM) betegek lipidomja is egyedi, az előbbi két csoporttól jól elkülönülő mintázatot mutat. A neuronhálózaton alapuló mester-séges intelligencia modell teljes mértékben képes volt megtanulni a betegségek lipidmintázatát – felismerni a betegséget [Péter et al. 2020, Sci Rep].

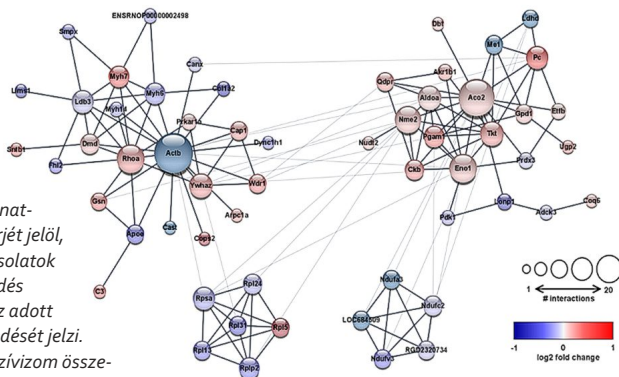
A hiperkoleszterinémia befolyásolja a szívizom kontraktilitást és a mikroRNS szabályozást

Kardiobiokémiai kutatócsoport – Csont Tamás (SZTE)

A projekt során metabolikus kórállapotok kísérletes modelljeit hoztuk létre és vizsgáltuk az egyes kórállapotok hatását a szívre. Magas koleszterintartalmú diétával kiváltott hiperkoleszterinémiában szívfunkciós zavar alakul ki, s proteomikai méréseink hálózat analízise során kimutattuk, hogy a hiperkoleszterinémia a kontraktilis apparátus egyes fehérjeinek, illetve energiatermelésben szerepet játszó fehérjéknek a mennyiségét befolyásolja. Míg normál körülmények között az iszkémiás prekondicionálás alkalmazása csökkenti az iszkémia/reperfúziót követő szívizom elhalás mértékét, hiperkoleszterinémiában a prekondicionálás védő hatása gyengül.

Azt tapasztaltuk, hogy iszkémiás prekondicionálás hatására jelentősen megváltozik a génkifejeződés finomhangolásában szerepet játszó mikroRNS-ek kifejeződése a szívben, s ez a mikroRNS kifejeződési mintázat hiperkoleszterinémiában eltérő képet mutat. Így például a prekondicionálás hatására a miR-125b* mikroRNS kifejeződése kontrollokban emelkedik, azonban ez hiperkoleszterinémiában elmarad (Szabó et al. 2020, Int J Mol Sci).

Funkcionális fehérje-fehérje kapcsolati hálózatok a szívben hiperkoleszterinémia hatására változást mutató fehérjékre vonatkoztatva. Minden kör egy fehérjét jelöl, a körök mérete arányos a kapcsolatok számával, a kék szín a kifejeződés csökkenését, míg a piros szín az adott fehérje kifejeződésének emelkedését jelzi. A bal felső csoportosulásba a szívizom összehúzódásokhoz köthető fehérjék, míg a jobb felső csoportosulásba anyagcsere folyamatokhoz köthető fehérjék tartoznak.



Magas fruktóz tartalmú diétával kísérletes prediabetest hoztunk létre, ami jelentős változásokat idézett elő a szív lipidomjában, különösen a kardiolipin metabolizmusban, ami mitokondriális diszfunkcióhoz és károsodott szív működéshez vezetett. Ugyanakkor számos adaptív mechanizmus indukálódott a proteom szintjén a homeosztatikus egyensúly fenntartása érdekében. Mindezek alapján a prediabetes nagyon korai stádiumban is károsíthatja a szív működést, és jelentős változásokat eredményezhet a szív lipidomjában és proteomjában, mielőtt a túlzott oxidatív stressz és sejtkárosodás kialakulna (Szűcs et al. 2019, Oxid Med Cell Longev).

Diabetesz modellezésére db/db egereket használtunk, melyekben fokozott étvágy következtében elhízás, majd 2-es típusú diabetes alakul ki. Az elhízott diabeteszes egerekben szívfunkciós zavart mutattunk ki, ami együtt járt számos fehérje mennyiségének változásával. Ezek közül sok szerepet játszik a szív kontraktilis funkciójában, vagy annak szabályozásában.

A nátrium-kalcium cseremechanizmus (NCX) gyógyszeres befolyásolása a szívizomban

Kardiofarmakológiai kutatócsoport – Varró András (SZTE)

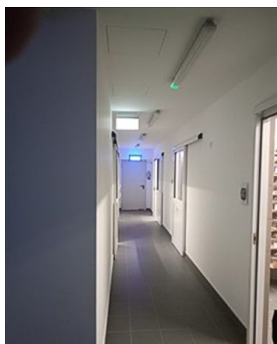
Vizsgálataink célja a szívizom jelátviteli folyamataiban és a szív pumpa funkcióját biztosító kontrakcióban központi szerepet játszó Ca^{2+} homeosztázist meghatározó nátrium-kalcium cseremechanizmusnak (NCX) szerepének a normál és patofiziológiás állapotokban. Korábbi vizsgálatainkban már kimutattuk, hogy az NCX gátlása potenciálisan kivédheti a triggerelt (korai és késői utódepolarizáció, EAD és DAD) aritmiákat. A jelen projekt kapcsán nemzetközi ko-operáció (Orion Gyógyszergyár, Finnország) segítségével kiszélesítettük ezeket a vizsgálatokat, és ezúttal megvizsgáltunk néhány új hipotézist, nevezetesen, hogy az NCX részt vehet-e a szívizomzat (nevezetesen a szinusz csomó) ritmuskeltésében.

Az ORM-10962 szelektív NCX gátlószer segítségével farmakológiailag is igazoltuk, hogy az NCX és a pacemaker áram kapcsoltan, szinergisztikusan működik a szinusz csomóban. Kimutattuk, hogy a szelektív NCX gátlás kismértékben csökkenti a szinusz-frekvenciát és hogy a NCX fontos szerepet játszik az aritmogén Ca-vezérelt alternánsok kialakulása során. Eredményeik szerint az APD oszcillálása kisebb jelentőséggel bír a Ca-tranziens alternánsok kialakulásában, mint a diasztolés intervallum oszcillációja, amely az NCX befolyásolása révén jelentősen fokozhatja, elsősorban a diasztolés Ca oszcillációja révén, a Ca homeosztázis instabilitását (Kohajda et al. 2020, Front Pharmacol).

Kimutattuk, hogy a szelektív NCX gátlás kis mértékű bradycardiát hoz létre. Megállapítottuk, hogy a szelektív $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ kicserélő gátlás mérsékeli az akciós potenciál és a Ca^{2+} -tranziens alternánsok amplitúdóját. Szívelégtelenség számítógépes modelljében a szelektív NCX gátlás szintén hatásosnak bizonyult az alternánsok kivédésében. Eredményeink arra engednek következtetni, a restitúció meredeksége nem játszik szerepet az alternánsokban, amelynek fő oka, hogy a Ca^{2+} -áram (I_{CaL}) nem vesz részt a restitúció meredekségének meghatározásában, ugyanakkor jelentős szerepet játszik az alternánsok kialakulásában (Szlovák et al. 2020, J Mol Cell Cardiol).

Megvizsgáltuk egy újonnan szintetizált NCX gátló vegyület, az ORM-11372 hatását is a Ca^{2+} - homeosztázisra. Az pozitív inotróp hatásának bizonyult patkány és nyúl modellben (Otsomaa et al. 2020, Br J Pharmacol).

SZTE ÁOK Farmakológiai és
Farmakoterápiai Intézet
Állatházának új szárnya



Az autofágia kóroki jelentősége

Autofágia kutatócsoport – Juhász Gábor (SZBK)

Autofágia során a sejtek saját alkotóelemeiket bontják le és hasznosítják újra. Az evolúciósan konzervált autofágiához szükséges gének egysejtű élesztőben történt felfedezése teremtette meg a folyamat vizsgálatának lehetőségét állati és emberi sejtekben (Yoshinori Ohsumi, Nobel Díj 2016). Így derült fény arra, hogy az autofágia zavara az emberi betegségek széles körében játszhat fontos szerepet (Bhattacharjee et al. 2019, J Genet Genomics).

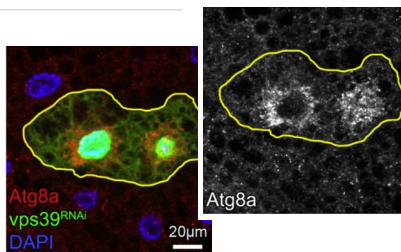
Projektünk fő célkitűzése új autofág szabályozó faktorok és útvonalak jellemzése volt egy népszerű gerinctelen modellállat (*Drosophila melanogaster*, gyümölcslégy) zsírszövetében. Egy genetikai szűrővizsgálat-sorozatban azonosítottunk számos lehetséges új autofágiát szabályozó faktort, és a projekt során jellemeztük a pontos szerepüket. Több új szabályozó faktorról bizonyítottuk, hogy szükségesek az autofágia fő útvonala során képződő szállító vezikulák (autofagoszómák) egyesüléséhez a lebontást és reciklizációt végző lizoszómákkal (Lőrincz és Juhász, 2020, J Mol Biol).

Ezen faktorok közös jellemzője, hogy ha genetikai manipuláció révén gátoljuk a génről normálisan képződő fehérje termelődését, akkor az ilyen sejtekben felhalmozódnak az autofagoszómák. Konkrétabban: leírtuk például az autofagoszómák és lizoszómák mozgását és fúziós képességét meghatározó Rab2 és Arl8 kis GTPázok, a vezikulákat egymáshoz kapcsoló HOPS pályvázó komplex és az ykt6 vezikulafúziós faktor szerepét és pontos működési módjukat a vezikulafúzió során (Lakatos et al. 2021, Int J Mol Sci; Lőrincz et al. 2019, Elife).

8. ábra

Éheztetett *Drosophila* lárva zsírszöve. A zöld fluoreszcens fehérjét (GFP, green fluorescent protein) kifejező sejtekben genetikai manipuláció (RNS interferencia, RNAi) révén gátoltuk a Vps39 fehérje termelődését, ami a HOPS vezikulapályvázó komplex egyik alegysége.

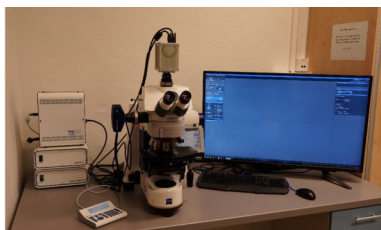
Jól látszik, hogy ezekben a (sárga vonallal körberajzolt) zöld sejtekben sokkal több Atg8a-val jelölt autofagoszóma (piros pöttyök a bal oldali képen, ugyanez fekete-fehérben a jobb oldali képen) található, mint a környező (GFP-t nem kifejező) kontroll sejtekben. A kék színű DAPI festékkel a sejt-magokat jelöltük. A kép publikálásra került: 2020, J Mol Biol.



Ezen felül elsőként azonosítottunk olyan faktorokat, amelyek egy másik, régóta ismert autofág lebontó útvonalhoz: a krinofágiához szükségesek. Krinofágia során a sejtek által előállított, külvilágba szánt anyagokat hordozó ún. szekréciós vezikulák egyesülnek lizoszómákkal, ahol ezek az anyagok szekréció helyett lebontásra kerülhetnek. Eredményeink alapján a vezikulafúziós apparátus összetétele hasonló az autofágia fő útvonalához: ugyanazok a kis GTPázok és pályvázó faktorok szerepelnek krinofágia során is, ám a fő vezikulafúziós faktor eltér.

Krinofágia során ugyanis a Syntaxin 13, míg autofagoszóma-lizoszóma fúzió során a Syntaxin 17 játszik főszerepet a fúzió létrejöttében. Mivel feltételezések szerint a krinofágia hibái is

okozhatnak emberi betegségeket (mint például hasnyálmirigy-gyulladás és cukorbetegség), így ennek a folyamatnak a további kutatása is fontosnak látszik (Csizmadia és Juhász, 2020, Prog Mol Biol Transl Sci).



AGINOP METAKARD projekt támogatásával beszerzett Zeiss Axioimager M2 kutatómikroszkóp Apotomez strukturált fluoreszcens megvilágítású optikai szetelő modullal.

Neoprotektív hatóanyagok célzott bejuttatása iskémiás stroke-ban

Iszkémiás kutatócsoport – Farkas Eszter (SZTE)

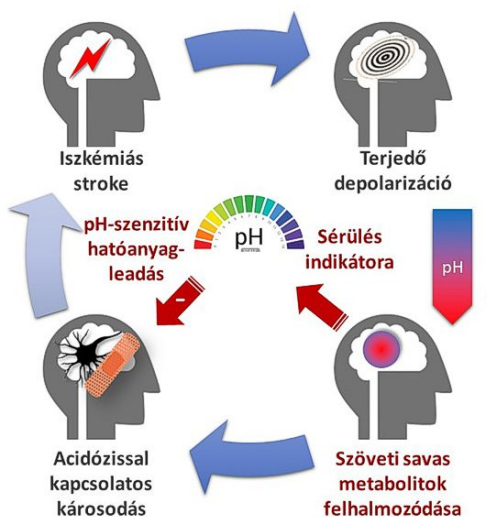
Az iszkémiás stroke világszerte vezető halálok és rokkantsági tényező, a fokális agyi iszkémia kezelése azonban továbbra is sok szempontból megoldatlan probléma. Az iszkémiás stroke ellátásában lényeges lenne olyan gyógyszeres terápia bevezetése, amely szelektíven a sérülésnek kitett agyterületre koncentrálna. Kíváncsú lenne célzott hatóanyagbejuttatással a hatóanyag feldúsulását a sérülésnek kitett agyi területre fókuszálni, így a kedvezőtlen mellékhatásokat elkerülni.

Az iszkémiás stroke kialakulása egy agyi ér elzáródására vezethető vissza. Az érelzáródás következtében az érintett agyterületen szöveti savas metabolitok halmozódnak fel, ami szövetkárosító acidózist okoz. Kutatómunkánk során olyan kórélettani, ideglettani folyamatot azonosítottunk, mely felelős a stroke következményeként fellépő szöveti acidózis súlyosbodásáért. A terjedő depolarizációként ismert kóros ideglettani jelenség ismétlődő mintázata elmélyíti a szöveti acidózist és rontja a felépülés esélyét (Menyhárt et al. 2017, Am J Physiol Heart Circ Physiol).

A savas metabolitok felhalmozódása a sérülésnek kitett agyszövet helyét és kiterjedését is kijelöli. A jelenséget kihasználva kísérleti modellünkben olyan gyógyszerhatóanyagot szállító nanorészecskéket alkalmaztunk, amelyek az acidózisra válaszul a kialakuló sérülés helyén szabadítják fel a szállított hatóanyagot. Kísérletes modellünkben bizonyítottuk a szöveti pH csökkenésére válaszul bekövetkező hatóanyagleadást, és annak védő hatását (Tóth et al. 2020, Biology).

Kísérletes munkánk új klinikai gyógyszeres terápiák kidolgozásának szolgáltathat alapot az iszkémiás stroke ellátásában.

Az agyi iszkémiás stroke következtében ismétlődő mintázatban jelentkezik a terjedő depolarizációként ismert kóros ideglettani jelenség. A terjedő depolarizáció savas metabolitok felhalmozódását okozza. A szöveti acidózis sejtkárosodáshoz vezet, ugyanakkor a zajló szöveti sérülés megbízható indikátora. Az érintett agyterületre célzottan, pH-szenzitív nanorészecskék alkalmazásával vihető be neuroprotektív hatóanyag.



Komplex metabolikus zavarok légzőrendszeri hatásai

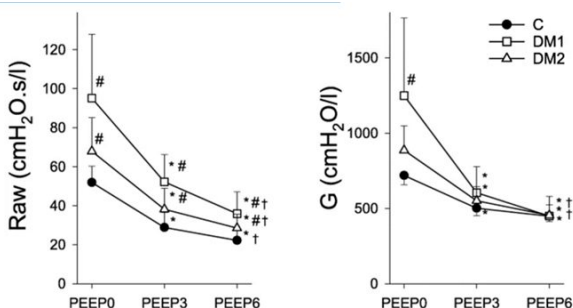
Tüdő metabolizmus kutatócsoport – Peták Ferenc (SZTE)

Egy olyan új állatkísérletes modellt dolgozunk ki, mely alkalmas komplex metabolikus zavarok légzőrendszeri hatásainak reprodukálható vizsgálatára. Igazoltuk, hogy a diabétesz súlyos elváltozásokat okoz a légzőrendszerben, mely a transzlációs modellben mind a légutakat mind a tüdőszöveteket érintő kóros elváltozásokban nyilvánul meg. A cukorbetegség növelte a légúti ellenállást és károsan befolyásolta a tüdőszövet viskoelasztikus tulajdonságait, és csökkentette az exogén kolinerg konstriktor ingerekre adott légúti simaizomtónus választ. A diabétesz következtében kialakult kóros pulmonális elváltozások elsősorban alacsony tüdőterefogaton jelentkeztek; a pozitív végkilégzési nyomás (PEEP) emelésével ellensúlyozhatóak voltak. Eredményeink szerint a cukorbetegség tehát növeli az alveoláris kollapszushajlamot, tartósan fennálló alveolokapilláris diszfunkciót okoz, és a légutak külső ingerekre adott adaptációs válaszképességét is károsítja (Südy et al. 2020, Respir Res).

Klinikai vizsgálat keretében kimutattuk továbbá a regionális agyi és a szisztémás oxigén szaturáció kiszélesedését cukorbetegben, mely együtt járt ezen globális és regionális jellemzők kapcsolatának függetlenedésével is. Eredményeink szerint az agykérgi oxigén szaturáció zavarai nem jelezhetők előre globális klinikai paraméterek monitorozásával cukorbetegben. Tanulmányunk tehát a közeli infravörös spektroszkópia (NIRS) fokozott monitorozási értékére mutat rá anyagcsere betegségeken (Südy et al. 2019, Sci Rep).

További klinikai vizsgálatunkban a cukorbetegség és az anyagcserebetegségtől független kóros elhízás következtében kialakult légzőrendszeri elváltozásokat vetettük össze. Eredményeink rámutattak a diabétesz és az ettől független elhízás hasonló légzésmechanikai következményeire, melyek ugyanakkor alapvetően eltérő gázcseres funkció változással jártak együtt. Kimutattuk, hogy a cukorbetegség által kiváltott légzőrendszeri mechanika romlást a fokozott hipoxiás pulmonális vazokonstrikció ellensúlyozni képest, és ezáltal fenntartott maradhat a fiziológiához közeli intrapulmonális sönt frakció és tüdő-oxigenizáló képesség (Südy et al. 2020, Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol).

Eredményeink összességében az anyagcsere betegségben szenvedő betegek légzőrendszeri elváltozásainak számos új vonatkozását tárták fel. Transzlációs és klinikai vizsgálataink növelhetik a betegmonitorizálás biztonságát, és ezzel a perioperatív szövődmények csökkentéséhez járulhatnak hozzá.



A légúti ellenállás (Raw) és a tüdőszöveti csillapítás tényezője (G) alacsony (PEEP₀), közepes (PEEP₃) és emelt tüdőterefogaton (PEEP₆). Tele körök: kontroll, kezeltetlen állatok (C, n=14). Üres négyzetek: 1-es típusú cukorbetegség (DM₁, n=13). Üres háromszögek: 1-es típusú cukorbetegség (DM₂, n=14).

Képelemző és képanalitikai módszerek fejlesztése

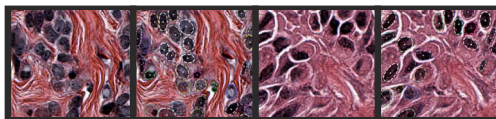
Komputerizált képkalkotás kutatócsoport – Horváth Péter (SZBK)

A Szegedi Biológiai Kutatóközpont BIOMAG csoportja egysejt analitikai módszerek fejlesztését végezte. Ezen módszerek egy része in silico, mesterséges intelligencián alapul és nagyon pontos analízist tesz lehetővé 2 és 3 dimenziós mikroszkópos képeken. Emellett fejlesztettünk és publikáltunk számítógéppel előállított eredményekre épülő egysejt izolációs módszereket, melyek az azonosított sejteket képesek fizikailag elkülöníteni a mikrokörnyezetükből különféle lézer alapú vágási és mikrómanipulációs robotikai megoldások segítségével. A projekt első szakaszában közzétűk a CAMI (Computer Aided Microscopy Isolation) technológiát (Brasko et al. 2018, Nat Comm), mely gépi tanulást és lézermikrodisszekciót ötvözve intelligensen képes egysejtek molekuláris és morfológiai vizsgálatát elvégezni. Ezt követően áttekintettük a téma szakirodalmát és publikáltuk a jelenleg egysejt fenotipizálásra használt gépi tanulási módszereket (Smith et al. 2018, Cell Systems) és számos olyan új mélytanuláson alapuló algoritmust közöltünk melyek új szintre emelték az egysejt alapú képfeldolgozást (Suleymanova et al. 2018, Sci Rep; Hollandi et al. 2020, Cell Systems) és fenotipizálást (Szkalisity et al. 2021, Nat Comm).

NucleAIzer nevű módszerünk, egy nagy világverseny legmagasabb pontszámát megszerezve, jelenleg is a legpontosabb egysejt szegmentáló módszer (Hollandi et al. 2020, Cell Systems). A módszert beintegráltuk különböző platformokba, mint pl. a CellProfiler, BIAS, NAPARI. Kifejlesztettünk egy sejt kultúrák manipulációjára szolgáló robotrendszert, a SpheroidPickert, mely mélytanuló módszerekkel azonosítja azon kultúrákat, amik megfelelőek gyógyszer szűrésre, majd ezeket transzferálja (Grexa et al. 2021, Sci Rep).

A projekt második részében bemutattuk a Deep Visual Proteomics módszertant, mely a már fentebb bemutatott in silico módszerek és ultraszenzitív tömegspektrometria házításával képes egyes sejtek fehérje profilozására. A munkát nyilvánossá tettük a biorXiv-on (Mund et al. 2021) és jelenleg elbírálás alatt van.

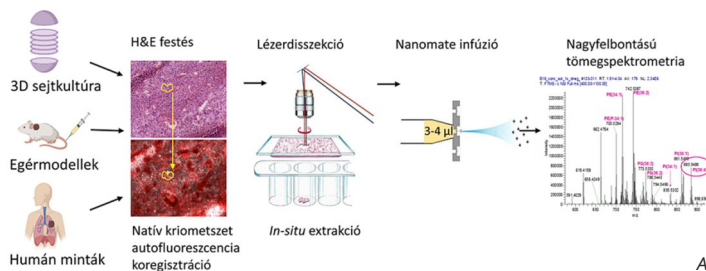
Egysejtek azonosítása humán szövetben egy általunk fejlesztett mesterséges intelligencián és Fourier-leírón alapuló módszer segítségével. (Hirling et al. bírálat alatt)



Kifejesztésre került egy nagy érzékenységű (10-100 sejt) és nagy áteresztőképességű lézerdisszekcióval kapcsolt egysejt lipidomikai platform (együttműködés a Stressz és lipid kutatócsoporttal). A mikrolipidomikai munkafolyamat kvantitatív adatokat szolgáltat nagy lefedettséggel és jó térbeli felbontással. Új mintaelőkészítési eljárásaink mindössze néhány sejt tömegspektrometriai (lipidomikai/proteomikai), valamint transzkriptomikai, azaz teljes multiomikai jellemzésére adnak lehetőséget.

Lézerdisszekcióval kapcsolt egysejt mikrolipidomikai platform

- + nagy lefedettség a lipidosztályok és specieszek szintjén
- + jó térfelbontás
- + kvantitatív



A kifejlesztett platform



CLARBIS Kft.

Fotó: Bódi Sándor

Kreatív: Betűvető Bt.

A decorative graphic in the bottom right corner of the page, featuring a complex network of white and light blue lines forming various hexagonal and polygonal shapes, resembling a molecular or chemical structure. The graphic is set against a dark blue background with a subtle gradient and a faint, glowing blue light effect in the center of the lower right quadrant.