

Bay Péter

### **A sokoldalú mitokondrium**

Az MTA Lendület programjának keretében 2014 júliusában alakult meg a DE-MTA Sejtmetabolizmus kutatócsoport. Írásomban a kutatócsoport múltjáról és terveiről számolok be.

#### *A munkacsoport bemutatása*

A Sejtmetabolizmus kutatócsoporthoz öt PhD fokozattal rendelkező kutató tartozik. A kutatócsoport vezetője, Dr. Bay Péter, tagja négy posztdoktor: Dr. Abdul-Rahman Omar, Dr. Mikó Edit, Dr. Szántó Magdolna (Bolyai ösztöndíjas, jelenleg GYED-en) és Dr. Vida András. Aktívan részt veszünk a PhD képzésben, jelenleg négy nappali (Fodor Tamás, Kovács Tünde, Márton Judit és Nagy Lilla) és egy egyéni felkészülésű PhD hallgató (Dr. Dér Ádám sugárterapeuta szakorvos), illetve tizenegy TDK hallgató végzi laboratóriumunkban kutatómunkáját. A laboratórium munkájának összehangolásában Finta László asszisztens segít. Hazai és nemzetközi kapcsolataink szerteágazóak. A munkacsoport több OTKA, TéT, Mecenatura és egyetemi kutatási pályázatot, illetve külföldi pályázatot és ösztöndíjat (Soleil, SNSF) nyert el. Résztvevői voltunk TAMOP, Mecenatura és OTKA pályázatoknak. 2014. július óta laboratóriumunk résztvevője az MTA Lendület kiválósági pályázatának. A kutatócsoporthoz tartozó laboratóriumok és irodák az élettudományi épület első emeletén találhatóak.

*A mitokondriumok élettani szerepe*

A mitokondriumok a sejteken belül elhelyezkedő sejtszervecskék. A mitokondriumokat általában a lebontó anyagcsere egyik fontos helyszínének tekintjük, legjobban ismert feladatuk, hogy oxigén felhasználásával „elégessék” a tápanyagokat és energiát állítsanak elő; a sejtekben az így felszabaduló energia adenzin-trifoszfát (ATP) formájában raktározódik. A mitokondrium lebontó működése a nyugvó sejtekre jellemző. A mitokondrium képes anabolikus folyamatokban is részt venni osztódó sejtekben (ez utóbbit Warburg-metabolizmusnak nevezzük). A mitokondrium és a mitokondriális funkció(k), sőt tulajdonképpen az egész metabolizmus pontosan szabályozott, gyorsan és hatékonyan válaszol a környezet kihívásaira.

A mitokondriumok aktivitása alapvetően meghatározza a szervezet energia-egyensúlyát. A harántcsíkolt izmok és kisebb mértékben más, a mitokondriális oxidáció szempontjából fontos szervek mitokondriális aktivitása nagyon fontos tényező a leadási oldalon a biokémiai folyamatok által felszabadított hőenergia és a mozgás hőenergiája mellett. Ezek a folyamatok biztosítják a táplálékfelvétel (ami energia bevitelnek is tekinthető) ellensúlyát. Nagyon fontos tény, hogy metabolikus betegségekben (pl. II. típusú diabétesz vagy a metabolikus szindróma) vagy az öregedés során a mitokondriális funkció zavara lép fel és ennek a folyamatnak központi szerepe lehet a metabolikus zavarok kialakulásában. Ezt a felismerést a saját hasznunkra is fordíthatjuk, amennyiben metabolikus betegségek vagy az öregedés során fellépő metabolikus rendellenességeket mitokondriális induktorokkal próbáljuk kezelni.

Saját szempontunkból fontos szót ejteni a mitokondrium jellegzetes szerepéről tumorsejtekben. A tumorsejteket a kontrollálatlan és gyors osztódás jellemzi, amit a sejtek metabolizmusának radikális átalakulása is segít. Otto Warburg, Nobel-díjas német tudós a két háború közötti boldog békeévekben tette azt a máig ható felismerést, hogy a tumorsejtekben – eltérően a nyugalmi állapotban lévő, nem osztódó sejtektől – a fő energiatermelő folyamat a glikolízis, amely nem igényel oxigént a működéséhez, míg az oxigénigényes mitokondriális funkció a normálnál alacsonyabb mértékben működik. Oxigénhiányos környezetben a legtöbb sejt ilyen módon alakítja át metabolizmusát, azonban a tumorsejtek ebben az állapotban maradnak oxigén jelenlétében is, amikor normális sejtekben beindul a mitokondriális oxidáció. Összefoglalóan ezeket a jellegzetes metabolikus változásokat a felfedezőről Warburg-hatásnak nevezzük, amelyek a sejtmembrán szintéziséhez és a DNS megkettőződéséhez szükségesek. A Warburg-hatás tehát elősegíti a sejteket a gyors osztódásban. Természetesen nem csak a mitokondriumot, hanem sok más metabolikus útvonalat is módosít a

Warburg-metabolizmusra történő áttérés. Sokáig az oxigénhiányos környezethez történő alkalmazkodás következményének tartották a metabolizmus Warburg-típusú átrendeződését, azonban mára nyilvánvalóvá vált, hogy a Warburg-metabolizmus a gyors osztódáshoz való alkalmazkodás, ugyanis a mitokondriumokban – eddig megismert szerepükkel ellentétben – felépítő folyamatok indulnak be, s ezek olyan metabolikus köztitermékeket állítanak elő, amelyek a DNS megkettőződéséhez és a sejtmembrán elemeinek a szintéziséhez szükségesek.

*Saját hozzájárulásunk a mitokondrium és metabolikus kutatásokhoz*

Mitokondriumokkal és metabolizmussal kapcsolatos kutatásaim kezdete 2004-re datálódik, amikor elkezdtem posztdoktori képzésemet a Strasbourg-i Egyetemen Dr. Josiane Ménissier-de Murcia és Dr. Johan Auwerx mellett. Kutatásaink során a poli(ADP-ribóz) polimeráz (PARP)-1 és -2 enzimek metabolikus funkcióit kezdtük el vizsgálni. Ezen PARP enzimek elsősorban a stressz válasz fehérjéiként ismertek, elsősorban a DNS szál(ak) töréseire vagy más szerkezeti eltéréseire reagálnak aktivációval. Az aktív enzimek egy, a sejtek lebontó anyagcseréjében központi szerepet játszó anyagot, a  $NAD^+$ -ot bontják nikotinsavamidra és ADP-ribózra (ADPR), és az ADPR egységekből hosszú poli(ADP-ribóz) (PAR) polimereket építenek fel különböző célfehérjékre. A módosított célfehérjék biológiai tulajdonságai módosulnak, így PARilációval szabályozható ezen fehérjék biológiai funkciója és ennek révén befolyásolhatók a DNS hibajavítás, gyulladássos folyamatok, a metabolizmus, a génexpresszió és más biológiai folyamatok.

Kimutattuk, hogy a PARP-1 enzim, amelynek erős katalitikus hatása van, képes limitálni a rendelkezésre álló  $NAD^+$ -ot más,  $NAD^+$ -ot használó enzimeket. Ezért a PARP-1 gátlása genetikai vagy farmakológiai módszerekkel megnöveli a  $NAD^+$  mennyiségét. A  $NAD^+$  mennyiség növekedése más  $NAD^+$ -függő enzimek aktivitását is befolyásolja, ilyen például a SIRT1 enzim. A SIRT1 enzimátikus működése során különböző fehérjékről képes acetyl csoportokat eltávolítani és ezen keresztül módosítani ezen fehérjék aktivitását. A SIRT1 működése során  $NAD^+$ -ot bont a PARP enzimekhez hasonlóan, azonban az ADPR egységekhez hozzákapcsolja a lehasított acetyl-csoportokat O'-acetyl-ADP-ribóz molekulákat hozva létre. A SIRT1 célfehérjéi közé tartoznak olyan transzkripciós faktorok (pl. PGC-1 $\alpha$ , FOXO1, FOXO3, p53), amelyekről az acetyl csoport eltávolítása az aktivációjukat vonja maga után. Ezen transzkripciós faktorok aktivációja olyan gének átírásához vezet, amelyek a mitokondriális funkció javulásához vezetnek. A PARP-1 genetikai vagy farmakológiai gátlása a  $NAD^+$  szintek emelésén keresztül a SIRT1 aktivitás emelkedéséhez és ezen keresztül a mitokondriális akti-

vitás és az energia leadás emelkedéséhez vezet. A két legfontosabb szerv a folyamatban a harántcsíkolt izom és a barna zsírszövet. A PARP-2 eltávolítása nem a NAD<sup>+</sup> szint megváltoztatásán, hanem a SIRT1 expresszió megemelésén keresztül fejti ki a hatását a harántcsíkolt izmokban és a májban. Ki kell, emeljük, hogy a PARP-1, illetve a PARP-2 enzim és a mitokondriális regulációt végző rendszer között a kapcsolat sokkal bonyolultabb és úgy tűnik, léteznek sirtuin független, azonban egyelőre fel nem derített útvonalak.

A megemelkedő mitokondriális aktivitás javítja az inzulin szenzitivitást mind a PARP-1, mind a PARP-2 eltávolítása esetében. Érdekes módon, magas zsírtartalmú diétán tartva az állatokat, a PARP-1 gátlása javítja, azonban a PARP-2 eltávolítása rontja a glükóz szenzitivitást. A romló glükóz szenzitivitás hátterében az inzulin termelő béta sejteket tartalmazó Langerhans-szigetek hiperplasztikus válaszána elmaradása áll. A béta sejtek az emelkedő glükóz szinthez és az ezzel együtt járó inzulin igényhez osztódással, a sejtszám megemelésével is hozzájárulhatnak, azonban ez a PARP-2 deléciója esetében zavart szenved, úgy tűnik, a pdx-1 transzkripciós faktor alulműködése miatt. Ugyan nem tekinthető klasszikusan metabolikus fenotípusnak, a PARP-2 hiányában beinduló mitokondriális biogenezis képes részleges védelmet nyújtani különböző okokból bekövetkező mitokondriális károsodással szemben.

A PARP enzimek, úgy tűnik, szoros kapcsolatban állnak a lipid metabolizmussal is, azonban ez irányú ismereteink egyelőre nem tekinthetők széleskörűnek. Érdekes megfigyelésünk volt, hogy a PARP-2 enzim szerepet játszik a máj koleszterin homeosztázisának szabályzásában. A PARP-2 hiányában a máj koleszterin tartalma megnő, bár érdekes módon a koleszterin nem jelenik meg a keringésben, viszont – egyelőre ismeretlen okból – a szérum HDL szintje csökken, ami atherogén irányú változásnak tekinthető. PARP-1 hiányában a bőrben megnő az eikozapenténsav és a dokozahexaénsav, illetve gyulladáscsökkentő hatású metabolitjaik mennyisége.

Gergely Pál akadémikussal és Somsák László professzorral indítottunk el egy kutatási programot a Somsák László által tervezett és szintetizált glikogén foszforiláz inhibitorok (GFi) biológiai hatásainak vizsgálatára. A GFi-k alkalmazásával lassítani lehet a májban a glikogén bontásának ütemét, ami csökkenti a máj glükóz felszabadítását. Kimutattuk, hogy a GFi-k alkalmazása nemcsak a glükóz vérből történő eltávolítását javítja a máj glükóz felvételén keresztül, hanem májban adaptív mechanizmusokat is elindít, amelyek védik a májat a glükóz felvétel káros hatásaitól. Ilyen a mitokondriális aktivitás indukciója, az UCP2 fehérje expressziójának indukciója és az mTORC2 komplex aktivációja. Úgy tűnik más szervekben is hasznos változásokat indítanak el a GFi-k, amelyek vizsgálata jelenleg is érdeklődésünk középpontjában áll.

*Terveink*

További kutatásaink során nemcsak a mitokondriális működést befolyásoló rendszereket és ezek működésének megváltozásából adódó élettani változásokat tervezünk vizsgálni, hanem szélesebb körű metabolikus vizsgálatokat is végzünk, illetve kiépítünk egy, a mitokondriális funkció vizsgálatára alkalmas laboratóriumot. A laboratórium kezelésében oximéterek (Seahorse XF96 és Oroboros Oxygraph-2k), egy Roche Lightcycler II kvantitatív PCR készülék van, illetve az Orvosi Vegytani Intézeti kezelésében lévő műszerparkhoz is hozzáférünk, így alkalmazatunk konfokális és hagyományos mikroszkópot igénylő eljárásokat, hozzáférünk plate-readerekhez és a preparatív és analitikai biokémiai munkához szükséges műszerekhez, illetve az egyetem szolgáltató laboratóriumként működtetett laboratóriumaiban alkalmazott technikákhoz. Lehetőségünk van letapadó és úszó kultúrákban mitokondriális oxigén fogyasztást meghatározni, diszkriminálni az I. és a II. komplex aktivitása között. Meg tudjuk határozni a mitokondriális membránpotenciált és a gyöktermelést, amiből a mitokondrium kapcsoltására lehet következtetni. Mikroszkópos vizsgálatokkal jellemezni lehet a sejtbeli mitokondriumok fúzionáltságának mértékét. Vizsgálhatjuk jellegzetes mitokondriális gének vagy az őket szabályzó faktorok expresszióját, illetve több energia(stressz) szenzor rendszer működését. A labor készülékeit használó egyetemi, külsős és ipari kollaborátorok köre örömteli módon nő.

További vizsgálataink során tágítani kívánjuk a PARP enzimek metabolikus szerepéről alkotott képet. Vizsgálni fogjuk, hogy vannak-e további metabolikus szereppel bíró PARP enzimek, illetve további PARP-ok által szabályozott metabolikus útvonalakat próbálunk azonosítani. Folytatjuk metabolikus vizsgálatainkat, amelyek nem PARP célpontokra irányulnak (GFi-k stb.). A Lendület program keretében az emberi szervezetben található mikrobák (összességüket mikroflórának vagy mikrobiomnak nevezzük) összetételében bekövetkező változások és az emberi szervezetben megjelenő tumorok közti összefüggés vizsgálatát kezdtük el. Ebben a kutatási programban együttműködünk egyetemünk Onkológiai Klinikájával, Mikrobiológiai Intézetével, kisállat képzőképző módszerekkel foglalkozó specialistáival (Trencsényi György, Nagy Tamás) és az UD-Genomed KFT-vel.

<http://mitochondrium.med.unideb.hu/>

<http://medchem.dote.hu/hu>



Az MTA-DE Sejtmetabolizmus kutatócsoport tagjai:

A hölgykoszorú balról jobbra:

Nagy Lilla, Márton Judit, Nagy Kitti, Kovács Tünde és Dr. Mikó Edit

Az urak balról jobbra:

Finta László, Fodor Tamás, Újlaki Gyula, Dr. Abdul-Rahman Omar,  
Dr. Vida András, Dr. Dér Ádám, Dr. Bay Péter