



A SZUKCINÁT-DEHIDROGENÁZ AKTIVITÁSÁNAK SZERVSPECIFIKUS SZABÁLYOZÁSA

Horváth Gergő, Sváb Gergely, Török Eszter, Ádám Veronika és Tretter László

Semmelweis Egyetem Orvosi Biokémiai Intézet, MTA-SE Neurobiokémiai Kutatócsoport



Bevezetés

A szukcinát-dehidrogenáz (SDH) a mitokondriális légzési lánc és a citrát-kör közös enzime. Fontos szerepet játszik a mitokondriális oxidációban, a hipoxiára adott válaszban és a tumor képződésben. Korábban megfigyeltük agy és szív mitokondriumokon, hogy a kis koncentrációjú szukcinát jelenlétében az ADP gátolta az oxigénfogyasztást. Azonban máj és vese mitokondriumok esetében ez a gátlás nem volt megfigyelhető. Kutatásunk céljából a SDH enzim szervspecifikus szabályozásának vizsgálatát tűztük ki. Kísérleteinkben az ADP-re bekövetkező légzésgátlás mögötti regulációs mechanizmusokat vizsgáltuk. Kísérleteinket agyból és veséből izolált mitokondriumokon végeztük. A jelenség hátterében az irodalomban korábban leírt oxálacetát SDH gátló hatását gondoltuk, azonban ez nem magyarázta a szervcsoportokban tapasztalt eltéréseket.

Következtetés

Fiziológiás szukcinát koncentrációk mellett az ADP a májban és vesében stimulálja a légzés intenzitását, míg az agyban és szívben ADP hatására az oxidáció gátlása észlelhető. A jelenséget szukcinát paradoxonnak nevezzük. Az alkalmazott szukcinát koncentrációk fiziológiásnak tekinthetők, így a tapasztalt gátlás fontos szerepet játszhat a Szent-Györgyi-Krebs-ciklus regulációjában. A szukcinát paradoxon magyarázata az oxálacetát steady-state (keletkezés és elimináció) szervspecifikus különbségeiben keresendő. Az oxálacetát metabolizmus szervspecifikus különbségei felvetik a citoplazmában található intermedierek szerepét a citrát-kör szabályozásában.

Anyagok és módszerek

•Mitokondriális Oxigénfogyasztás mérés: Oroboros High Resolution Oxygraph (Clark-elektrod) segítségével.

•Szukcinát-dehidrogenáz enzimaktivitás mérés: diklórfenol indofenol esszével történt 600 nm-en Jasco spektrofotométerrel.

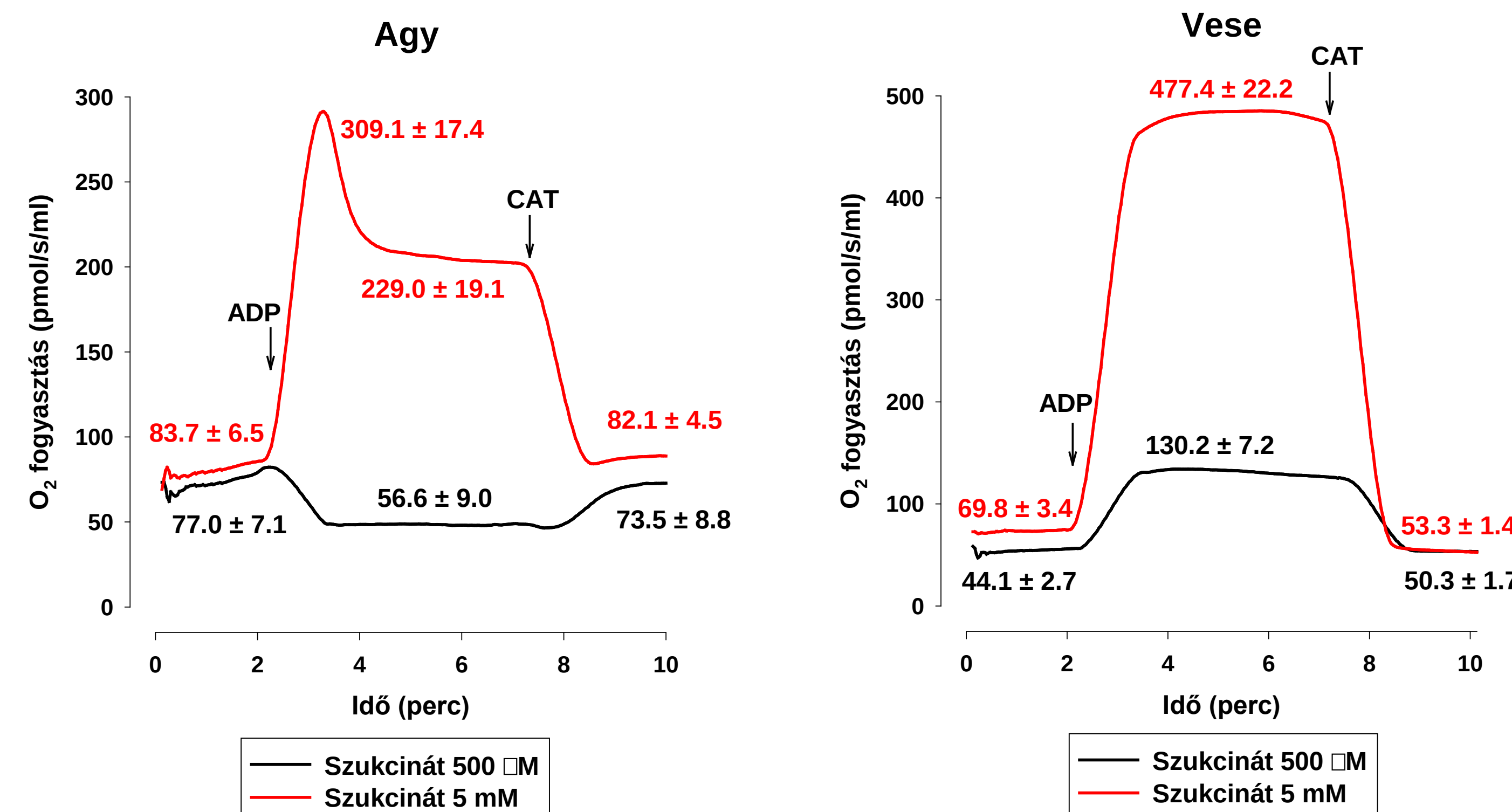
•Mitokondriális almasav enzim aktivitás mérés: Jasco spektrofotométerrel vizsgáltuk 340 nm-en.

•Mitokondriális foszfoenol-piruvát karboxikináz (PEPCK) enzimaktivitás mérése: kapcsolt enzim esszével segítségével Jasco spektrofotométerrel mértük.

Köszönetnyilvánítás:

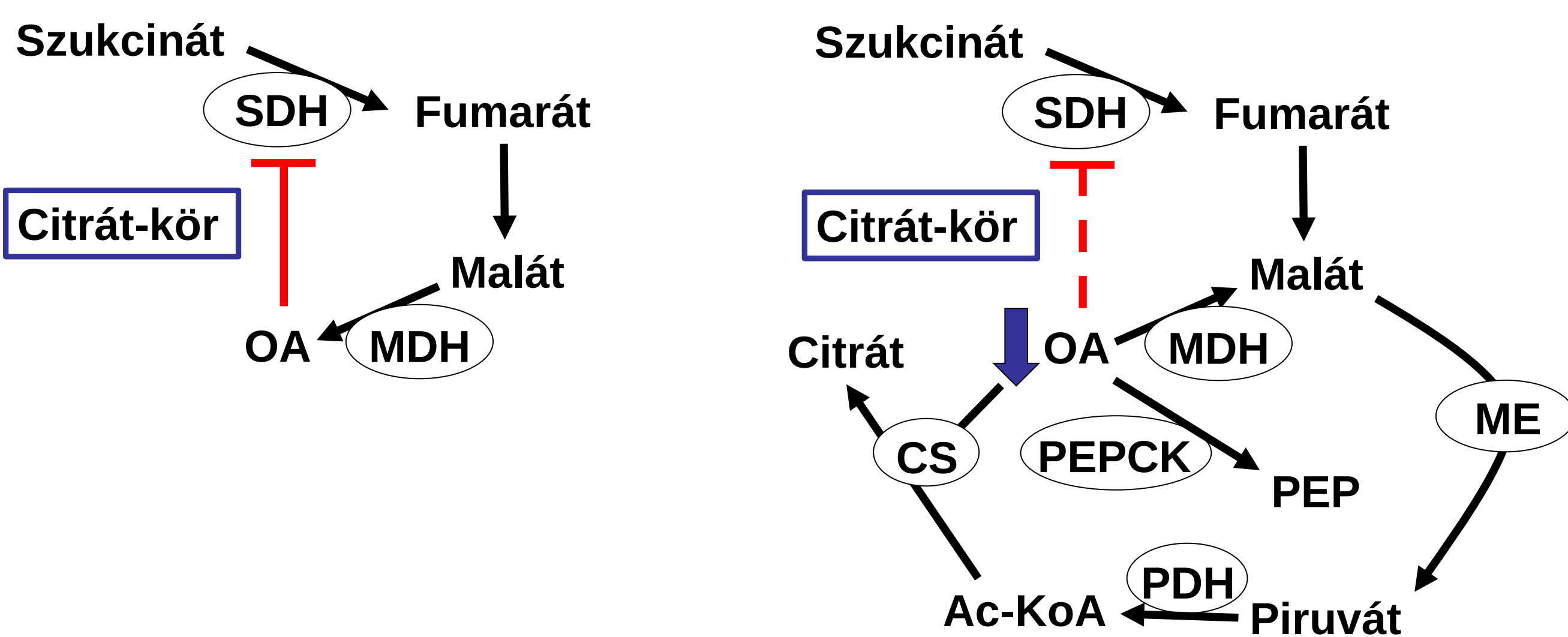
OTKA (NK 81983), TÁMOP (4.2.2./B-09/1), MTA (MTA TKI 2013), Nemzeti Agykutató Program (KTIA_13_NAP-A-III/6)

Oxigénfogyasztás szukcináttal légző agy és vese mitokondriumokon

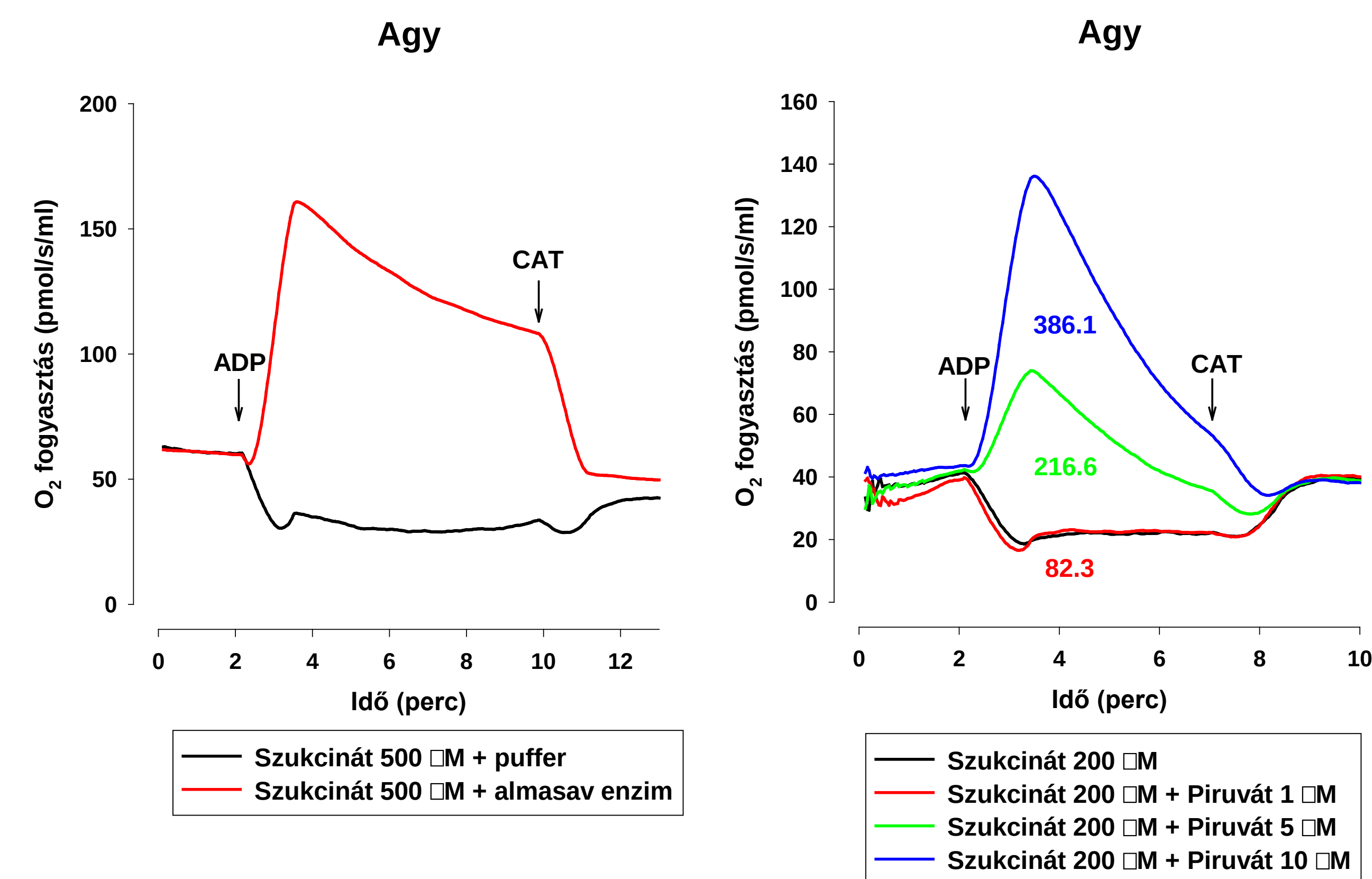


Kis koncentrációjú szukcináttal légző agy mitokondriumokon ADP csökkentette a légzést.

Az oxálacetátot elimináló metabolikus útvonalak

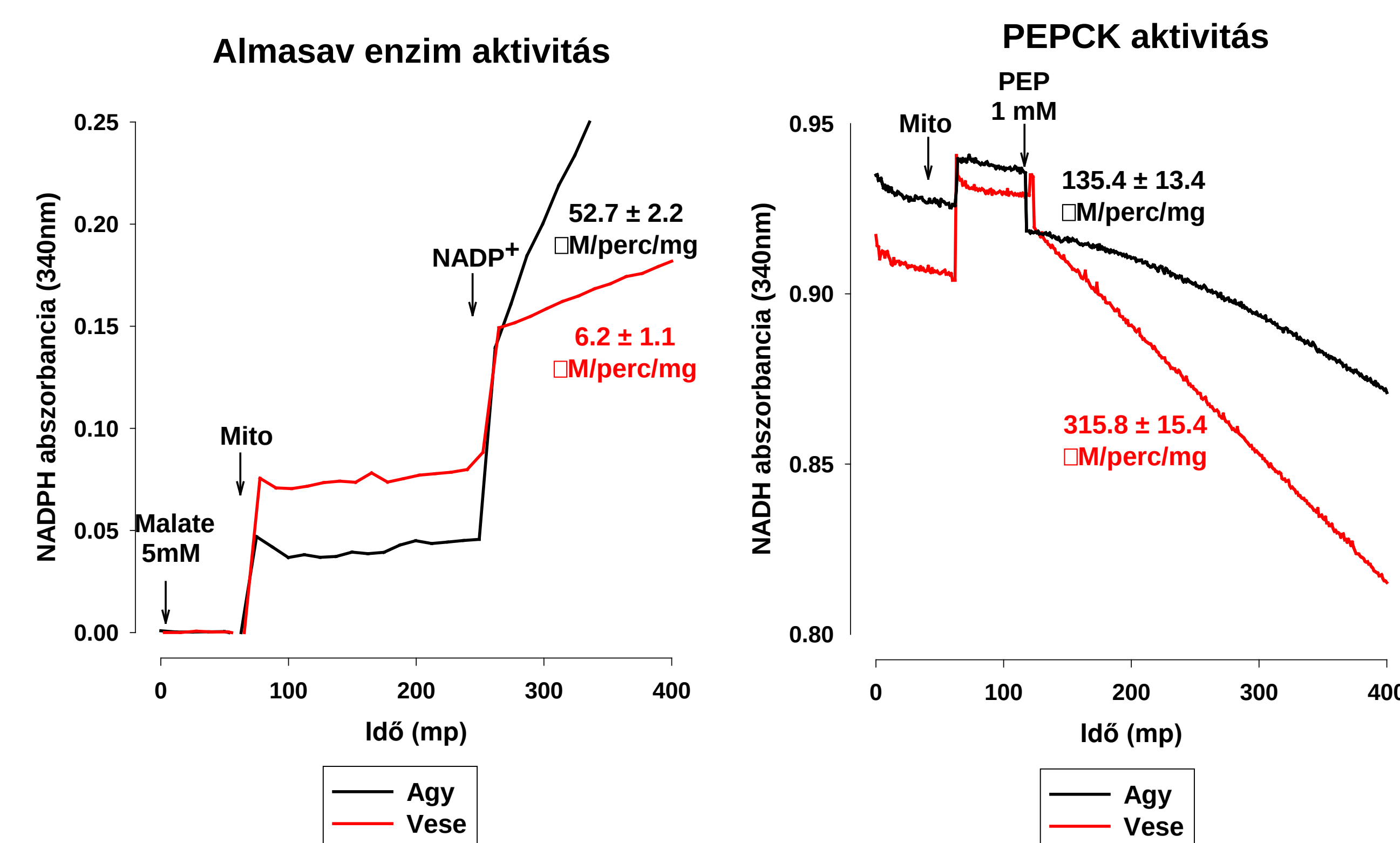


Oxigénfogyasztás almasav enzim és piruvát jelenlétében



Almasav enzim vagy piruvát hozzáadása fokozta a légzést kis koncentrációjú szukcinát jelenlétében.

Almasav enzim és foszfoenol-piruvát karboxikináz enzimaktivitás



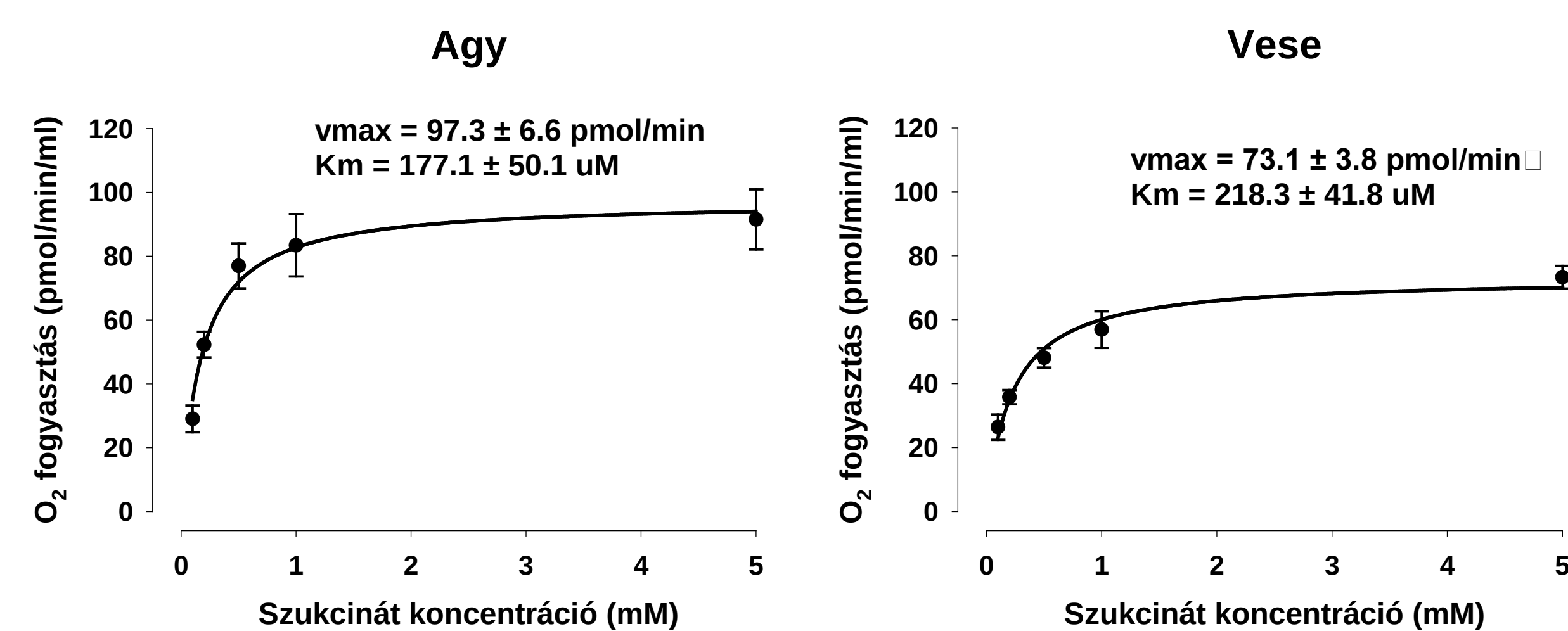
Nagyobb almasav enzim aktivitást mértünk agyi mitokondriumokban . A PEPCK aktivitása viszont vese mitokondriumokban volt magasabb.

Eredmények

Alacsony szukcinát koncentráció esetén ADP hatására az agy mitokondriumokon az oxidáció gátlása volt megfigyelhető, amit a vese mitokondriumokban nem tapasztaltunk. Agy és vese mitokondriumokon végzett szukcinát-dehidrogenáz oxidációs és enzimaktivitás vizsgálatok a szukcinát iránti affinitásban különbséget nem mutatott. A spektrofotometriás enzimaktivitás vizsgálatok során az oxálacetát gátolta az SDH-t mindkét szervben. Agy mitokondriumaiban a rotenon, almasav enzim és a piruvát hozzáadása is megszüntette a gátlást. Az almasav enzim aktivitása magasabb az agyból izolált mitokondriumok esetében. Viszont magasabb PEPCK aktivitását mértünk vese mitokondriumokban.

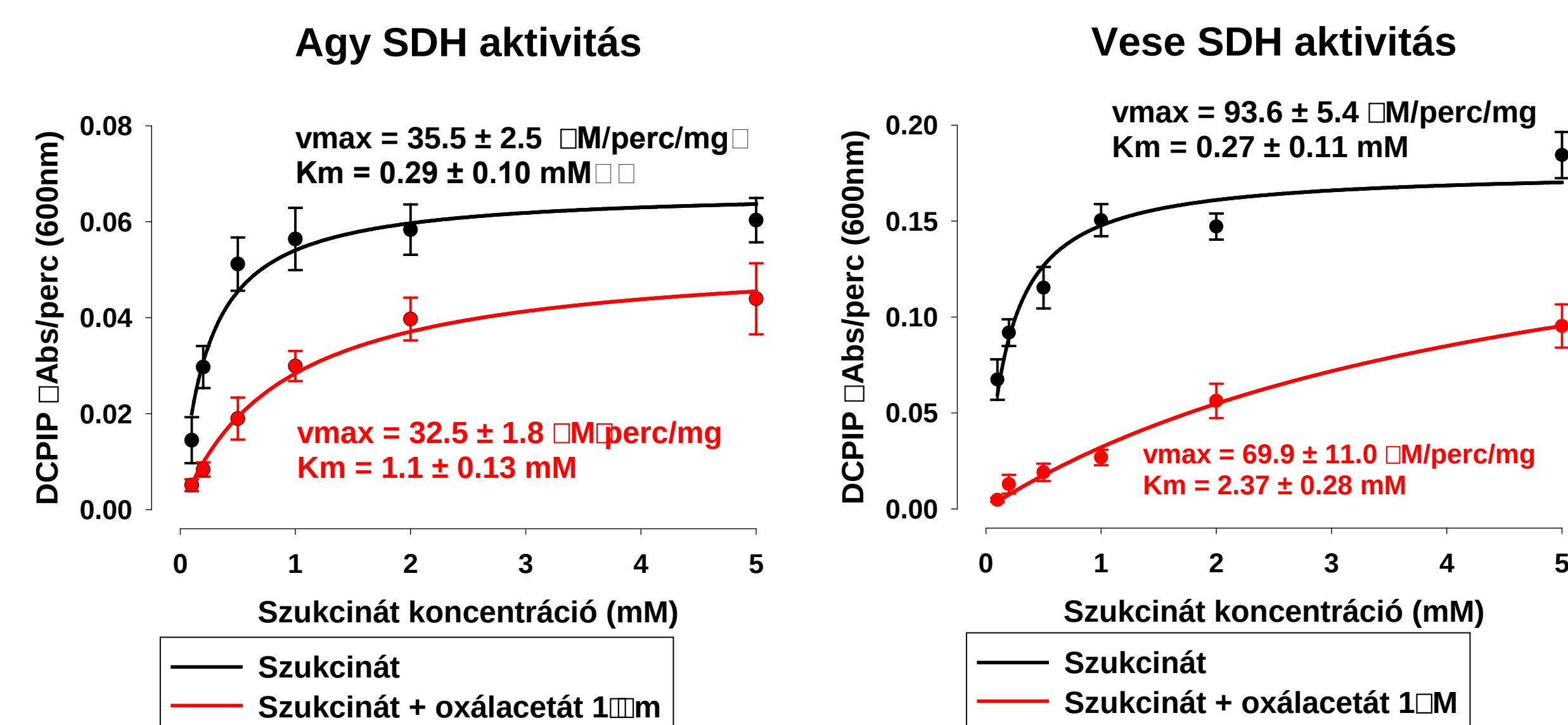
	Agy	Vese
Légzésgátlás kis szukcinát koncentráció esetén	Van (rotenonnal felfüggeszthető)	Nincs
Szukcinát-dehidrogenáz aktivitás	Nincs különbség	
Almasav enzim aktivitás	Magas (9x)	Alacsony
PEPCK aktivitás	Alacsony	Magas (2.5x)

Oxigénfogyasztás különböző szukcinát koncentrációk esetében ADP hiányában



Agy és vese mitokondriumok szukcináttal történt nyugalmi légzésében nincs különbség szukcinát telítési koncentrációjának tekintetében.

Szukcinát-dehidrogenáz enzimaktivitás



A két szervben az SDH enzimaktivitása hasonló a Km megegyezik. Mindkét szervben az oxálacetát gátolt.