

A xantin oxidoreduktáz enzim a metán célpontja

NÁSZAI ANNA

Általános orvos, Osztatlan, 7. félév

VARGA PETRA

Általános orvos, Osztatlan, 3. félév

Szegedi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Bevezetés: Az élettani körülmények között főképp xantin dehidrogenázként (XDH) működő xantin-oxidoreduktáz (XOR) a purin metabolizmus központi enzime. A XOR hipoxia alatt xantin-oxidázzá (XO) alakul, ami a reperfüzió során képződő reaktív oxigén származékok (ROS) egyik legjelentősebb forrása. Ugyanakkor ischaemia alatt a XOR nitrit reduktaékként is működhet, nitrogén monoxidot (NO) termelve. Korábbi in vivo adataink arra utaltak, hogy a metán bioaktivitás egyik célpontja a XOR lehet, ezért in vitro kísérletekben megvizsgáltuk, hogy a gázmolekula befolyásolja-e a XOR purin anyagcserében, ROS és NO képződésben betöltött szerepét.

Módszerek: XO tartalmú reakcióelegyet megfelelő szubsztátokkal (hipoxantin, xantin, NAD, NADH, nitrit), légköri levegő illetve nitrogén atmoszféra, vagy ezek 2,2% metánnal dúsított keverékei alatt inkubáltunk. A mintákban normoxia alatti XOR enzimaktivitást fluorometriával, ROS termelést lucigenin kemiluminometriával, míg a nitrit-redukciót anoxiás körülmények között valós idejű, ózon-indukált NO₂ kemiluminometriával mértük.

Eredmények: Metán hozzáadása nem befolyásolta az össz-XOR (XDH + XO) aktivitást, ugyanakkor az össz-XOR aktivitás a XDH irányába tolódott (levegő kontroll: 98% XO, 2% XDH vs metán: 82% XO, 18% XDH), a ROS termelés pedig szignifikánsan csökkent (levegő 9386 ± 959 vs metán: 5576 ± 706 RLU). A metán hatására a NO termelés szubsztát-függő módon változott.

Megbeszélés: Feltételezésünk szerint metán jelenlétében a XO-XDH konverzió befolyásolása révén megváltozik a XOR szubsztát-specifitása s így a XO-eredetű ROS termelés és az oxidatív stressz mértéke csökkenhet. A metán hasonló mechanizmussal modulálhatja a NO termelődést, így csökkenti az iszkémia alatti citotoxikus mértékű NO termelődést. Mindemellett a metán nem gátolja az enzim működését, így nem befolyásolja annak élettani szerepét.

Támogató: A jelen közlemény alapján szolgáló kutatást a Szegedi Tudós Akadémia programja támogatta az Emberi Erőforrások Minisztériuma pénzügyi hozzájárulásával (TSZ:13725-2/2018/INTFIN), EMMI34232-3/2016/INTFIN, NKFI120232, GINOP-2.3.2-15-2016-00015, EFOP-3.6.2-2017-00006

Témavezetők: Dr. Mészáros András, egyetemi tanársegéd (SZTE); Dr. Juhász László, tudományos segédmunkatárs (SZTE)



2019.04.24. (szerda) - 09:30

In Vitro Diagnosztikai Tömb, Szeminárium terem

Energia-felszabadító mechanizmusok vizsgálata humán barna és beige adipocitákban

VINNAI BOGLÁRKA ÁGNES

Orvosi laboratóriumi és képalkotó diagnosztikai analitikus, BSc, 7. félév

Debreceni Egyetem

Általános Orvostudományi Kar

Felnőttekben számos hőtermelő zsírszöveti terület található, melyekben fellelhető barna és beige adipocitákban kifejeződő Ucp1 fehérje, amely szétkapcsolja az elektron transzport-láncot és az ATP szintézist, így a zsírsavak és a glükóz oxidálásából származó energia hő formájában szabadul fel. Rágcsálókön végzett kísérletek rávilágítottak arra, hogy az aktív beige adipociták Ucp1-független energia-felszabadító mechanizmusokkal is képesek nagymértékű hőtermelésre. Emberekben azonban még tisztázatlan a barna és beige adipociták pontos eredete és funkcionális jellemzői.

Kutatásunk célja volt elő-kísérletek végzése a humán barna/beige adipociták hőtermelő mechanizmusainak megértésére, különös tekintettel az Ucp1-független energia-felszabadító folyamatok vizsgálatára. Különböző anatómiai elhelyezkedésű zsírszöveti depókból származó preadipocitákat fehér és beige zsírsejt irányba differenciáltattunk, majd a mintákat TRIZOL-ban lizáltuk és RNS-t tisztítottunk belőlük. Hőtermelést fokozó és gátló stimulusokat alkalmaztunk; majd mértük a termogenezissel kapcsolatos gének kifejeződésének változását (RT-qPCR-al), a sejtek oxigén fogyasztását és glikolízis rátáját (Seahorse XF96 Extracellular Flux Analyzer alkalmazásával).

A roziglitazon által kiváltott beige differenciáció többek között a szétkapcsolt légzéshez (pl. UCPI és 2, PGC1A) és az Ucp1-független hőtermeléshez (pl. CKMT1 és 2, ATP2A2, PM20D1) nélkülözhetetlen gének kifejeződését fokozta abdominális szubkután adipocitákban, a fehérkekhez képest. Ehhez emelkedett oxigénfogyasztás és extracelluláris acidifikáció társult. A mély nyaki eredetű preadipociták a differenciáció típusától függetlenül aktívabb sejtlegzéssel és glikolízissel rendelkeztek, mint a szubkután eredetűek. A sejtpermeabilis cAMP aktiváció fokozta a légzést, az acidifikációt és az UCPI kifejeződést. Az Ucp1-független kreatin-ciklus kompetitív gátlása lassította a légzést, de nem befolyásolta szignifikánsan a vizsgált gének kifejeződését. A hőtermelő folyamatokat szabályozó molekuláris mechanizmusok jövőbeli megértésével új stratégiák nyílhatnak meg a barnulás általi energia felszabadulás specifikus stimulálására, mely segítheti az elhízott betegek terápiáját.

Témavezető: Dr. Kristóf Endre Károly, egyetemi tanársegéd (DE)



2019.04.24. (szerda) - 09:45

In Vitro Diagnosztikai Tömb, Szeminárium terem