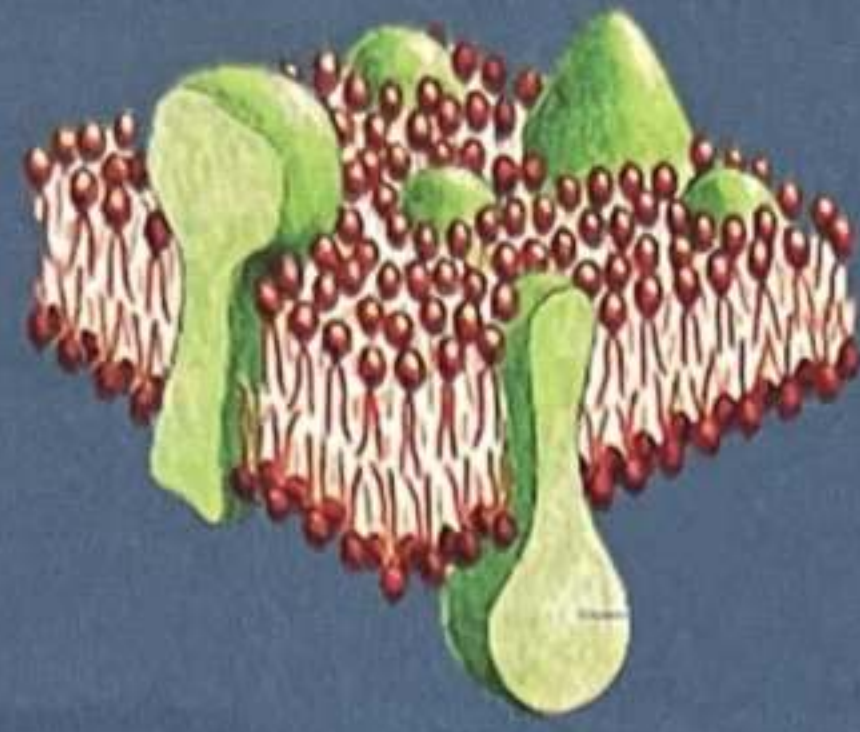




52. Membrán-Transzport Konferencia



2023. május 16-19., Sümeg

PROGRAMFÜZET

3

A VEKLURY® (REMDESIVIR) FORMULÁCIÓK CIKLODEXTRIN TARTALMUK RÉVÉN GÁTOLJÁK A SARS- COV-2 TŰSKEFEHÉRJÉK ACE2 KÖTÉSÉT ÉS FELVÉTELÉT

Zákány Florina¹, Kovács Tamás¹, Kurtán Kitti¹, Varga Zoltán¹, Nagy Péter¹, Panyi György¹

¹*Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Biofizikai és
Sejtbiológiai Intézet, Debrecen*

A súlyos lefolyású COVID-19 betegség terápiájában az első elfogadott gyógyszer a remdesivirt (REM) tartalmazó Veklury® volt, amelyet porként vagy koncentrált oldatként infúzióban alkalmaznak. Azonos mennyiségű REM mellett mindkét formuláció jelentős mennyiségű (3-6g) szulfobutiléter-béta-ciklodextrint (SBECD) tartalmaz, melynek szerumbeli koncentrációja a terápia során mM-os nagyságrendet is elérhet. A SARS-CoV-2 sejtekbe történő tüskefehérje által mediált bejutásának kapui a lipidtutajok, amelyekben a tüskefehérje receptoraként szolgáló ACE2 és a sejtbe jutást segítő TMPRSS2 proteáz dúsul.

A CD-ek koleszterinkivonó képességük révén a lipidtutajok roncsolásával képesek csökkenteni számos fehérje lipidtutajbeli lokalizációját. Azt vizsgáltuk, hogy különböző CD-ek és Veklury® formulációk hogyan befolyásolják az ACE2 és a TMPRSS2 lipidtutajokkal való asszociációját, továbbá a vad típusú, delta és omikron variánsú SARS-CoV-2 tüskefehérjék ACE2 kötését és sejtbe történő felvételét.

HEK/ACE2+TMPRSS2 sejtekről készített konfokális mikroszkópiás felvételeken Pearson-féle korrelációs koefficiens meghatározásával kimutattuk, hogy különböző CD-ek (MBCD, HPBCD, SBECD) és Veklury® formulációk terápiásan releváns koncentrációkban alkalmazva szignifikánsan csökkentik az ACE2 és TMPRSS2 lipidtutajokkal és egymással való kolokalizációját, míg a REM önmagában hatástalan. Áramlási citometria során mind HEK/ACE2+TMPRSS2, mind Calu-3 tüdő adenokarcinóma sejteken a CD-ek és Veklury® formulációk dóziszfüggően csökkentették a mindhárom tüskefehérje ACE2 kötését, hasonlóan azok felvételéhez, amelyet háromdimenziós kvantitatív képelemzés segítségével vizsgáltunk.

A Veklury® formulációk és a CD-ek terápiásan releváns koncentrációban alkalmazva az ACE2, TMPRSS2 és lipidtutajok asszociációjának csökkentése mellett gátolják a különböző variánsú SARS-CoV-2 tüskefehérjék ACE2 kötését és felvételét. Kétszeres CD tartalma révén a Veklury® oldat hatékonyabban gátolja a fenti folyamatokat, ami felhívja a figyelmet a CD-ek terápiás potenciáljára, valamint a kétféle Veklury® formuláció esetleges *in vivo* hatékonyságbeli különbségeire.

ÚNKP-22-4-II-DE-69, OTKA FK143400

CD: ciklodextrin, MBCD: metil-béta-ciklodextrin, HPBCD: hidroxipropil-béta-ciklodextrin, REM: remdesivir, SBECD: szulfobutiléter-béta-ciklodextrin

P69

MEMBRÁN CERAMIDOK SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA A KV1.3 IONCSATORNA PARKINSON-KÓRRA JELLEMZŐ KÓROS FOSZFORILÁCIÓJÁBAN MIKROGLIA SEJTEKBEN

Zákány Florina¹, Kovács Tamás¹, Székelyhidi Virág Enikő¹, Cs. Szabó Bence¹, Kothalawala Rosemary¹, Szabó Máté¹, Kurtán Kitti¹, Vigh Barbara¹, Nagy Péter¹, Varga Zoltán¹, Panyi György¹

¹Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

A Parkinson-kór jellegzetessége a dopaminerg neuronok szelektív pusztulása, amelyben fontos a mikroglia kóros, Kv1.3 túlműködésével összefüggő aktivációja, ezáltal a csatorna szelektív gátlása új terápiás utat jelenthet. A Kv1.3 foszforilációjáért felelős Fyn kináz a betegség fontos rizikófaktor. A Parkinson-kórra jellemző a membrán ceramid (Cer) tartalmának növekedése. A sejtmembránban sajátos szignalizációs mikrokörnyezetet biztosító mikrodomének a koleszterinben és glükoszilceramidban (GCer) gazdag lipidtutajok mellett a Cer által képzett platformok. Azt, hogy Parkinson-kórban a membrán Cer tartalmának növekedése a Cer platformokon keresztül hozzájárulhat-e a Kv1.3 megnövekedett foszforilációjához (pKv1.3) korábban nem vizsgálták.

Kísérleteink során azt vizsgáltuk, hogy a membrán Cer (töltés, LPS kezelés) és GCer (töltés) szintjét növelő kezelések hatására hogyan változik a Kv1.3 és pKv1.3 szintje és membrán mikrodomének közti laterális megoszlása egér mikroglia sejtvonalon.

Konfokális mikroszkópiával kimutattuk, hogy míg a GCer töltés esetén a Kv1.3-lipidutaj kolokalizáció nő, addig a Cer szintet emelő kezelések (Cer töltés, LPS) hatására a csatorna-Cer platform kolokalizáció növekedett. Áramlási citometriás mérések alapján a Cer töltés és LPS hatására megnőtt a pKv1.3 mennyisége, ami együtt járt a pKv1.3-Cer platform kolokalizáció növekedésével, míg a pKv1.3-lipidutaj kolokalizáció nem változott. Jelenleg azt vizsgáljuk, hogy az LPS által kiváltott hatások kivédhetők-e a Cer szint növekedésének egyidejű megakadályozásával a szerin-palmitoil-transzferáz, savas vagy neutrális szfingomielináz enzimek gátlása révén.

Kimutattuk, hogy mikroglia sejtekben a sejtmembrán Cer szintjének növekedése a Kv1.3 megnövekedett foszforilációjával jár, a pKv1.3 pedig a Cer platformokban dúsul, így eredményeink a Parkinson-kórban megnövekedett Cer szint és a pKv1.3 szint közti direkt kapcsolatra utalhatnak.

ÚNKP-22-4-II-DE-69, ÚNKP-22-2-I-DE-134, ÚNKP-22-3-I-DE-302, ÚNKP-22-3-I-DE-243, OTKA FK143400

Cer:ceramid, GCer:glükoszilceramid, LPS:lipopoliszacharid, pKv1.3:foszforilált Kv1.3