# Ioncsatornák és pumpák szerepe metasztázis képződésben

 A daganatos halálozások túlnyomó többségét áttétek okozzák. Egyre több irodalmi adat utal arra, hogy az áttétképződésben a különböző ion transzporterek és ioncsatornák meghatározó szerepet játszhatnak, többek között a nemrégiben metasztázis szuppresszorként azonosított plazmamembrán Ca2+ATPáz (PMCA) illetve a metasztázis kialakulását elősegítő Na+ csatorna (Nav). Projektünkben megvizsgáltuk a két membránfehérje daganatprogresszióban betöltött szerepét. Kimutattuk, hogy A375 melanóma sejtekben a tetrodotoxin és amitriptyline Nav gátlók a migrációt ~20%-val csökkentik, míg a PMCA4b szintjének megemelése jelentős (~70%) migráció aktivitás csökkenést okoz. Azonban a két hatás nem additív. A Nav-gátlószerek mechanizmusát terápiás jelentősége miatt tanulmányoztuk. Elektrofiziológiai kísérletek sorozatával bizonyítottuk, hogy a riluzol elsősorban moduláció és nem blokk mechanizmussal gátolja a csatornát, amely egy terápiás szempontból kedvezőbb, új hatásmechanizmus. A gátlószerek kölcsönhatását a Nav fehérjével *in silico* dokkolással és metadinamikai szimulációkkal is vizsgáltuk, amely lehetővé teszi az eltérések atomi szintű jellemzését. Molekuláris dinamikai módszerrel tanulmányoztuk a PMCA kölcsönhatását PIP2 molekulákkal is, lehetséges gyógyszer támadási pontot keresve.

**Szinergia összegző űrlap**

(a pályázók közösen ezt az űrlapot töltik ki)

* Adják meg a támogatott szinergia programjuk címét és szakmai fókuszpontját

**Ion csatornák és pumpák szerepe metasztázis-képződésben**

* Adják meg a szinergia program keretében együttműködő partnerek nevét, tudományos fokozatát, tudományos besorolását, e-mail címét.

**Hegedűs Tamás, PhD, tudományos főmunkatárs, hegedus@hegelab.org**

**Mike Árpád, PhD, tudományos főmunkatárs, arpadmike1@gmail.com**

**Padányi Rita, MD, PhD, tudományos munkatárs, padanyi.rita@med.semmelweis-univ.hu**

* Csatolják a MedInProt programnak köszönhetően elkészült tudományos közleményeik**,** szakmai megjelenésükbibliográfiai adatait, valamint e dokumentum pdf-ét**.** Minden publikáció esetében fejtsék ki max. 2 mondatban a MedInProt relevanciáját.
1. Fejtsék ki pontosan, hogy a kutatási együttműködésük hogyan kapcsolódott az alább megadott MedinProt **fókuszpontok** legalább egyikéhez *(max. 300 szó)****.***

Dagantos halálozást az esetek közel 90%-ban áttétek okozzák. Az áttétképződésben a különböző ion transzporterek (aktív transzport ATPázok és passzív csatornák) is meghatározó szerepet játszanak, mint amilyen a nemrégiben metasztázis szuppresszorként azonosított plazmamembrán Ca2+ATPáz (PMCA) (Hegedũs et al., 2016) és a metasztázis kialakulását elősegítő Na+ csatorna (Nav) (Koltai, 2015) membránfehérjék. Egyre több irodalmi adat utal arra, hogy e membránfehérjék expressziója eltér daganatos és nem daganatos szövetekben. Számos megfigyelés bizonyítja, hogy a Ca2+ jelátviteli rendszer átalakulása fontos tényezője a daganatok progressziójának és az áttétképzésnek. A PMCA4 izoforma kifejeződése kifejezetten érzékeny a differenciáltság mértékére, tumorokban a mennyisége csökken. Ismert például, hogy ennek a variánsnak expressziója jelentősen csökken bizonyos emlő és bél daganatokban (Padányi et al., 2016). A pályázók kimutatták továbbá, hogy a PMCA4b expressziójának fokozása gátolja a melanoma sejtek motilitását és csökkenti a metasztázisképző hajlamát, de nem befolyásolja a sejtosztódást (Hegedũs et al., 2016). Tehát ebben a rendszerben a PMCA4b fehérje a sejtmotilitás szabályozásán keresztül metasztáziszupresszorként funkcionál. A nátriumcsatornákról kiderült hogy a hagyományos, ingerelhető szöveteken kívül többek között rákos sejtekben is megtalálhatóak. Továbbá bebizonyosodott, hogy Nav gátlók hatékonyan képesek gátolni a sejtek inváziós és a metasztatikus aktivitását (Koltai, 2015). Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a daganatprogresszióban a Na+ csatorna a metasztázis kialakulását segíti elő, míg a PMCA metasztázis szuppresszor szerepet tölt be. Mindkét membránfehérje befolyásolása (Nav gátlása ill. PMCA aktiválása) érinti az intracelluláris kalciumhoz köthető jelátviteli folyamatokat, ezért elképzelhető hogy hatásaik szupra-additívak. Tehát igen érdekes és fontos daganatprogresszióban betöltött szerepüknek együttes vizsgálata, amely végső soron új, hatékonyabb gyógyszerek vagy gyógyszer-kombinációk kifejlesztését teheti lehetővé.

1. Foglalják össze **közérthetően** szinergia programjuk, és közös munkájuk eredményeit *(max. 300 szó).*

Boyden kamrával megvizsgáltuk, hogy a **PMCA expressziójának növelése és a Nav csatornák gátlása milyen hatással van az irányított sejtmozgásra** illetve az inváziós képességre. A375 melanóma sejtekben a tetrodotoxin és amitriptyline Nav gátlók ~20%-os migráció csökkenést eredményezték. A PMCA4b szintjének megemelése jelentős (~70%) migráció aktivitás csökkenést okozott. Amennyiben a PMCA4b fehérjét nagyobb mennyiségben tartalmazó sejteket kezeltünk Nav gátlókkal, az nem növelte tovább a migráció gátlás hatékonyságát. A PMCA4b expresszió fokozás és a NaV gátlás migrációra kifejtett hatása tehát nem additív.

Elektrofiziológiai módszerekkel kimutattuk működőképes nátriumcsatornák jelenlétét A375 melanóma sejtekben.

**A lidokain és a riluzol hatásmechanizmusának összehasonlítása.** Általánosan elfogadott, bár eddig még soha nem bizonyított nézet, hogy a kötőhelyet elfoglaló gátlószer akadályozza az ionáramot (csatorna blokk mechanizmus). A riluzol által közvetített gátlás kivételesen érzékeny volt a csatorna konformációjára, ezért felmerült, hogy hatását más mechanizmussal, elsősorban modulációval fejti ki.

Kísérleteinkben riluzol mellett a gyógyszer foto-aktiválható származékát, azido-riluzolt használtunk, amely UV fény hatására kovalens kötést létesít a környezetében található aminosavakkal. Miután a kötőhelyeket telítettük kovalensen kötött gátlószerrel, még mindig megfigyeltünk csatornanyitást és ionáramokat, csupán a konformációs állapotok közötti átmenetek kinetikája változott. Bizonyítottuk tehát, hogy a csatorna blokk nélküli modulációja egy lehetséges hatásmechanizmus.

Gyorsított **molekuláris dinamikai szimulációkkal vizsgáltuk** a PMCA E1>E2 konformációs átmenetét és az a PIP2-nek erre a folyamatra kifejtett hatását. „Targeted” szimulációkat végeztünk, de ezekben nem tudtunk megfigyelni szignifikáns különbséget a csak POPC-t és a PIP2-t is tartalmazó rendszerek között. A lidokain és a riluzol Nav fehérjéhez történő kötését is jellemeztük MD szimulációkkal.Olyan metadinamika szimulációkat végeztünk, amely lehetővé tette a vegyületek számára a központi üreg bejárását a szimuláció ideje alatt. A vegyületek leggyakoribb előfordulási valószínűségei azt mutatják, hogy a lidokain mintegy eltömíti az ioncsatornát, míg a riluzol főleg a póruson kívüli részekhez kötődik, valószínűleg alloszterikusan fejti ki hatását.

A projekt eredményei új, hatékonyabb rákellenes gyógyszerek vagy gyógyszer-kombinációk kifejlesztését tehetik lehetővé.

1. Értékeljék és véleményezzék közös munkájukat (sikereiket, nehézségeiket, illetve azon ötleteiket, javaslataikat, amelyeknek köszönhetően a következő programok hatékonysága javulhat) *(max. 200 szó).*

Korábban is gondolkodtunk együttműködésen, a MedInProt pályázat ehhez lendületet adott. A pályázat időtartama alatt sikerült fenntartani a rendszeres találkozásokat. A Nav tumorsejtvonalakban mutatott expresszióját célzó kísérletek negatív eredményei miatt kétséges, hogy ezt publikálni tudjuk. Ezzel szemben az riluzol hatásmechanizmusának kísérletes és *in silico* vizsgálatai igen ígéretesek.

1. Szabadon fogalmazzák meg a MedInProt kapcsán támogató és/vagy kritikus észrevételeiket. *(max. 200 szó)*

Amennyiben adminisztratív okok engedik, egy általánosan fehérjetudománnyal foglalkozó közösség esetében hasznos lenne a támogatási döntést a pályázatok minősége és a vizsgálni kívánt rendszer (társadalmi) relevanciája alapján meghozni, s a kiírást nem leszűkíteni pár fókuszpontra.

***A szinergizmus szakmai fókuszpontjai, kiemelt kutatási témák****:*

1. *Jelátviteli fehérjék szerepe gyulladásos és daganatos megbetegedésekben,*
2. *NMR és MRI adta lehetőségek a fehérjék feltekeredésével kapcsolatos betegségek molekuláris hátterének megértésében,*
3. *Szabályozó fehérjék szerepe az öregedési folyamat(ok)ban,*
4. *Alkalmas nanorendszerek fejlesztése peptid- és fehérjealapú hatóanyagok stabilitásának és felszívódásának fokozása érdekében.*