Az agyi mitokondriumok bioenergetikája és reaktív oxigénszármazék-termelő képességének vizsgálata

Doktori tézis

dr. Komlódi Tímea

Semmelweis Egyetem

Szentágothai János Idegtudományi Doktori Iskola

Funkcionális Idegtudományok

Témavezető: Dr. Tretter László, DSc, egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Bay Péter, DSc., egyetemi tanár
Dr. Rónai Zsolt, Ph.D., egyetemi docens

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Molnár Mária Judit, DSc, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Szarka András, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Kardon Tamás,Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest

2018

BEVEZETÉS

A mitokondriumok központi szerepet töltenek be az energiatermelésben: itt történik a belélegzett oxigén redukciója, amely a mitokondrium belső membránjában elhelyezkedő légzési lánc révén szorosan kapcsoltan működik az ATP termeléssel. Szervezetünk az energiát a bevitt tápanyagok (főként szénhidrátok, zsíro) lebontásából nyeri, melynek során többek között redukáló ekvivalensek, így NADH és $FADH_2$ képződnek. A NADH-t a légzési láncban a komplex I (CI), míg a $FADH_2$-t a komplex II (CII) oxidálja. Az elektronok ezt követően a CI-en vagy CII-n keresztül a lánc elektronszállító molekulájára, a koenzim Q-ra kerülnek, amely a komplex III (CIII) felé szállítja az elektronokat. A CIII és a komplex IV (CIV) között az elektronok transzportját a citokróm c végzi. Az elektronok a CIV-en keresztül a lánc végső elemére az oxigénre (O_2) kerülnek azt vízzé redukálva. A légzési lánc komplexei a redoxpotenciáljuknak megfelelően növekvő sorrendben helyezkednek el, így az elektronok áramlása közben energia szabadul fel. Ez az energia fedezi a protonok mitokondriális mátrixból az intermembrán térbe történő kipumpálását. Ennek következtében a belső membrán két oldala között proton koncentráció- és pH-különbség alakul ki. Az ionok töltése következtében az intermembrán tér pozitívabb töltésű és alacsonyabb pH-jú lesz, mint a mátrix, tehát elektromos potenciálkülönbség is létrejön. Az így kialakuló elektrokémiai potenciálkülönbség a protonmotoros erő (angolul protonmotive force, *pmf*) biztosítja az ATP szintézishez szükséges energiát. A fenti folyamatok képezik a kemiozmotikus elmélet (kémai Nobel-díj,1978, P.Mitchell) alapját.

Három fő mitokondriális ATP termelő folyamat létezik: 1.) az oxidatív foszforiláció, amelyről az előbbiekben már volt szó, 2.) a citrátköri szukcinát-tiokináz enzim által katalizált szubsztrát-szintű foszforiláció (SSF)

(szukcinil-KoA + ADP + Pi→ szukcinát + ATP + KoA-SH), amely a mitokondriális légzési lánctól és a *pmf*-től függetlenül működik és 3.) az adenilát-kináz (AK) enzim által katalizált reakció (2 ADP → AMP + ATP). A SSF jelentős szerepet játszik a légzési lánc károsodása esetén, amikor a citrátkör a felhalmozódott NADH miatt gátlás alá kerül, csökken a mitokondriális légzés és így az ATP termelés is. A mitokondriális membránpotenciál ($\Delta\psi_m$) csökkeni kezd, ami után először az ATP-szintáz, majd az adenin nukleotid transzlokáz (ANT; ADP/ATP cseretranszporter) működése fordul meg. Ilyen körülmények között a SSF kulcsfontosságú, mivel ennek során elegendő mennyiségű ATP keletkezhet, amit az ATP-szintáz hidrolizál a $\Delta\psi_m$ megtartása érdekében; megakadályozva az ANT megfordulását és a citoszolikus ATP mitokondriális felhasználását.

Számos neurodegeneratív betegségben, így Alzheimer-, Parkinson- és Huntington-kórban, 2-es típusú cukorbetegségben, daganatok kialakulásában, iszkémia-reperfúzióban bizonyított a mitokondriális károsodás. Így az utóbbi évtizedekben olyan vegyületek kutatása és ellőállítása,a amelyek a mitokondriumokon is hatnak, rohamosan nőtt. Munkánk során így célul tűztük ki egyrészt a methemoglobinémiában használt, ám mitokondriális célponttal is rendelkező vegyület, a metilénkék (MB) hatásának vizsgálatát a mitokondriális SSF-ra tengerimalac agykéregből izolált mitokondriumokon. Heterociklusos gyűrűrendszerének köszönhetően erősen lipofil vegyület, amely könnyen jut át a biológiai membránokon, így receptor-független módon bejut a mitokondriumba is.

A légzési lánc károsodása (pl. komplex I, II vagy III rendellenesség) esetén NADH és $FADH_2$ halmozódik fel. A NADH gátolja a citrátkör sebesség-meghatározó lépését katalizáló enzimet, az α-ketoglutarát dehidrogenázt (α-KGDH), ami a citrátköri folyamatok lelassulásához vezet.

A MB azonban oxidálja a NADH-t és a $FADH_2$-t, az elektronokat MBH_2-ként a citokróm c-re szállítja. Az elektronok a CIV keresztül a molekuláris oxigénre kerülnek és redukálják azt, fokozva a légzést és az ATP szintézist, csökkentve a mitokondriumok kalcium felvevő képességét és visszaállítva a $\Delta\psi_m$-t. Továbbá, a NAD^+/NADH arány növekedése felszabadítja az α-KGDH-t és a citrátkört a gátlás alól.

A mitokondriális károsodást azonban nemcsak csökkent ATP-termelés, hanem sok esetben fokozott reaktív oxigénszármazék (ROS) termelődés is kíséri. A ROS-ok oxigén tartalmú reaktív vegyületek, amelyek az oxigén természetes metabolizmusa során keletkeznek a szervezetben. A sejten belül számos ROS termelő sejtszervecskét tartanak számon. Először az 1970-es években írták le az izolált mitokondriumok ROS-képző tulajdonságát; azóta számos mitokondriális ROS termelő helyet azonosítottak. Ezek közül az egyik legspeciálisabb állapot a RET által támogatott ROS. RET során az elektronok a $FADH_2$-t termelő szubsztrátokról (szukcinát, α-glicerofoszfát; α-GP) a koenzim Q-ra kerülnek, ami az elektronokat a CI–hez szállítja. A folyamat energiaigényes, így magas $\Delta\psi_m$ szükséges az elektronok ellentétes irányú szállításhoz, amely *in vitro* ADP nélkül biztosítható. A RET képződés mértéke a nagy energia igénye miatt erősen függ a $\Delta\psi_m$-től; 10%-os csökkenés a $\Delta\psi_m$-ben 90% csökkenést idéz elő a ROS termelésben. A RET során keletkezett ROS-t azonban befolyásolja a $\Delta\psi_m$ mellett a *pmf* másik komponense, a ΔpH is. Azt, hogy a *pmf* melyik komponense van nagyobb hatással a RET-re már vita tárgyát képezi. Brand és Zoccorato munkacsoportjai úgy vélik, hogy a RET sokkal nagyobb mértékben függ a ΔpH-tól, mint a $\Delta\psi_m$-től. Míg Selivanov és csoportja szerint nem a ΔpH, hanem a mitokondriális mátrix abszolút pH értéke van nagyobb hatással a RET-re. Így munkánk során célul tűztük ki a körülmények tisztázását.

CÉLKITŰZÉS

Munkám célja a mitokondriális légzési lánc károsodás során fellépő elégtelen ATP termelés és a mitokondriális ROS termelés befolyásolásának vizsgálata. Így tanulmányoztuk a mitokondriális célponttal rendelkező vegyület, a metilénkék (MB) hatását a mitokondrium egyik alternatív ATP termelő folyamatára, a szubsztrát-szintű foszforilációra (szukcinil-KoA+ ADP + Pi = szukcinát + ATP + acetil-KoA) tengerimalac agyból izolált mitokondriumokon; elsősorban a következő kérdésekre kerestük a választ:

- Milyen hatást fejt ki a MB a mitokondriális szubsztrát-szintű foszforilációra, amelyet a citrátköri enzim, a szukcinát-tiokináz katalizál?
- Milyen hatással van a MB az oxigénfogyasztásra, NAD(P)H autofluoreszcenciára és a $\Delta\psi_m$-ra az ATP-szintáz gátlása esetén?
- Hogyan változik az oxigénfogyasztás, a NADH autofluoreszcencia és a $\Delta\psi_m$ MB hatására az ATP-szintáz és a komplex I együttes gátlása esetén? Képes-e a MB a mitokondriális károsodást követően a $\Delta\psi_m$-t helyre állítani?

Másrészt vizsgáltuk egy speciális ROS termelő folyamat, a (RET) által támogatott ROS befolyásolásának lehetőségét. Munkánk célja a *pmf* komponenseinek hatásának vizsgálata a RET által támogatott ROS termelésre tengerimalac agyból és szívből izolált mitokondriumokon. A következő kérdéseket szerettük volna megválaszolni:

- A *pmf* melyik komponense (ΔpH és $\Delta\psi_m$) gyakorol nagyobb hatást a szukcinát vagy az α-GP jelenlétében mért RET által támogatott ROS-ra?
- Hogyan függ a szukcinináttal és az α-GP-vel támogatott H_2O_2 termelés az extramitokondriális pH értékétől?
- Hogyan változik a ΔpH a pH_{extra} függvényében?

- Megfigyelhető-e szervspecifikus hatás a RET-tel támogatott H_2O_2 termelés befolyásolásának tekintetében?

MÓDSZEREK

Méréseink során tengerimalac agykéregből és szívből izolált mitokondriumokat használtunk az állat lefejezését követően. A mitokondriumot az agyból Percoll gradiensen frakcionálva, míg a szívből differenciál centrifugálással izoláltuk. Az állatok kezelése a Semmelweis Egyetem Állatkísérleti Bizottságának szabályzatában foglaltaknak megfelelően történt. A fehérjekoncentrációt módosított biuret-módszerrel határoztuk meg.

A mitokondriális oxigénfogyasztás meghatározása

A mitokondriális oxigénfogyasztást Clark-típusú elektród alapú műszerrel, Oroboros Oxygraph-2k-vel határoztuk meg (Oroboros Instruments, Innsbruck, Ausztria).

A mitokondriális ATP szintézis sebességének meghatározása

A mitokondriális ATP termelést egy kapcsolt enzimrendszer segítségével határoztuk meg. A mitokondriumból kilépő ATP a hexokináz enzim által katalizált reakcióban reagált a glukózzal és glukóz-6-foszfát képződött. A keletkezett glukóz-6-foszfát a glukóz-6-foszfát-dehidrogenáz által katalizált reakcióban 6-foszfoglukonáttá alakult át, miközben a $NADP^+$ NADPH-vá redukálódott. A képződött NADPH abszorbanciája egyenesen arányos a mitokondriumban keletkezett ATP mennyiségével.

A mitokondriális membránpotenciál meghatározása

A mitokondriális membránpotenciált ($\Delta\psi_m$) egyrészt egy pozitív töltésű, piros fluoreszcens festékkel, safraninnal detektáltuk, amely $\Delta\psi_m$-függően felhalmozódhat a mitokondriális mátrixba. Másrészt a $\Delta\psi_m$ meghatározása az

oldat és a mitokondrium közötti tetrafenilfoszfónium ion (TPP^+) megoszlása alapján történt egy TPP^+-érzékeny elektród segítségével.

A mitokondriális reaktív oxigén származék képződésének meghatározása

A mitokondriális H_2O_2 meghatározásához Amplex UltraRed/tormaperoxidáz (HRP) esszét használtuk. A H_2O_2 reagál a HRP által katalizált reakcióban az Amplex UltraReddel egy fluoreszcens anyagot, rezorufint eredményezve, amelyet fluoriméterrel detektáltunk.

Az intramitokondriális pH (pH_{in}) meghatározása

A pH_{in} meghatározása 2,7-biszkarboxietil-5(6)-karboxifluoreszcein acetoximetilészterrel (BCECF-AM) történt, amely képes könnyedén bejutni a mitokondriumba. A mitokondriális mátrixban az észtercsoportot a mitokondriális észterázok lehasítják, kialakítva az intramitokondriális pH-ra érzékeny BCECF fluoreszcens molekulát. A BCECF előnye, hogy excitációs spektrumában pH-érzékeny és nem-pH-érzékeny régiókat lehet elkülöníteni.

A NAD(P)H autofluoreszcencia és a metilénkék abszorbanciájának meghatározása

A NAD(P)H autofluoreszcenciájának meghatározása 344 nm excitációs és 460 nm emissziós hullámhosszon történt fluoriméterrel. A MB oxidált és redukált formájának abszorbanciáját 660 nm-en spektrofotométerrel detektáltuk.

EREDMÉNYEK

A metilénkék hatása a mitokondriális szubsztrát-szintű foszforilációra agyi mitokondriumokban

Az AK mitokondriális altípusai nagymértékben hozzájárulnak a mitokondriális ATP termeléshez, így minden mérésükben az enzim specifikus gátlószerét, AP5-t alkalmaztuk (200 μM), amely 83%-kal gátolta az AK-függő ATP termelést. A SSF detektálása érdekében a másik mitokondriális ATP termelő folyamatot az OXPHOS-t is gátoltuk az ATP-szintáz specifikus gátlószerével, oligomycinnel.

Kísérleteink során 300 nM, 1 μM és 2 μM MB hatását vizsgáltuk a mitokondriális ATP-termelésre, oxigénfogyasztásra, $\Delta\psi_m$-re és NADH autofluoreszcenciára különféle légzési szubsztrátokkal (α-ketoglutaráttal; α-KG, szukcináttal, maláttal és glutamáttal) energetizált agyi mitokondriumokban. A mitokondriumokhoz először ADP-t adtunk, majd a légzési szubsztrát hozzáadásával indukáltuk az OXPHOS-t, majd oligomycinnel gátoltuk az ATP-szintázt. Ezt követően a MB fokozta az ATP termelést α-KG-tal és glutamáttal lélegeztetett mitokondriumban, míg nem volt megfigyelhető változás szukcinát vagy malát esetén. Ez azzal magyarázható, hogy a szukcinát és a malát a szukcinát-tiokináz után lépnek be a citrátkörbe és nem támogatják a szukcinil-KoA képződését, ami a szukcinát-tiokináz szubsztrátja lenne.

Az oxigénfogyasztás detektálása során az ATP termelésnél alkalmazott protokollt használtuk. A légzési szubsztrátok és ADP jelenlétében az oxigénfogyasztás növekedett, majd oligomycin hatására a légzés csökkent. A MB azonban a légzést újra fokozni kezdte. A MB hatása

azzal magyarázható, hogy a MB az oligomycin gátlása következtében felhalmozódott NAD(P)H-t és $FADH_2$-t oxidálta és az elektronokat egy alternatív útvonalon az elektronszállító molekulára a citokróm c-re szállította, így feloldva a citrátkört a NADH okozta gátlás alól. Kísérletinkben továbbá bizonyítottuk, hogy a MB az oligomycinnel gátolt α-KG-val lélegeztetett mitokondriumban csökkentette a NADH autofluoreszcenciát.

A mitokondriális membrán légzési szubsztrát jelenlétében hiperpolarizált. ADP hatására a $\Delta\psi_m$ csökken, mivel a protonok az ATP-szintáz protoncsatornáján keresztül visszakerülnek az intermembrán térből a mitokondriális mátrixba. Az oligomycin hiperpolarizálta a mitokondriális membránt, ugyanis a protonok felhalmozódtak az intermembrán térben. A MB sem α-KG-tal, sem maláttal, sem glutamáttal energetizált mitokondriumban nem okozott szignifikáns változást oligomycin jelenlétében; nem tudta helyreállítani a $\Delta\psi_m$-t.

Ma már elfogadott tényként tartják számon a neurodegeneratív kórképek, mint például Parkinson- vagy Alzheimer-kór mitokondriális érintettségét. A CI-ben bekövetkező mutáció több neurodegeneratív kórképben fellelhető, ami többek között a mitokondriális oxigénfogyasztás deprivációjával jár együtt. Jelen munkánkban arra voltunk kíváncsiak, hogy CI gátlás esetén a MB-kel fokozott SSF-val keletkezett ATP javíthatja-e a mitokondrium funkciót. Kísérleteinkben a CI gátlószer, rotenon mellett az ATP-szintáz gátlása érdekében oligomycint is használtunk. Ilyen körülmények között a MB fokozta az ATP szintézist α-KG-tal energetizált mitokondriumokban, míg nem okozott jelentősebb változást malát jelenlétében. α-KG-tal vagy maláttal energetizált mitokondriumokban ADP hatására a mitokondriális membrán depolarizálódott, majd az oligomycin növelte a $\Delta\psi_m$-t és a rotenon gátolva a CI-t csökkentette a $\Delta\psi_m$-t. Ha ezután 2

μM MB-kel kezeltük a mitokondriumokat, akkor a $\Delta\psi_m$ helyreállt mindkét szubsztrát jelenlétében.

A protonmotoros erő komponenseinek, a mitokondriális membránpotenciál és a transzmembrán pH grádiens hatása a mitokondriális reverz elektron transzport által támogatott H_2O_2 termelésre agyi és szív mitokondriumokon

A *pmf* komponenseinek a szétválasztása szükséges ahhoz, hogy külön-külön tudjuk vizsgálni a két komponens, ΔpH és $\Delta\psi_m$ hatását a szukcinát és α-GP jelenlétében mért RET által támogatott H_2O_2 termelésre. A két tag elkülönítése ionofórok azaz nigericin illetve valinomycin segítségével történt. A RET magas $\Delta\psi_m$ igénye miatt a méréseket ADP nélkül végeztük el a szukcináttal vagy α-GP-vel lélegeztetett mitokondriumokban biztosítva ezzel az elektronok áramlását a CII és az α-GPDH felől a CI irányába. Fontos megjegyezni, hogy a szukcináttal lélegeztetett mitokondriumban NADH nemcsak RET során, hanem a szukcinát citrátköri oxidációjakor is keletkezhet. Így ennek megelőzése érdekében egy másik légzési szubsztrátot, α-GP-t is alkalmaztunk, ami nem a citrátkörben oxidálódik.

A nigericin egy K^+/H^+ antiporter, amely a két iont az ellentétes irányba szállítja a K^+ koncentráció grádiensétől függően. Így a nigericin hiperpolarizálta a mitokondriális membránt, növelte a H_2O_2 termelést és csökkentette az intramitokondriális pH-t (pH_{in}) illetve ΔpH-t mind szukcinát, mind α-GP jelenlétében. Valinomycin jelenlétében a mitokondriális belső membrán átjárhatóvá válik K^+-ra. Valinomycin hatására az pH_{in} és a ΔpH növekedett, emellett csökkent a $\Delta\psi_m$ és a H_2O_2 termelés mindkét előbb említett légzési szubsztrát esetén. Az ionofórokkal egyértelműen jól bizonyítható a $\Delta\psi_m$ meghatározó szerepe a RET által támogatott H_2O_2 termelésben.

Emellett arra voltunk kíváncsiak, hogy az extramitokondriális pH (pH_{extra}) változtatása hogyan befolyásolja a RET által támogatott H_2O_2 termelést szukcináttal vagy α-GP-tal lélegeztetett mitokondriumokban. Méréseink előtt megváltoztattuk a mérőoldatok pH-értékét, majd mértük a $\Delta\psi_m$-t, a H_2O_2 termelést és a pH_{in}-t, illetve kiszámoltuk a ΔpH-t. Azt tapasztaltuk, hogy a pH_{extra} emelésével párhuzamosan emelkedett a H_2O_2 termelés, tehát lúgosabb körülmények között növekedett H_2O_2 termelődést lehet detektálni. Azonban a H_2O_2 képződés és a ΔpH között fordított arányosság állt fenn: tehát lúgosabb pH-értéken a H_2O_2 termelés növekedett, míg a ΔpH csökkent. Ezek alapján kizárhatjuk a ΔpH meghatározó szerepét a RET által támogatott H_2O_2 termelésben.

A *pmf* komponenseinek hatása a RET-re nem csak agyból izolált mitokondriumban releváns, hanem olyan szervekben is, mint például a szív, ami patológiás körülmények között -például iszkémia-reperfúzió során- oxidatív károsodásnak van kitéve. Annak érdekében, hogy még többet tudjunk meg a ΔpH-nak és a $\Delta\psi_m$-nek a szukcináttal támogatott RET-re gyakorolt hatásáról, kísérleteinket elvégeztük tengerimalac szívből izolált mitokondriumokon is. A mérések alapján elmondhatjuk, hogy a RET által támogatott H_2O_2 termelés hasonló tendenciát mutatott mindkét szervben.

KÖVETKEZTETÉSEK

Mitokondriális légzési lánc károsodása gyakran együtt jár elégtelen ATP termeléssel és fokozott mitokondriális ROS termeléssel. Az ATP előállításának alternatív módja a mitokondriális szubsztrát-szintű foszforiláció, amelyet a citrátköri szukcinil-tiokináz katalizál (szukcinil-KoA+ ADP + Pi = szukcinát + ATP + acetil-KoA). Jelen disszertációban vizsgáltuk a mitokondriális célponttal rendelkező vegyület, a MB hatását a szubsztrát-szintű foszforilációra tengerimalac agyból izolált mitokondriumokon. Munkacsoportunk korábbi munkáiból kiderül, hogy a MB a mitokondriális légzési lánc gátlása (CI, CII és CIII) miatt felhalmozódott NADH-ról eltávolítja az elektronokat (oxidálja), és mentőútvonalat biztosítva az elektronokat a citokróm c-re szállítja.

Új eredményeink a következők:

- A MB fokozta a citrátköri SSF-t α-KG-val és glutamáttal energetizált agyi mitokondriumokban, ha az AK-t (~80%-kal) és az ATP-szintázt oligomycinnel gátoltuk.
- A MB fokozta az ATP szintézist α-KG-val és glutamáttal lélegeztetett agyi mitokondriumban, ha az AK-t (~80%-kal) és az ATP-szintázt oligomycinnel gátoltuk. Azonban szukcinát és malát esetén a MB nem befolyásolta az ATP szintézist ugyanilyen körülmények között. Érdekességképpen, a MB nem befolyásolta a $\Delta\psi_m$-t oligomycin mellett az α-KG-val, glutamáttal és szukcináttal energetizált mitokondriumokban.
- A MB fokozta minden egyes vizsgált szubsztrát esetén oligomycin jelenlétében a mitokondriális oxigénfogyasztást. Ugyanezen

körülmények között csökkentette a NAD(P)H autofluoreszcenciát α-KG esetén.

- A MB a CI és az ATP-szintáz együttes gátlása esetén fokozta az oxigénfogyasztást és visszaállította a $\Delta\psi_m$-t α-KG-val és maláttal energetizált agyi mitokondriumokban.

A mitokondriális ROS termelés egyik speciális állapota a reverz elektron transzport (RET) által támogatott ROS képződés, amikor az elektronok elegendően magas $\Delta\psi_m$ esetén a complex II (CII) és az α-glicerofoszfát dehidrogenáz felől a complex I (CI) felé vándorolnak. Jelen disszertációmban a RET befolyásolásának lehetőségét tanulmányoztuk; vizsgáltuk a proton motoros erő (*pmf)* komponenseinek, a $\Delta\psi_m$ és a ΔpH hatását a RET által támogatott ROS termelésre szukcinát és α-glicerofoszfát (α-GP) jelenlétében. Arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a *pmf* melyik komponense befolyásolja jobban a RET által támogatott H_2O_2 termelést szukcináttal vagy α-GP-vel lélegeztetett agyi mitokondriumokban.

Munkánk során bebizonyítottuk:

- A RET által támogatott H_2O_2 termelés sokkal nagyobb mértékben függ a $\Delta\psi_m$-tól, mint a ΔpH-tól mind szukcinát, mind α-GP jelenlétében.
- A pH_{extra} emelésével párhuzamosan nőtt a RET által támogatott H_2O_2 termelés ionofórok jelenlétében és anélkül szukcináttal vagy α-GP-vel energetizált mitokondriumokban.
- A RET által támogatott H_2O_2 termelés fordított arányban változott a ΔpH-val. A pH_{extra} növelésével nőtt a H_2O_2 termelés, míg csökkent a ΔpH.

- Szív mitokondriumokkal végzett vizsgálataink alátámasztották az agy mitokondriumokkal kapott eredményeinket: a szukcináttal támogatott H_2O_2 termelés nagyobb mértékében függ a $\Delta\psi_m$-től, mint a ΔpH-tól. A pH_{extra} emelésével párhuzamosan nőtt a RET által támogatott H_2O_2 termelés, míg a H_2O_2 termelés fordított arányban változott a ΔpH-val. Mindezen megfigyeléseink kizárják a RET szabályozásának szervspecifikusságát.

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

α-GP: α-glicerofoszfát

AK: adenilát-kináz

α-KG: alfa- ketoglutarát

α-KGDH: alfa- ketoglutarát dehidrogenáz

ANT: adenin nukleotid transzlokáz, ADP/ATP transzporter

AP5: P^1,P^5-Di(adenosine-5′) pentaphosphate

BCECF-AM: 2’,7’-bisz(2-karboxietil)-5,6karboxifluoreszcein acetoxi-metilészter

CI: mitokondriális komplex I,

CII: mitokondriális komplex II, szukcinát dehidrogenáz

CIII: mitokondriális komplex III

CIV: mitokondriális komplex IV, citokróm c oxidáz

ΔpH: a mitokondrium belső membránjának két oldala közötti pH grádiens

$\Delta\psi_m$: mitokondriális membránpotenciál

H_2O_2: hidrogén peroxid

KoA: koenzim-A

MB: metilénkék

MBH_2: leukometilénkék

OXPHOS: oxidatív foszforiláció

pH_{extra}: extramitokondriális pH

pH_{in}: intramitokondriális pH

pmf: protonmotoros erő

RET: reverz elektrontranszport

ROS: reaktív oxigénszármazék

SDH: szukcinát dehidrogenáz, komplex II

SSF: szubsztrát- szintű foszforiláció

TPP^+: trifenil- foszfónium ion

SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

A disszertációhoz kapcsolódó publikációk:

Komlódi T, Tretter L. Methylene blue stimulates substrate-level phosphorylation catalysed by succinyl-CoA ligase in the citric acid cycle. Neuropharmacology. 2017 Sep 1;123:287-298. doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.05.009.
Impakt faktor: 5.012 (2016/2017)

Komlódi T, Geibl FG, Sassani M, Ambrus A, Tretter L: Membrane potential and delta pH dependency of reverse electron transport-associated hydrogen peroxide production in brain and heart mitochondria
Impakt faktor: 2.914 (2017)

Egyéb publikációk:

Koncsos G, Varga ZV, Baranyai T, Boengler K, Rohrbach S, Li L, Schlüter KD, Schreckenberg R, Radovits T, Oláh A, Mátyás C, Lux Á, Al-Khrasani M, Komlódi T, Bukosza N, Máthé D, Deres L, Barteková M, Rajtík T, Adameová A, Szigeti K, Hamar P, Helyes Z, Tretter L, Pacher P, Merkely B, Giricz Z, Schulz R, Ferdinandy P. Diastolic dysfunction in prediabetic male rats: Role of mitochondrial oxidative stress. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2016 Oct 1;311(4):H927-H943. doi: 10.1152/ajpheart.00049.2016
Impakt faktor: 3.348 (2016)

Mikulás K, Hermann P, Gera I, Komlódi T, Horváth G, Ambrus A, Tretter L Triethylene glycol dimethacrylate impairs bioenergetic functions and induces oxidative stress in mitochondria via inhibiting respiratory Complex I. Dent

Mater. 2018 Apr 16. pii: S0109-5641(17)30780-7. doi: 10.1016/j.dental.2018.03.012

Impakt faktor: 4.070 (2016)

Könyvfejezet:

Komlódi T, Sobotka O, Krumschnabel G, Bezuidenhout N, Hiller E, Doerrier C, Gnaiger E Comparison of Mitochondrial Incubation Media for Measurement of Respiration and Hydrogen Peroxide Production. Methods Mol Biol. 2018; 1782:137-155. doi: 10.1007/978-1-4939-7831-1_8.