



Válaszok Dr. Enyedi Balázs kérdéseire

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Enyedi Balázsnak a bírálói feladatok elvállalásáért és inspiráló kérdéseieért. Különösen értékes számomra az eredményeim szélesebb távlatba helyezése, valamint az a szakmai ösztönzés, amelyet a jövőbeli kutatásaimat megalapozó kérdéseivel nyújtott.

1. Az MP neuronális szerepével kapcsolatban: A SNAP-25 Thr138 defoszforilációjára és a SNARE-komplex stabilitására vonatkozó adatok főként a glutamáterg rendszer kapcsán mutatják ki az eredményeket. Van-e okunk feltételezni, hogy a MP/ROK–SNAP-25 szabályozás eltérő módon érvényesülne GABAerg vagy modulátoros (dopaminerg, kolinerg) szinapszisokban? Továbbá, ismert-e olyan központi idegrendszeri betegség, melyben MP-specifikus Ser/Thr targetált oldalláncok (pl. SNAP-25 Thr138) mutációja okozza a betegséget?

SNAP-25 és a SNARE-komplex alapvető elemei minden exocitózisnak, így a GABAerg és a modulátoros (dopaminerg, kolinerg) vezikulák felszabadulásának is [1]. Azonban a RhoA/ROCK útvonal aktivitása erősen függ a preszinaptikus terminálison található G-protein kapcsolt receptoroktól (GPCR) [2]. A gátló szinapszisokban a Ca^{2+} -dinamika és a vezikula-utánpótlás sebessége gyakran eltér a serkentőktől [3]. Mivel a Thr138 foszforilációja befolyásolja a SNARE-komplex stabilitását és ezáltal a „priming” folyamatát, a MP aktivitásának változása kritikusabb lehet a gyorsan tüzelő (fast-spiking) GABAerg interneuronokban, ahol a vezikula-pool fenntartása alapvető fontosságú [4] [5]. A dopaminerg vagy kolinerg rendszerekben a felszabadulás gyakran nem-szinaptikus („volume transmission”) úton is történik [6]. Itt a ROCK/MP egyensúlyt olyan modulátorok is eltolhatják, amelyek maguk is GPCR-en keresztül hatnak (pl. D2 receptorok), így egyfajta autokrin/parakrin szabályozási kör alakulhat ki a felszabadulás szintjén.

A SNARE-opátiák olyan neurológiai rendellenességek, amelyeket a SNARE fehérjéket vagy szabályozóikat kódoló gének mutációi okoznak, megzavarva a neuronális membránfúziót, a vezikulák transzportját és a neurotranszmitterek felszabadulását. Ezek a hibák jellemzően különböző tüneteket eredményeznek, elsősorban a neuronfejlődési késést (beszéd, motoros, intellektuális) befolyásolják. Egyéb gyakori tünetek közé tartoznak a rohamok, az epilepszia és a motoros problémák, mint a görcsök és az ataxia [7]. Ismertek olyan, *de novo* mutációk a SNAP-25 fehérjében (pl. V48F, D166Y), amelyek súlyos intellektuális képességzavart, epilepsziát és mozgáskoordinációs zavarokat okoznak. Bár jelenleg a klinikai adatbázisok nem emelték ki egyedüli okként a Thr138 mutációt egy nevesített betegségben sem, de a Thr138 foszforilációs



állapotának megváltozása (pl. a MP alulműködése vagy a ROCK túlműködése miatt) kulcsszerepet játszhat az ADHD, a skizofrénia és bizonyos neurodegeneratív kórképek patofiziológiájában, ahol a szinaptikus vezikula-dinamika sérül. Összességében tehát feltételezhető, hogy a MP/ROCK–SNAP-25 tengely a receptorkészlet függvényében egyedi dinamikát mutat, a Thr138 pedig egyfajta „molekuláris fék/gáz” szabályozóként a jövőbeni célzott terápiák (pl. MP aktivátorok) potenciális célpontja lehet a szinaptikus diszfunkcióval járó betegségekben.

2. *PRMT5 szabályozás és nukleáris lokalizáció: A PRMT5 foszforilációjának és a hiszton-arginin-metiláció változásának bemutatása után adódik a kérdés, hogy milyen lokalizációs szabályozása van a miozin-foszfataznak: milyen mechanizmus szabályozza a nukleáris transzlokációját? Ez a szabályozás a holoenzim szintjén is megtörténhet, vagy az egyedi alegységek szintjén zajlik külön-külön? Esetleg egy lokalizációt befolyásoló beavatkozás hatékony lehet terápiás megközelítésként?*

Mihály József egyik kérdésére hasonlóan reflektálnék a kérdés első felében. A miozin foszfataz (MP) holoenzim PP1c katalitikus és MYPT1 szabályozó alegysége közül a szakirodalom alapján a lokalizációt elsősorban a MYPT1 határozza meg, mivel a katalitikus alegység önmagában nem rendelkezik specifikus organelum-célzó szekvenciákkal. Bár az alegységek külön is létezhetnek, a nukleáris transzport során a MYPT1 általában a hozzá kötött PP1c-t is transzportálja, így a sejtmagban, mint funkcionális holoenzim jelenik meg [8]. A MYPT1 szekvenciájában két nukleáris lokalizációs szekvencia (NLS) található a 27–33. és a 845–854. aminosavak között, ám az előbbi tűnik fontosabbnak a magi lokalizáció tekintetében. Érdekes, hogy mindkét NLS-t a C-terminális szélén egy foszforilációs hely, a T34 és a T855 határolja [9]. A MYPT1 nukleáris exportját nukleáris export szignálok (NES) vezérlik, a MYPT1 C-terminálisához közeli két leucin aminosav és környezete (a humán szekvenciában a 962. és 964.) feltételezhetően NES-t alkot [10]. Emellett Ryan és munkatársai leírták, hogy a MYPT1 exportja kromoszóma régió fenntartási 1 (CRM1, exportin-1)-függő folyamat. A Leptomycin B-vel (egy CRM1-gátlóval) végzett kísérletek során a MYPT1 felhalmozódik a sejtmagban, ami igazolja a folyamatos “shuttling”, ingázás folyamatát a két kompartment között [11].

A MP szubcelluláris lokalizációjának szabályozása két fő mechanizmuson keresztül valósul meg: a MYPT1 foszforilációjával, amely megváltoztathatja a transzportfehérjékkel való interakciót, illetve a NLS közeli foszforilációs helyekkel az importinnal való kapcsolatot, gyakran a citoplazmában tartva az enzimet, illetve a 14-3-3- fehérjék általi kölcsönhatásával, amely a



foszforilációs helyekhez kötődve megakadályozza az importinokkal kialakított kapcsolatot és a magi transzlokációt [12].

A MP sejtmagi szabályozásának kérdését azette szükségessé, hogy eddigi ismereteink szerint a MYPT1-et foszforiláló kinázok, így a ROK és ILK, nem mutatnak sejtmagi lokalizációt, illetve a MYPT1-et defoszforiláló protein foszfataz (PP2A) nem mutatott fehérje-fehérje kölcsönhatást a szabályozó alegységgel. Munkacsoportunk kísérletei során nem stimulált „nyugalmi” sejtekben a MYPT1 a citoplazmatikus és sejtmagi lokalizációt is mutatott. Az okadánsav PP2A inhibitorral történő kezelés növelte a MYPT1 foszforilációs szintjét. A Thr696 és Thr853 gátló foszforilációs helyeken módosított MYPT1 eltérő domináns szubcelluláris lokalizációt mutatott hepG2 sejtekben. A T696 foszforilációja a plazmamembrán és citoszkeletális régió, míg a T853 foszforilációja a perinukleáris és a nukleáris elhelyezkedést mutatott [13]. Ezt a jelenséget Ryan és munkatársai is leírták, miszerint a Wnt3-jelátvitel aktiválja a ROK-ot, amely foszforilálja a MYPT1-et a Thr853 oldalláncon, ami az MP transzlokációját okozza a sejtmagba, ahol komplexet képezhet az Nkx2.5 kardiomiogenezist szabályozó transzkripciós faktorról. A MYPT1 az Nkx2.5 exportálását indukálja a sejtmagból a citoplazmába egy Crm1-függő útvonalon keresztül. Az Nkx2.5 transzlokációja látszólag a transzkripciós aktivitásának gátlását eredményezi [11].

Jelenleg is bírálat alatt álló kéziratunkban tudódaganatban is igazoltuk a kompartment-specifikus MYPT1 foszforilációs folyamatait. Az általunk leírt PPM1B foszfataz overexpressziójának hatására a sejtmagi MYPT1 Thr853 foszforilációja csökken, ami által fokozódik a MP aktivitása, amely a protoonkogének gátlásához és a MYPT1 transzlokációjához vezet. A citoszkeletális régióban aktiválódott a MP az aktomiozin komplex változásához vezet, így a migráció, invázió és kolonizáció folyamatának gátlásához. Eddigi vizsgálataink alapján még korai az NLS/NES mimetikumok vagy olyan kismolekulák fejlesztését tervezni, amelyek gátolják a MYPT1 nukleáris transzportját. Árnyalja a helyzetet a holoenzim teljes sejten belül betöltött általános szerepe, ami miatt a gátlás vagy aktiválás nehézkes. Azonban ígéretesnek tűnik a már fázis II-ben lévő PRMT5 inhibitorok alkalmazása, a PPM1B enzim expressziójának növelése vagy a MP aktiválása vagy expressziós szintjét csökkentő miRNS-ek anti-miRNA oligonukleotidjainak vagy miRNS gátlóinak tervezése.



3. Sebgyógyulás: Az adatok meggyőzően mutatják, hogy a MP aktivitásának gátlása rontja, míg fokozása gyorsítja a re-epitelizációt. Milyen kockázatokkal járna, ha ezt krónikusan, tartósan fokoznánk? Terápiás szempontból hogyan lehetne ezt a hatást bőrspecifikusan elérni?

Vizsgálatainkból kiderült, hogy a MP a bőr proliferációjáért és migrációjáért felelős keratinocitákat tartalmazó stratum basale rétegében expresszálódik, és a sejtek differenciációjában szerepet játszó transzglutamináz expresszióját gátolja. Szintén szabályozza a fiziológiás sejt-sejt kapcsolatokat (Horvath és mtsai, 2018, BBA). Vizsgálatainkhoz azonban mindössze 6-8 napos kezeléseket alkalmaztunk egereken és *ex vivo* human bőrbíopsziákon. Emellett ettől rövidebb idejű kezeléseket keratinocita sejtvonalon, amelyek során sem a sejtek életképességében sem kaszpáz-3 aktivitásában sem tapasztaltunk eltéréseket. Valóban felmerül a kérdés tehát, hogy krónikus terápia alkalmazása során milyen kockázatok merülnének fel?

A disszertációban szereplő közleményben nem végeztünk vizsgálatokat a MP szubsztrátjának, a miozin könnyű lánc (MLC) foszforilációs állapotának vizsgálatára. Más kutatási eredményeink azonban azt sugallják, hogy az epithelsejtek közötti kapcsolatok, tight junction-ok fenntartásához szükség van egy optimális bazális aktomiozin tónusra. A tartósan fokozott MP aktivitás túl alacsony tónust eredményezhet, ami a barrier funkció meggyengüléséhez (transzepidermalis vízvesztés, fertőzésveszély) vezethet [14]. A másik feltételezett veszélye a krónikus MP aktivitásnak a sebgyógyulás későbbi fázisában lehet, mivel a miofibroblasztoknak össze kell húzniuk a sebszéleket. Mivel ehhez MLC-foszforiláció kell, a tartósan magas MP aktivitás gátolja a kontrakciót, ami krónikus, nem gyógyuló sebeket vagy instabil hegyszövetet eredményezhet. Emiatt valóban a terápiás siker kulcsa a térbeli (bőrréteg-specifikus) és időbeli (csak a gyulladásos/proliferációs fázisra korlátozott) kontroll lenne, hiszen, ha a MP aktivitást fokozó hatóanyag szisztémás keringésbe jutna, az MLCP a simaizom relaxációjával drasztikus vérnyomásesést és érpermeabilitás-növekedést, így ödémát okozna.

- A ROCK gátlók, mint például az Y-27632, felgyorsítják a re-epitelizációt azáltal, hogy csökkentik a keratinociták belső mechanikai feszültségét, így segítve azok vándorlását a sebfelszínen. Ezek a molekulák közvetve fokozzák a MP aktivitását, ami alapvető a dinamikus sejtmozgáshoz és a krónikus sebek gyógyulási esélyeinek javításához. Napjainkban már terápiás alkalmazásban van a zöldhályog kezelésében a Ripasudil ROCK gátló, amely a szaruhártya endothel sejtjeinek vándorlását és regenerációját modulálja, ami közvetlen analógiája a bőr re-epitelizációjának [15].



- A MP aktivitásának növelésére más lehetőségek is rendelkezésre állnak. Topikális formulációk és nanohordozók a legkézenfekvőbb terápiás megoldások krém, gél vagy intelligens kötszer formájában. Felmerülhet még a liposzómás transzport alkalmazása, amelyek a keratinociták specifikus receptorait célozzák meg, így az MP-aktivátor csak a hámsejtekbe jut be, a mélyebb irha-rétegeket vagy a véráramot elkerüli.
- A Soft-Drug Technológia alkalmazása is felmerülhet, ahol olyan molekulákat terveznek, amelyek a bőrben kifejtik hatásukat, de a véráramba kerülve azonnal inaktiválódnak (pl. plazma észterázok által), így elkerülhető a simaizom-ellazulás okozta szisztémás vérnyomásesés. Ez a "Soft-Drug" technológia már fejlesztés alatt áll, (pl. az AMA0076). Ezek a hatóanyagok leginkább posztoperatív hegképződés (fibrosis) megelőzését célozzák a sebgyógyulás korai szakaszában[16].
- Szintén elképzelhetőek még géntterápiák (siRNA/mRNA), amelyekkel a MP-t gátló fehérjék (mint a CPI-17) gátlására specifikus siRNA-val, amelyet mikrotűs tapasztokkal juttatnak pontosan a hámrétegbe.
- Esetleg a napjainkban divatos optogenetikai vagy fotofarmakológiai alkalmazások is lehetőségként merülhetnek fel, amely során a "caged" molekulák, aktiválószer csak meghatározott hullámhosszú fény hatására válnak aktívvá a seb területén. Ezzel térben és időben is túlpontosan szabályozható, mikor és hol legyen aktív a foszfataáz.

4. SMTNL1 terhességi hatások, új izomadaptációs útvonalak: *A terhességhez kapcsolódó izomadaptációban az eredmények alapján az SMTNL1 kulcsszerepet játszik. Elkülönítették-e, hogy a terhesség alatt megfigyelt izom-fenotípus mennyiben tisztán SMTNL1-függő, és mennyiben függ hormonális változásoktól (pl. fokozott progeszteron hatástól)?*

A kutatási eredmények alapján a terhesség során megfigyelt izom-fenotípus elsődlegesen hormon-indukált, de SMTNL1-függő folyamat. Az adatok egyértelműen igazolták, hogy az adaptációt nem a mechanikai igénybevétel vagy a súlytöbblet, hanem a hormonális változások indítják el. Ezt bizonyították az álvemhes egérmodellek, ahol a magzat jelenléte nélkül is végbement az izotípus-váltás a megemelkedett progeszteron- és ösztrogénszint hatására. Az SMTNL1 ebben a folyamatban transzkripciós koregulátorként működik, amely közvetlen interakcióba lép a progeszteron-receptorral (PR-B). Nem-vevhes állapotban az SMTNL1 alapértelmezett funkciója a PR-aktivitás gátlása, megakadályozva a felesleges adaptív válaszokat. A terhesség (vagy adrenerg



jelek) hatására bekövetkező foszforiláció azonban feloldja ezt a gátlást, lehetővé téve a sejtmagba való transzlokációt. Az SMTNL1 szerepe tehát kritikus: ez a fehérje biztosítja, hogy az izomrostok oxidatívból glikolitikusba történő átváltása a fiziológiás határokon belül maradjon. SMTNL1 hiányában (knockout modellekben) a progeszteron-receptor szabályozása zavart szenved, ami kontrollálatlan, patológiás mértékű izotípus-váltást eredményez. A vad típusú (WT) állatokkal szemben az SMTNL1-hiányos egereknél ez a folyamat súlyos inzulinrezisztenciához és glükózintoleranciához vezet. Az SMTNL1 tehát egyfajta "fékként" vagy szabályozóként szolgál, amely optimalizálja az anyai anyagcsere áthangolását a magzat táplálása érdekében. Végezetül, az SMTNL1 közvetve az ösztrogén-receptor (ER) expresszióját is befolyásolja egy homeosztatikus visszacsatolási mechanizmuson keresztül, tovább finomítva a hormonális érzékenységet.

5. Inzulinrezisztencia és izomrost-összetétel okozati viszonya: Az SMTNL1-KO egerekben leírt inzulinrezisztencia és az izomrost-típus átrendeződése szorosan együtt jár. Végeztek-e részletes funkcionális méréseket (pl. in vivo terheléses tesztek), amelyek megmutatják, hogy az SMTNL1-függő átrendeződés milyen tényleges teljesítménybeli előnyökkel vagy hátrányokkal jár? Van-e adat arra, hogy az SMTNL1 hatása mennyire specifikus a vázizomra, és mennyire terjed ki más inzulin-érzékeny szövetekre (zsír, máj)? Izomspecifikus SMTNL1-manipulációval (pl. izom-specifikus KO) mennyire lenne szétválasztható a primer izomadaptációs folyamat és a szisztémás metabolikus válasz?

Az SMTNL1 WT és KO állatokat vizsgáltuk futópados edzés során [17]. A hím SMTNL1 KO egerek izomzata edzés nélkül is olyan molekuláris és strukturális jellemzőket mutat, amelyek a vad típusú állatoknál csak hosszútávú állóképességi tréning hatására alakulnak ki. Edzés nélkül is jobban teljesítettek WT alomtársaikhoz képest, és a különbség kulcsa nem az izomtömeg növekedésében (hipertrofia), hanem az izomminőség megváltozásában rejlett. A IIb (gyors-glikolitikus) rostok helyett a gyors összehúzódást, a nagy állóképességet képviselő IIa (gyors-oxidatív) rostok kerülnek előtérbe. A WT alomtársaikkal szemben a KO állatok edzése már nem tudta tovább emelni a 2a típusú izomrostok számát. A jelenség hátterében az adrenerg jeláviteli pálya edzés hatására történő aktiválása állhat, így a PKA foszforilálja az SMTNL1 S301 foszforilációs helyen, amely a citoskeletális disszociációját okozza a MP MYPT1 alegységéről, az enzim felszabadul a gátlás alól. Ez a Na^+/K^+ -ATP-áz aktivitását is modulálja. Emiatt az SMTNL1 hiányában az izom alapértelmezetten a 2a típusú profil felé tolódik el.



Érdekes jelenség, hogy nem edzett nőstény állatok esetén a WT és KO állatokat összehasonlítva nem tapasztaltunk szignifikáns változás. A teljesítmény fokozódása mellett itt belép a hormonális szabályozás is. Mivel az SMTNL1 a progeszteron-receptor (PR) gátlója, hiánya esetén a szteroidhormonok hatása felerősödik az izomszövetben, ez a nőstényeknél egy komplexebb adaptációs választ vált ki. A terhesség során hormonális hatásként a progeszteronszint jelentősen megemelkedik, inzulinrezisztenciát vált ki az anya izmaiban, így több glükóz marad a vérben a magzat számára: a biológiai prioritás az anyai állóképességről a magzat táplálására vált. Magas progeszteronszint mellett az SMTNL1 komplexet alkot a PR-ral és bejut a sejtmagba. Ebben a speciális hormonális környezetben az SMTNL1/PR komplex transzkripció faktorként működik, amely a 2b típusú (gyors-glikolitikus) rostok kialakulását serkenti. A 2b típusú rostok kevésbé inzulinérzékenyek és inkább glikolitikusak. A 2b rostok számának növelésével az anya izmai kevesebb cukrot fogyasztanak, így „többlet” marad a növekvő baba számára. A terhes KO modellben a rendszer összeomlik: az SMTNL1 nélkül, amely modulálná a PR receptort, a 2b-re való váltás szélsőséges és patológiássá válik. Ez vezet a terhességi cukorbetegséghez hasonló tünetekhez, mivel a „metabolikus fék” teljesen hiányzik. A KO egerekben megfigyelt extrém eltolódás szignifikánsan alacsonyabb Glut4 fehérjeszintet, glükóztoleranciát és inzulinrezisztenciát eredményez, amely jelentős anyagcsere zavarral jár. Bár a KO állatokban jelentősen megemelkedett az izom glikogéntartalma, ez nem fordult át tartós teljesítményelőnybe a metabolikus zavarok miatt [18].

Az SMTNL1 expressziója és hatása kifejezetten szövetspecifikus, elsősorban a vázizomban és a simaizomban, illetve a szteroidhormon érzékeny szövetekben, így a petefészekben vagy mellékvesében, fejeződik ki [19]. A májban és a zsírszövetben az expressziója mind RNS, mind fehérje szinten elhanyagolható vagy nincs jelen. Mivel a vázizom a szervezet legnagyobb glükózfelhasználója, annak anyagcsere defektusa (pl. IRS1 és Glut4 diszreguláció) felborítja az egész szervezet glükóz-homeosztázisát [20].

Egy izomspecifikus SMTNL1-knockout modell alkalmazása (pl. Cre-Lox rendszerrel vázizom-promóter alatt) valóban elkülönítené a primer és szekunder hatásokat. Ha csak az izomban hiányozna az SMTNL1, megfigyelhető lenne, hogy a PR-B/ER szabályozási zavar önmagában is kiváltja-e a rosttípus-váltást, így primer adaptációról van-e szó. Amennyiben az izomspecifikus KO állat is mutatna glükóztoleranciát, az egyértelműen bizonyítaná a szisztémás metabolikus válasz meglétét, és azt, hogy a vázizom az elsődleges motorja a terhességi (vagy patológiás) inzulinrezisztenciának, és annak esetleges máj/zsírszövet érintettsége csak következmény. Jelenlegi



adataink alapján az SMTNL1 mint transzkripciós koregulátor közvetlenül az izomrostok génexpressziós mintázatát határozza meg, így a metabolikus fenotípus nagy valószínűséggel az izomból indul ki. Ezek alapján a terhesség során az SMTNL1 gátolja a patológiás elváltozásokat: lehetővé teszi a szükséges glikolitikus átállást a magzat glükózellátásának érdekében, de megakadályozza, hogy ez patológiás inzulinrezisztenciává fajuljon. A KO modellben ez a “fék” hiányzik, így a hormonális hatás (progeszteron) kontrollálatlanul tolja el az izomzatot egy kedvezőtlen metabolikus irányba.

6. SMTNL1 mint terápiás célpont: Az SMTNL1/MP tengely célzott modulálását potenciális terápiás stratégiának tekinthetjük inzulinrezisztencia vagy hyperthyreosisos izomgyengeség esetén. Milyen fő kockázatokat látna egy ilyen kezeléssel kapcsolatban (pl. kontraktilis funkció megváltozása, aritmia, vázizom-fáradékonyság)? Az SMTNL1 széles szöveti expressziója (izom, endometrium, endokrin szervek) miatt adódik a további kérdés, hogy egy esetleges SMTNL1-célzott terápiás megközelítés (pl. kis molekulás modulátor, peptid) hogyan tudná biztosítani a kívánt szerv- és szövetspecifitást, elkerülve a nemkívánatos mellékhatásokat más szervekben.

Az egyik legjelentősebb kockázat az SMTNL1 modulálása esetén, hogy közvetlen hatással van a MP enzim aktivitására. Ezáltal a túlzott SMTNL1-hatás izomgörcsökhöz vagy merevséghez, kontraktilis diszfunkcióhoz és spazmusokhoz vezethet. Vázizomban ez az összehúzódnási sebesség és az erő generálásának egyensúlyát boríthatja fel. Mivel az SMTNL1 jelentős mennyiségben van jelen az erek simaizomzatában, ezért egy rosszul megválasztott SMTNL1 terápia vascularis mellékhatásokat és drasztikus vérnyomásváltozást is okozhat. A másik jelentős veszély a hormonfüggő progeszteron receptorok túlzott gátlása, amely nemcsak az anyagcsere folyamatokat, de fertilitási problémákat, és a reprodukív endokrin funkciók finomhangolásának felbomlását is eredményezhetik.

Emiatt munkacsoportunk a Richter Reprodukciós Hálózaton belül egy olyan Smoothelin-mimikáló peptidet tervez, amely a lehető legrövidebb, még transzkripciós hatásra aktívan ható szakasz. Ez az SMTNL1 peptid a progeszteron receptor B-re szelektív, nem kötődik a PR-A izoformához, ezáltal nem befolyásolja a reprodukciós gének átíródását. Szintén kritérium az olyan peptid tervezése, amely nem kötődik a MP MYPT1 alegységéhez. Előzetes kísérleteink alapján a az SMTNL1 peptid ígéretes terápiás jelölt lehet az inzulinrezisztenciával összefüggő reprodukív rendellenességek kezelésére. A PR-B aktivitás szelektív modulálásával a peptid fokozza az inzulinérzékenységet, elősegíti az endometrium homeosztázisát, és támogatja a sikeres beágyazódást



a petefészek működésére gyakorolt káros hatások nélkül. Ez az innovatív megközelítés javíthatja a termékenységi eredményeket terhességi cukorbetegségben és más, a reprodukciót befolyásoló anyagcsere-rendellenességekben szenvedő nőknél. Ez a stratégia ígéretes a szövetspecifikus inzulinérzékenység fokozására és a reprodukzív eredmények javítására, különösen anyagcsere-stressz esetén, ahol a jelenlegi terápiás lehetőségek korlátozottak.

Az SMTNL1 hatása viszonylag szövetspecifikus, hiszen elsősorban a PR-B expressziós mintázatát követi. A modern gyógyszerfejlesztés azonban több eszközt is kínál a célzott hatáshoz: Esetleges ígéretes módszer lehet még az adeno-asszociált vírus (AAV) vektor használata, amelynél az SMTNL1-szintet növelő shRNA kifejeződését izomspecifikus promóterek (például a *Muscle Creatine Kinase - MCK* promóter) vezérlik. A kifejezetten izomspecifikus adagolását, így például a hipertireózis során kialakult szarkopénia esetén intramuszkuláris injekcióval vagy olyan célzott nanorészecskékkel lehetséges, amelyek felületén vázizom-specifikus ligandumok (pl. transferrin-receptor ellenanyagok) találhatók, így a keringésből preferenciálisan az izomszövetben dúsulnak fel.

Hivatkozások

- [1] T.C. Sudhof, The molecular machinery of neurotransmitter release (Nobel lecture), Angew Chem Int Ed Engl, 53 (2014) 12696–12717.
- [2] A. Hall, G. Lalli, Rho and Ras GTPases in axon growth, guidance, and branching, Cold Spring Harb Perspect Biol, 2 (2010) a001818.
- [3] R. McMullan, E. Hiley, P. Morrison, S.J. Nurrish, Rho is a presynaptic activator of neurotransmitter release at pre-existing synapses in *C. elegans*, Genes Dev, 20 (2006) 65–76.
- [4] S. Hijazi, A.B. Smit, R.E. van Kesteren, Fast-spiking parvalbumin-positive interneurons in brain physiology and Alzheimer's disease, Mol Psychiatry, 28 (2023) 4954–4967.
- [5] F. Sotty, M. Danik, F. Manseau, F. Laplante, R. Quirion, S. Williams, Distinct electrophysiological properties of glutamatergic, cholinergic and GABAergic rat septohippocampal neurons: novel implications for hippocampal rhythmicity, J Physiol, 551 (2003) 927–943.
- [6] R. van Zessen, J.L. Phillips, E.A. Budygin, G.D. Stuber, Activation of VTA GABA neurons disrupts reward consumption, Neuron, 73 (2012) 1184–1194.
- [7] E. Bracci, D. Centonze, G. Bernardi, P. Calabresi, Dopamine excites fast-spiking interneurons in the striatum, J Neurophysiol, 87 (2002) 2190–2194.
- [8] M.E. Grassie, L.D. Moffat, M.P. Walsh, J.A. MacDonald, The myosin phosphatase targeting protein (MYPT) family: a regulated mechanism for achieving substrate specificity of the catalytic subunit of protein phosphatase type 1delta, Arch Biochem Biophys, 510 (2011) 147–159.
- [9] Y. Wu, A. Muranyi, F. Erdodi, D.J. Hartshorne, Localization of myosin phosphatase target subunit and its mutants, J Muscle Res Cell Motil, 26 (2005) 123–134.
- [10] T. la Cour, L. Kiemer, A. Molgaard, R. Gupta, K. Skriver, S. Brunak, Analysis and prediction of leucine-rich nuclear export signals, Protein Eng Des Sel, 17 (2004) 527–536.



- [11] T. Ryan, M. Shelton, J.P. Lambert, B. Malecova, S. Boisvenue, M. Ruel, D. Figeys, P.L. Puri, I.S. Skerjanc, Myosin phosphatase modulates the cardiac cell fate by regulating the subcellular localization of Nkx2.5 in a Wnt/Rho-associated protein kinase-dependent pathway, *Circ Res*, 112 (2013) 257–266.
- [12] Y. Koga, M. Ikebe, A novel regulatory mechanism of myosin light chain phosphorylation via binding of 14-3-3 to myosin phosphatase, *Mol Biol Cell*, 19 (2008) 1062–1071.
- [13] B. Lontay, A. Kiss, P. Gergely, D.J. Hartshorne, F. Erdodi, Okadaic acid induces phosphorylation and translocation of myosin phosphatase target subunit 1 influencing myosin phosphorylation, stress fiber assembly and cell migration in HepG2 cells, *Cell Signal*, 17 (2005) 1265–1275.
- [14] A. Kiss, F. Erdodi, B. Lontay, Myosin phosphatase: Unexpected functions of a long-known enzyme, *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 1866 (2019) 2–15.
- [15] T. Inoue, H. Tanihara, Ripasudil hydrochloride hydrate: targeting Rho kinase in the treatment of glaucoma, *Expert Opin Pharmacother*, 18 (2017) 1669–1673.
- [16] S. Van de Velde, T. Van Bergen, D. Sijnave, K. Hollanders, K. Castermans, O. Defert, D. Leysen, E. Vandewalle, L. Moons, I. Stalmans, AMA0076, a novel, locally acting Rho kinase inhibitor, potently lowers intraocular pressure in New Zealand white rabbits with minimal hyperemia, *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 55 (2014) 1006–1016.
- [17] A.A. Wooldridge, C.N. Fortner, B. Lontay, T. Akimoto, R.L. Neppl, C. Facemire, M.B. Datto, A. Kwon, E. McCook, P. Li, S. Wang, R.J. Thresher, S.E. Miller, J.C. Perriard, T.P. Gavin, R.C. Hickner, T.M. Coffman, A.V. Somlyo, Z. Yan, T.A. Haystead, Deletion of the protein kinase A/protein kinase G target SMTNL1 promotes an exercise-adapted phenotype in vascular smooth muscle, *J Biol Chem*, 283 (2008) 11850–11859.
- [18] B. Lontay, K. Bodoor, A. Sipos, D.H. Weitzel, D. Loiselle, R. Safi, D. Zheng, J. Devente, R.C. Hickner, D.P. McDonnell, T. Ribar, T.A. Haystead, Pregnancy and Smoothelin-like Protein 1 (SMTNL1) Deletion Promote the Switching of Skeletal Muscle to a Glycolytic Phenotype in Human and Mice, *J Biol Chem*, 290 (2015) 17985–17998.
- [19] B. Lontay, K. Bodoor, D.H. Weitzel, D. Loiselle, C. Fortner, S. Lengyel, D. Zheng, J. Devente, R. Hickner, T.A. Haystead, Smoothelin-like 1 protein regulates myosin phosphatase-targeting subunit 1 expression during sexual development and pregnancy, *J Biol Chem*, 285 (2010) 29357–29366.
- [20] K. Bodoor, B. Lontay, R. Safi, D.H. Weitzel, D. Loiselle, Z. Wei, S. Lengyel, D.P. McDonnell, T.A. Haystead, Smoothelin-like 1 protein is a bifunctional regulator of the progesterone receptor during pregnancy, *J Biol Chem*, 286 (2011) 31839–31851.