

## Zárójelentés

(A kutatómunkában résztvevők személyében történt változások, a költségtervtől a szerződésben való eltérések, a kutatás előrehaladása – az OTKA zárójelentés elvi útmutatója alapján)

A benyújtott pályázatban résztvevőként feltüntetett Dr. Nagy Ákos munkatársam az NIH-be került ösztöndíjasként, így nem vett részt a kutatásokban (hazaérkezése után más, ott megkezdett munkában vett részt).

Csatlakozott résztvevőként 2004-2005. között a fogorvosként Karunkon végzett Ph.D. hallgatóm Dr. Batbayar Bayarchimeg, aki disszertációjának megvédése után hazatért Mongóliába. Ugyancsak csatlakozott a kutatáshoz 2006-ban Szőke Emese biomérnök Ph.D hallgatóm, aki jelenleg is laboratóriumomban dolgozik.

Ugyancsak csatlakozott a kutatásokhoz prof. Dr. Fehér Erzsébet (SE Anatómiai Intézet) Dr. Batbayar felügyelőjeként és konzultánsként.

Jelentősen csökkentette részvételét a kutatásokban prof. Dr. Fejérdy Pál rektorhelyettesé választásából adódó fokozott elfoglaltsága miatt.

A pályázat költségterve és a megkötött szerződés jelentősen eltértek egymástól. A kutatások főirányát megtartva, az alábbi változások történtek, amelyeket természetesen elfogadtam a kutatások továbbvitele érdekében. Ezeket az OTKA Irodához küldött levelemben (2004. április 30.) az alábbiakban soroltam fel:

1. A személyi juttatások kategóriájában 10%-os csökkentés
- 3.1. Egyharmados csökkentés a nemzetközi konferenciákon való részvétel finanszírozásában
- 3.2. A készletbeszerzések kategóriájában 50%-os csökkentés
- 3.3. Az „Egyéb költségek” törlésre kerültek
4. A pályázatban szereplő 1.500 eFt beruházási keret törlésre került.

A 2004. évi szakmai részjelentésemben is jeleztem, hogy az az adminisztratív hiba, amely miatt az eredetileg 2003-2006. évekre beadott pályázatunk a 2004-2007. évekre nyert elfogadást bizonyos finanszírozási és tervezési problémákat okozott. Ezeket a problémákat áthidaltuk és a Tanszékünkön, illetve laboratóriumunkban koncentrálódó nyálmirigykutatás teljesítményét elfogadhatónak tartom. Összességében a most lezárt pályázati támogatás az alacsony szintű finanszírozás ellenére biztosította a ma már három évtizedes multtal rendelkező nyálmirigykutatási profil továbbélését.

Komoly hibát követtünk el azzal, hogy publikációink jelentős részében nem jeleztük az OTKA-támogatás tényét. Dóczi Tamás professzornak, az illetékes szakmai zsűri elnökének az elmúlt évben, levélben, ígéretet tettem, hogy a továbbiakban mind magam, mind munkatársaim szigorúan be fogják tartani a támogató jogos kérését ennek feltüntetésére.

Szakmai rész:

A nyálmirigyek hipofunkciója a világ számos országában végzett statisztikai felmérések tanúsága szerint a populáció egyre nagyobb részét érinti. A szekréció mennyiségi és minőségi változásainak döntő többségéért az életkorral, a táplálkozással, a szisztémás betegségekkel és a farmakoterápia terjedésével összefüggő okok felelősek. A különböző szisztémás megbetegedések, a következményes fokozott gyógyszerfogyasztás, az öregedés kísérőjelenségeként xerostomiát hozhat létre. Külön kezelendő, de jelentőségében kiemelkedő a Sjögren-szindróma egyik részjelensége a csökkent nyáltermelés. A csökkent nyáltermelés, amely azonnali hatásaiban a táplálékfelvétel és a beszéd megnehezédését, valamint ízérzés-zavarokat okoz, a továbbiakban nyálkahártya erosiók, necrosisok kialakulásától a gastro-oesophagealis reflux betegség okozta problémák súlyosbodásáig, a caries képződés fokozódásáig és az érintett területeken a sebgyógyulás elhúzódásáig, akadályozottságáig terjedő súlyos problémákat eredményez. A felsorolt elváltozások az idősebb korosztályokban, elsősorban nőkben, a menopausát követően igen nagy számban fordulnak elő. A definitív kórképek megjelenésének és az életminőség csökkenésének ténye nem vitatható.

Az NIH és a PHS (Public Health Service) az USA-ban a kiemelt kutatandó témák közé sorolta a nyálmirigy-hipofunkció/xerostomia/Sjögren szindróma kérdéskört. Az orvosbiológia történetének egyik legnagyobb programja a "Healthy People 2000" a kiemelt témák közé sorolta az USA-ban az életminőséget alapvetően lerontó hyposalivatio/xerostomia kérdését (NIH Guides). A definitíve is megnevezett, támogatott, kutatási témák: "Research on salivary glands and secretions" és "Sjögren's syndrome and salivary dysfunctions"

Mindezek előrebocsátása adott és ad értelmet hazánkban is a nyálmirigykutatásnak. Jelen zárójelentésben röviden összefoglaljuk azokat a legfontosabbnak tartott eredményeinket, amelyeket a pályázatban résztvevő kutatók publikáltak:

- A szenzoros neuropátia a Sjögren szindróma (SS) egyik jellemzője. A kórkép mechanizmusa és egyes morfológiai jellemzői csak részlegesen ismertek. Humán labiális kis nyálmirigyekben megvizsgáltuk a különböző neuropeptid tartalmú idegvégződéseket és az immunokompetens sejteket. A substance P (SP), neuropeptid Y (NPY) és a galanin immunreaktív (IR) idegvégzódések száma csökkent, a vasoactive intestinal polypeptide (VIP) és a tirozin-béta-hidroxiláz (TH) IR rostok és végzódések száma növekedett a kontrolhoz viszonyítva. Normál anyagban nem lehetett immunokompetens sejteket találni, ugyanakkor a SS esetében nagyszámban mutattak SP és NPY reaktivitást, elsősorban hízósejtek és plazmasajtek, valamint néhány limfocita.
- A diabetes az egyik gyakori oka a nyálmirigyek hipofunkciónak és a fehérje tartalom megváltozásának a nyálban. A gasztrointesztinális rendszer minden szegmensében, így a nyálmirigyekben is megtalálhatók az általunk vizsgált neuropeptid (SP, NPY, GAL, VIP, TH) tartalmú idegrostok és végzódések. Streptozotocinnal patkányokban létrehozott diabetesben kezdetben nincs különbség az IR rostok és végzódések számában és lokalizációjában. Négy hét után szignifikánsan növekedik az IR rostok és végzódések, valamint az immunokompetens sejtek száma. Ezek a sejtek elsősorban SP és NPY reaktívak és gyakoriak a rost-sejt szoros kontaktusok. A leírt jelenségek kapcsolatban vannak a neuropátia és a gyulladásra való hajlam fokozódásával.

- 600 fő klinikai vizsgálata és kérdőíves felmérése azt mutatta, hogy a xerostomia hazai gyakorisága 34%, a nyelési zavaré 13% és 9% az előfordulása az ízérzési zavarnak. A vizsgált egyének 3.8%-ánál klinikailag igazolt mértékű csökkent kevertnyál-szekréció volt kimutatható, s ezek 91%-a nő volt. A xerostomia, a dysphagia és a nyugalmi kevertnyál-elválasztás mértéke között szoros összefüggés mutatható ki. A csökkent nyálszekréció és a DMF-T érték között negatív korreláció áll fenn. Hyposalivatio esetén a dentális plakk képződési hajlam és a gingivitis rizikó fokozódik.
- Kimutattuk, hogy Sjögren szindrómában a nyálszekréció nagyfokú csökkenése ellenére a palatumban elhelyezkedő kis nyálmirigyek szekréciója nem csökken. Ennek igen nagy jelentősége van a teljes protézist viselők esetében (tapadás, antibakteriális hatás). Sjögren szindrómában növekedik az un. GBI index (Gingival Bleeding Index) és a PPD (Periodontal Probing Depth). Pozitív korrelációt találtunk a szérum SSA és/vagy SSB antitestek koncentrációja és az említett PPD valamint a DMF-T szám (decayed, missing and filled teeth) között. A xerostomia (szájszárazság érzése) panaszának elsődleges oka a szekréció csökkenése és kevésbé a nyál viszkozitásának fokozódása.
- A szekréció mértékének meghatározása és a szekréció összetevőinek vizsgálata a kis nyálmirigyek esetében technikailag rendkívül nehéz a néhány mikroliternyi mennyiségek és a kanülözés lehetetlensége miatt. Egy az irodalomban addig ismeretlen saját módszer segítségével lehetőség nyílt a labiális kis nyálmirigyek (LKNyM) szekréciójának vizsgálatára emberben. Kimutattuk, hogy az a nagy nyálmirigyek esetében már ismert jelenség, hogy a férfiakban nagyobb a szekréció mennyisége stimuláció esetén, mint a nőkben a labiális nyálmirigyekre is igaz. A LKNyM szekréciójában az amiláz bizonyítottan jelen van, de aktivitása csak mintegy egytizede a nyugalmi kevert nyálnak. Stimuláció hatására az enzimaktivitás a LKNyM szekréciójában szignifikánsan fokozódik, míg a kevert nyálban nem változik.
- Egy másik kísérletben a kis nyálmirigyek tevékenységét oly módon vizsgáltuk patkányokban (patkányokban ezt technikai okokból nem vizsgálják), hogy valamennyi nagy nyálmirigy eltávolításra került. Ezt követően a stimuláció hatására szekretált néhány mikroliter nyálat a szájüreg átöblítésével kimostuk. Ebből a mintából (az összes kis nyálmirigy együttes szekréciója) volt mód az amiláz aktivitás és az EGF tartalom mérésére. Megerősítést nyert az a feltételezés, hogy a kis nyálmirigyek is termelnek és szekretálnak amilázt illetve EGF-et. Azt is kimutattuk, hogy a nagy nyálmirigyek hiányában néhány nap után kompenzációs mechanizmus révén fokozódik a kis nyálmirigyek tevékenysége.
- Az aquaporin vízcsatornák fontos szerepet játszanak a nyálszekréció víz-komponensének kiválasztásában. Az AQP5, amelyet először patkány submandibularis nyálmirigyéből klónoztak, a luminális membránban helyezkedik el. Irodalmi adatok szerint az aquaporinok stimuláció hatására transzlokálódnak sejten belül. Kimutattuk, hogy stimuláció hatására az AQP5 a dilatált luminális membránban, a mikrovilluszokban helyezkedik el, de a szekréció lezajlását követően nem változik a lokalizációja.
- A szója szerepe az emberi táplálkozásban folyamatosan emelkedik. Az irodalomból ismert volt, hogy állatkísérletekben a szójával táplált patkányok pancreasa igen erősen megnagyobbodik. Igazolták a hipertrófia és a hiperplázia egyidejű jelenlétét. Ennek analógiájára elsőként vizsgáltuk a nyálmirigyeket szójababbal táplált patkányokban. Megismételt kísérletekben azt találtuk, hogy egy hét után a parotis súlya a pancreashoz hasonlóan több mint kétszeresére növekedik. A mirigyek DNS-tartalma és a <sup>3</sup>H-timidin

beépülés jelentősen megemelkedik, jelezvén a hipertrófia mellett a sejtproliferáció fokozódását. A kísérletek érdekessége, hogy a submandibularis és a sublingualis nyálmirigyek nem nagyobbodnak meg a parotishoz hasonlóan. A szójátáplálás az egyik hasznos kísérleti modell lehet a nyálmirigy-hipertrófiák, -hiperpláziák vizsgálatában.

- Szójátáplálás hatására a patkányok parotisa igen erősen megnagyobbodik, jelentős sejtproliferáció. A szójával táplált patkányok parotisában quantitative értékeltük több neuropeptid (NPY, GAL, SOM, SP, CGRP, VIP) tartalmú idegrost jelenlétét és az egységnyi területen lévő számukat. A szójátáplálás hatására hipertrófizált mirigyekben az NPY és a GAL immunoreaktív idegrostok száma jelentősen csökkent, míg a VIP-reaktív rostok mennyisége nem szignifikánsan, de növekedett. A többi neuropeptid tartalmú rost száma változatlan volt. Az acinusok közelében számos két sejtmaggal rendelkező, nem differenciálódott mirigysejt jelent meg. Ezeknek a sejteknek a citoplazmájában kevés szekréciós granulum található, melyek túlnyomó többsége kevésbé elektron-denz, mukózus jellegű.

- Az egyes szervek tömegének szabályozásában mind a sejtproliferációnak, mind az apoptózisnak szerepe van. Kísérleteket végeztünk a fokozott apoptózis megjelenésének és mértékének alakulására az isoproterenollal kezelt, illetve a szójával táplált patkányok nyálmirigyeiben és pancreasában. Azt találtuk, hogy az isoproterenollal kiváltott hipertrófiában mind a megnagyobbodott parotisban, mind az ugyancsak megnagyobbodott submandibuláris mirigyben a kezelést követően rövid idővel az apoptózis mértéke is jelentősen fokozódott (caspase 3/7 aktivitás). A szójával táplált állatokban nem találtunk ugyanilyen szoros időbeli összefüggést a sejtproliferáció és az apoptózis szinkron növekedése között, de a mirigysúlyok változásai összhangban voltak az apoptózis mértékével. Ennek megfelelően a submandibularis mirigyben, amelynek súlya nem változott a szójátáplálás hatására a caspase-aktivitás sem változott.

- Ismert, hogy a nyálmirigyek intercalaris ductus sejtjei multipotens progenitor tulajdonságokkal rendelkeznek, melynek eredményeként képesek acinus sejté differenciálódni. Ennek távlati jelentősége lehet például a Sjögren szindrómában elpusztult parenchyma pótlásában. A differenciálódás folyamatának vizsgálatakor azt találtuk, hogy az általánosan alkalmazott Matrigel egymagában nem alkalmas a HSG (human salivary gland cell line) sejtek differenciálódásának vizsgálatára a már néhány nap után kialakuló nagyfokú apoptózis miatt.

A teljes publikációs lista a pályázati periódusban megjelent folyóirat-közlemények és a kongresszusi absztraktokon kívül több könyv és számos könyvfejezetet tartalmaz a nyálmirigyek élettana, patológiája, klinikai vonatkozásai témaköréből.

A pályázati résztvevők/nyálmirigykutatók közössége a jelen pályázatot, illetve pályázati periódust megelőzően is ebben a témakörben és korábbi pályázatokban is együtt dolgozott. Ez a magyarázata annak, hogy számos oktatási és továbbképzési célú publikációt jelentetnek meg. Ez a tevékenység és az általuk képviselt ismeretanyag alapvető jelentőségű egy-egy pályázat kidolgozásakor, amely nagyban segíti az aktuális, illetve fontos részterületekre irányítani a figyelmet.