

SZAKMAI BESZÁMOLÓ

A kutatás időtartama: 2002-2006 (4 év).

A kutatási témában elvégzett munka és az elért eredmények rövid ismertetése:

Fig. 1

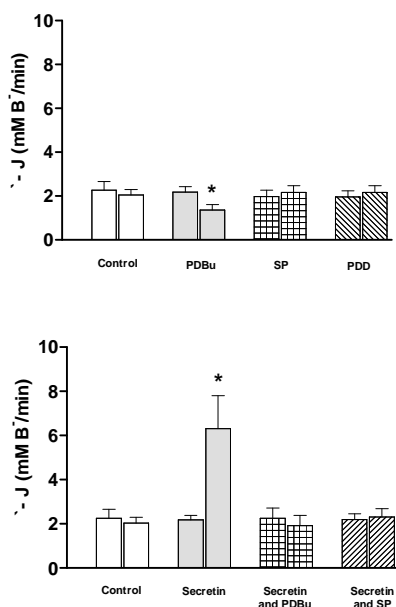
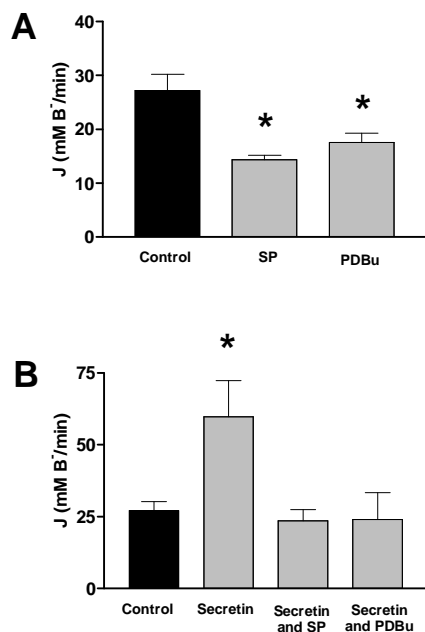


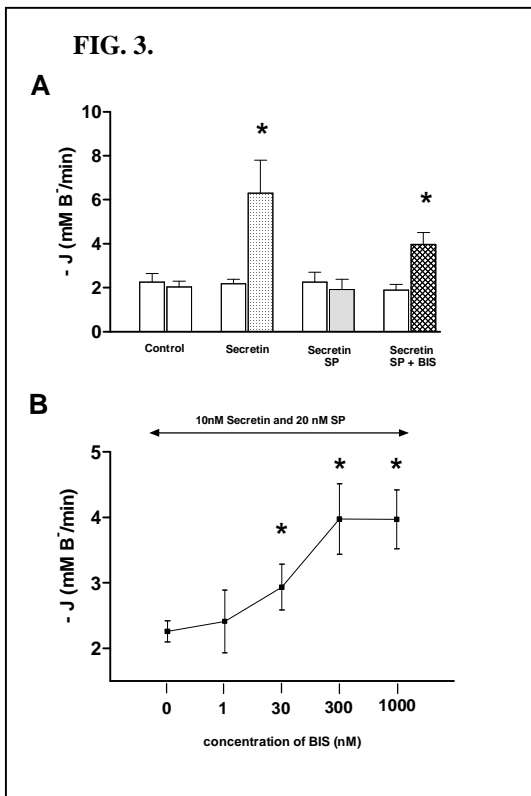
Fig. 2



Első lépésként célul tűztük ki, hogy azonosítsuk az intracelluláris szignalizációs mechanizmusokat, gátló utakat, melyek szerepet játszanak az SP szekréciónak gátló hatásának kifejtésében. Két különböző vizsgálati protokollal (1, basolaterális pH regulációs transzporterek és csatornák blokkolása (Fig. 1.) 2, NH₄Cl technika (Fig. 2.)) megvizsgáltuk egy nem szelektív PKC aktivátor (PDBu) hatását. Vizsgálataink alapján megállapíthatjuk, hogy a PDBu gátolta a basal HCO₃⁻ szekréciónak, ezáltal mimikálja az SP hatását. Másrészt a PDBu blokkolta a secretin által stimulált szekréciónak is. Kontrollként megvizsgáltuk a PDBu inaktív formáját a PDD-t. Tekintettel arra, hogy az inaktív forma hatástalan volt megállapíthatjuk, hogy a **PKC aktiváció utánosza az SP hatását, így valószínűsíthető a PKC szerepe az SP gátló hatásának kifejtésében.**

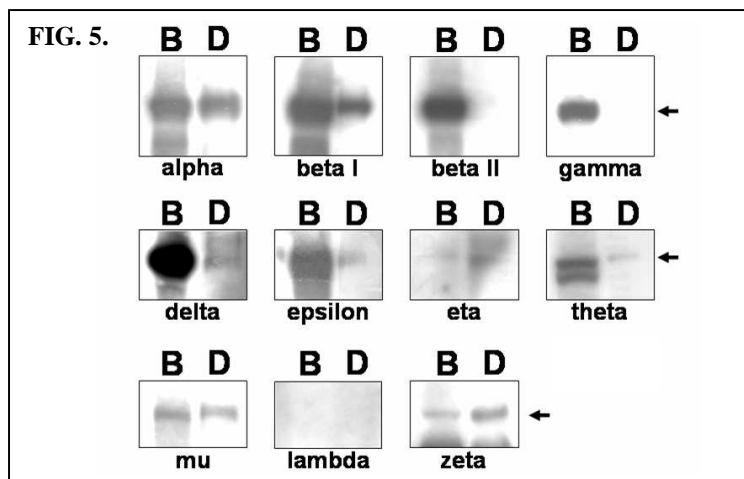
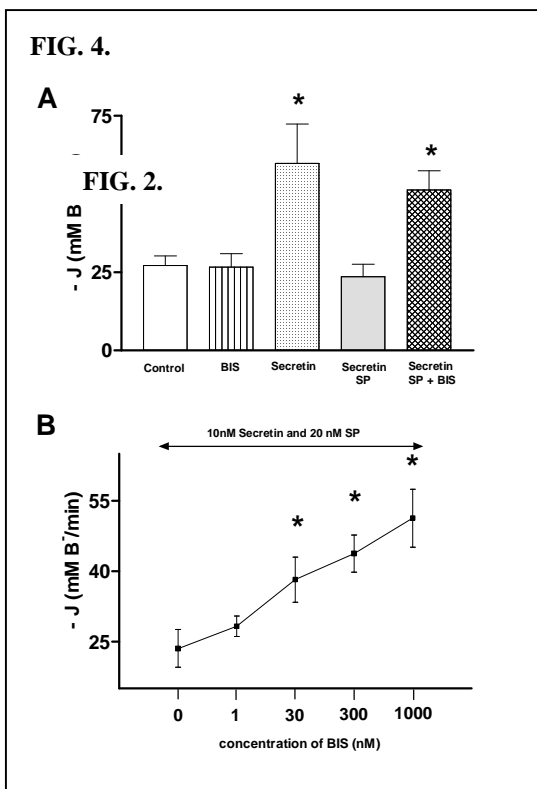
Következő célként megvizsgáltuk a PKC inhibitor hatását SP jelenlétében. Amennyiben a PKC inhibitor gátolja vagy megszünteti az SP gátló hatását, úgy szerepe egyértelműen igazolódik. Előkísérleteinkben BIS-t használtunk, mely egy nem szelektív PKC inhibitor. Nagy dózisú BIS alkalmazásával csökkent az SP gátló hatása. A továbbiakban ezen vizsgálatainkat szeretnénk befejezni. BIS dózis-hatás görbe felvételét is tervezzük.

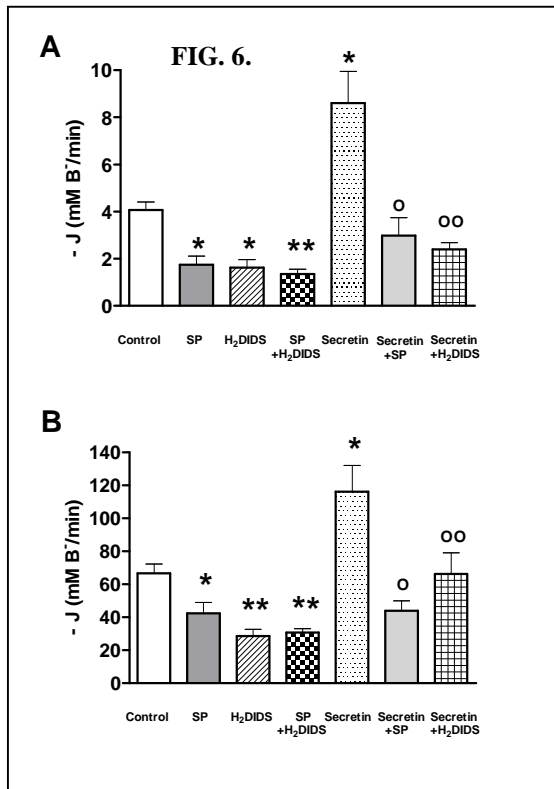
Ezt követően megvizsgáltuk a PKC inhibitor hatását SP jelenlétében. Amennyiben a PKC inhibitor gátolja vagy megszünteti az SP gátló hatását, úgy szerepe egyértelműen igazolódik. Kísérleteinkben BIS-t használtunk, mely egy nem szelektív PKC inhibitor. Nagy dózisú BIS alkalmazásával csökkent az SP gátló hatása. Ezt követően mind a két szekréciónak protokollal felvettünk egy dózis hatás görbét, mely igazolta hypothesizunket (Fig. 3-4). Kontroll kísérletként megvizsgáltuk a BIS hatását a PDBu hatására is. Ezen eredmények szintén azt igazolták, hogy a BIS gátolja a PKC aktiváció által létrehozott szekréciónak csökkenést.



Összefoglalva megállapítottuk, hogy az SP a PKC-n keresztül fejt ki gátló hatását, ezzel elsőként írtunk le másodlagos hírvivő anyagot, mely a gátló működésért felel. Kísérleteinkről magas impakt faktorú újságokban számoltunk be (lásd cikkek).

Kísérleteinkben célul tűztük ki, hogy azonosítsuk az intracelluláris szignalizációs mechanizmusokat, gátló utakat, melyek szerepet játszanak az SP szekréciót gátló hatásának kifejtésében. Tekintettel arra, hogy eddigi eredményeink alapján nagy valószínűségű volt a protein kinase C szerepe a SP gátló hatásában ezért először feltérképeztük a protein kinase C alcsoportokat a tengeri malac pancreas ductusaiban. Kísérleteink alapján megállapítottuk, hogy a tengeri malac hasnyálmirigy ductusai az α , $-\beta$ I, $-\delta$, $-\epsilon$, $-\eta$, $-\theta$, $-\zeta$ és a $-\mu$ PKC alcsoportokat tartalmaz (Fig.5.).





Végezetül direkt módon /mikroperfúziós módszerrel/ megvizsgáltuk, hogy a SP gátolja-e a lumenális bikarbonát szekréciót. Két különböző vizsgálati protokollal (1, basolateralis pH regulációs transzporterek és csatornák blokkolása 2, NH₄Cl technika) megvizsgáltuk a SP hatását a lumenális Cl⁻/HCO₃⁻ exchanger H₂DIDS-szel történő blokkolása mellett.

Vizsgálataink egyértelműen igazolták, hogy sem a SP-nek, sem pedig a secretinnek nincs hatása a lumenális Cl⁻/HCO₃⁻ exchanger blokkolása mellett, mely egyértelműen azt jelenti, hogy a két anyag főként ezen az exchangeren fejt ki a hatását.

Összességében megállapíthatjuk, hogy a 4 éves kutatási projektet sikeresen teljesítettük. Ezúton szeretnék köszönetet mondani az OTKA-nak, hogy kutatási projektünket támogatta, ezzel lehetőséget nyitott számunkra a pályázatban foglaltak elvégzésére.

Prof. Dr. Lonovics János
témavezető