

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

A PANKREÁSZ VEZETÉKSEJTEK ÉLETTANI ÉS KÓRÉLETTANI JELENTŐSÉGE



Dr. Hegyi Péter

**Szegedi Tudományegyetem
I. sz. Belgyógyászati Klinika**

SZEGED

2010

1. KÖZLEMÉNYEK

Az itt felsorolt *in extenso* közlemények a <http://www.mtakoztest.hu/kpa.htm> adattárából, változtatás nélkül lettek letöltve.

1.1 Az értekezés alapját képező első és utolsó szerzős *in extenso* közlemények

1. Maleth J, Venglovecz V, Rázga Zs, Tiszlavicz L, Rakonczay Z, **Hegyi P**. The non-conjugated chenodeoxycholate induces severe mitochondrial damage and inhibits bicarbonate transport in pancreatic duct cells. **GUT** (2009, in print)

IF: 9.766

2. Venglovecz V, Rakonczay Z, Ozsvári B, Takács T, Lonovics J, Varro A, Gray MA, Argent BE, **Hegyi P**. Effects of bile acids on pancreatic ductal bicarbonate secretion in guinea pig. **GUT** 57: (8)1102-1112 (2008)

IF: 9.766

3. **Hegyi P**, Gray MA, Argent BE. Substance p inhibits bicarbonate secretion from guinea pig pancreatic ducts by modulating an anion exchanger. **AM J PHYSIOL-CELL PH** 285: (2)C268-C276 (2003)

IF: 4.103

4. **Hegyi P**, Rakonczay Z Jr. The inhibitory pathways of pancreatic ductal bicarbonate secretion. **INT J BIOCHEM CELL B** 39: (1)25-30 (2007)

IF: 4.009

5. **Hegyi P**, Rakonczay Z, Tiszlavicz L, Varro A, Toth A, Racz G, Varga G, Gray MA, Argent BE. Protein kinase C mediates the inhibitory effect of substance P on HCO₃⁻ secretion from guinea pig pancreatic ducts. **AM J PHYSIOL-CELL PH** 288: (5)C1030-C1041 (2005)

IF: 3.942

6. **Hegyi P**, Rakonczay Z, Farkas K, Venglovecz V, Ozsvári B, Seidler U, Gray MA, Argent BE. Controversies in the role of slc26 anion exchangers in pancreatic ductal bicarbonate secretion. **PANCREAS** 37: (2)232-234 (2008)

IF: 2.708

7. **Hegyi P**, Rakonczay Z Jr, Gray MA, Argent BE. Measurement of intracellular pH in pancreatic duct cells: a new method for calibrating the fluorescence data. **PANCREAS** 28: (4)427-434 (2004)

IF: 1.872

8. **Hegyi P**, Ördög B, Rakonczai Z Jr, Takács T, Lonovics J, Szabolcs A, Sári R, Tóth A, Papp JGy, Varró A, Kovács M, Gray AM, Argent BE, Boldogkői Zs. Effect of herpesvirus infection on pancreatic duct cell secretion. **WORLD J GASTROENTERO** 11: (38)5997-6002 (2005)

1.2 A Ph.D. fokozat megszerzését követő egyéb in extenso közlemények.

1. Rosendahl J, Witt H, Szmola R, Bhatia E, Ozsvari B, Landt O, Schulz HU, Gress TM, Pfuetzer R, Loehr M, Kovacs P, Blueher M, Stumvoll M, Choudhuri G, **Hegyi P**, Morsche RHT, Drenth JP, Truninger K, Macek M, Puhl G, Witt U, Schmidt H, Buening C, Ockenga J, Kage A, Groneberg DA, Nickel R, Berg T, Wiedenmann B, Boedeker H, Keim V, Moessner J, Teich N, Sahin-Toth M. Chymotrypsin c (ctrc) variants that diminish activity or secretion are associated with chronic pancreatitis. **NAT GENET** 40: (1)78-82 (2008)
IF: 30.259
2. Rakonczay Z Jr, **Hegyi P**, Takacs T, McCarroll J, Saluja AK. The role of nf-kappab activation in the pathogenesis of acute pancreatitis. **GUT** 57: (2)259-267 (2008)
IF: 9.766
3. Jiang L, Gonda TA, Gamble MV, Salas M, Seshan V, Tu S, Twaddell WS, **Hegyi P**, Lazar G, Steele I, Varro A, Wang TC, Tycko B. Global hypomethylation of genomic dna in cancer-associated myofibroblasts. **CANCER RES** 68: (23)9900-9908 (2008)
IF: 7.514
4. . Rakonczay Z, **Hegyi P**, Dosa S, Ivanyi B, Jarmay K, Biczo G, Hracsko Z, Varga IS, Karg E, Kaszaki J, Varro A, Lonovics J, Boros I, Gukovsky I, Gukovskaya AS, Pandol SJ, Takacs T. A new severe acute necrotizing pancreatitis model induced by L-ornithine in rats. **CRIT CARE MED** 36: (7)2117-2127 (2008)
IF: 6.594
5. Rakonczay Z Jr, Jarmay K, Kaszaki J, Mandi Y, Duda E, **Hegyi P**, Boros I, Lonovics J, Takacs T. Nf-kappab activation is detrimental in arginine-induced acute pancreatitis. **FREE RADICAL BIO MED** 34: (6)696-709 (2003)
IF: 5.063
6. Yeruva S, Farkas K, Hubricht J, Rode K, Riederer B, Bachmann O, Cinar A, Rakonczay Z, Molnár T, Nagy F, Wedemeyer J, Manns M, Raddatz D, Musch M, Chang E, **Hegyi P**, Seidler U. Preserved Na⁺/H⁺ localization, but decreased NHE3 function indicate F regulatory sodium transport defect in ulcerative colitis. **INFLAMM BOWEL DIS** (2009, in print)
IF: 4.975
7. Rakonczay Z Jr, **Hegyi P**, Hasegawa M, Inoue M, You J, Iida A, Ignath I, Alton EW, Griesenbach U, Ovari G, Vag J, Da Paula AC, Crawford RM, Varga G, Amaral MD, Mehta A, Lonovics J, Argent BE, Gray MA. Cftr gene transfer to human cystic fibrosis pancreatic duct cells using a sendai virus vector. **J CELL PHYSIOL** 214: (2)442-455 (2008)
IF: 4.313
8. Sung KF, Odinokova IV, Mareninova OA, Rakonczay Z Jr, **Hegyi P**, Pandol SJ, Gukovsky I, Gukovskaya AS. Prosurvival bcl-2 proteins stabilize pancreatic mitochondria and protect against necrosis in experimental pancreatitis. **EXP CELL RES** 315: (11)1975-1989 (2009)
IF: 3.948

9. Tóth-Molnár E, Venglovecz V, Ozsvári B, Rakonczay Z, Varró A, Papp JGy, Tóth A, Lonovics J, Takács T, Ignáth I, Iványi B, **Hegyi P**. New experimental method to study acid/base transporters and their regulation in lacrimal gland ductal epithelia. **INVEST OPHTH VIS SCI** 48: (8)3746-3755 (2007)
IF: 3.528

10. Treharne JK, Xu Z, Chen JH, Best G, Cassidy DM, Gruenert DC, **Hegyi P**, Gray MA, Sheppard DN, Kunzelmann K, Mehta A Inhibition of protein kinase CK2 closes the CFTR Cl⁻ channel, but has no effect on the cystic fibrosis mutant $\Delta F508$ -CFTR. **CELL PHYSIOL BIOCHEM** 24: 347-360 (2009)
IF: 3.246

11. Czako L, **Hegyi P**, Rakonczay Z Jr, Wittmann T, Otsuki M. Interactions between the endocrine and exocrine pancreas and their clinical relevance. **PANCREATOLOGY** 9: (4)351-359 (2009)
IF: 3.043

12. Pagliocca A, **Hegyi P**, Venglovecz V, Rackstraw SA, Khan Z, Burdyga G, Wang TC, Dimaline R, Varro A, Dockray GJ. Identification of ezrin as a target of gastrin in immature mouse gastric parietal cells. **EXP PHYSIOL** 93: (11)1174-1189 (2008)
IF: 2.910

13. Ozsvári B, **Hegyi P**, Sahin-Toth M. The guinea pig pancreas secretes a single trypsinogen isoform, which is defective in autoactivation. **PANCREAS** 37: (2)182-188 (2008)
IF: 2.708

14. Ignáth I, **Hegyi P**, Venglovecz V, Székely Cs, Carr G, Hasegawa M, Inoue M, Takács T, Argent BE, Gray MA, Rakonczay Z. CFTR expression but not Cl⁻ transport is involved in the stimulatory effect of bile acids on apical Cl⁻/HCO₃⁻ exchange activity in human pancreatic duct cells. **PANCREAS** 38: (8)921-929 (2009)
IF: 2.708

15. Kovacs P, Szilvassy Z, **Hegyi P**, Nemeth J, Ferdinandy P, Tosaki A. Effect of transdermal nitroglycerin on glucose-stimulated insulin release in healthy male volunteers. **EUR J CLIN INVEST** 30: (1)41-44 (2000)
IF: 2.071

16. Jambrik Z, Gyöngyösi M, **Hegyi P**, Czako L, Takács T, Farkas A, Mándy Y, Góg Cs, Glogar D, Csanády M. Plasma levels of IL-6 correlate with hemodynamic abnormalities in acute pancreatitis in rabbits. **INTENS CARE MED** 28: (12)1810-1818 (2002)
IF: 2.041

17. Czako L, Takács T, Varga IS, Tiszlavicz L, Hai DQ, **Hegyi P**, Matkovics B, Lonovics J. Involvement of oxygen-derived free radicals in L-arginine-induced acute pancreatitis. **DIGEST DIS SCI** 43: (8)1770-1777 (1998)
IF: 1.972

18. Rakonczay Z Jr, Boros I, Jarmay K, **Hegyi P**, Lonovics J, Takacs T. Etanol administration generates oxidative stress in the pancreas and liver, but fails to induce heat-shock proteins in rats. **J GASTROEN HEPATOL** 18: (7)858-867 (2003)
IF: 1.530
19. Sari R, Peitl B, Kovacs P, Lonovics J, Palvolgyi A, **Hegyi P**, Nagy I, Nemeth J, Szilvassy Z, Porszasz R. Cyclic gmp-mediated activation of a glibenclamide-sensitive mechanism in the rabbit sphincter of oddi. **DIGEST DIS SCI** 49: (3)514-520 (2004)
IF: 1.427
20. Czakó L, Takács T, **Hegyi P**, Prónai L, Tulassay Zs, Lakner L, Döbrönte Z, Boda K, Lonovics J. Quality of life assessment after pancreatic enzyme replacement therapy in chronic pancreatitis. **CAN J GASTROENTEROL** 17: (10)597-603 (2003)
IF: 1.265
21. Rakonczay Z Jr, Fearn A, **Hegyi P**, Boros I, Gray MA, Argent BE. Characterization of H⁺ and HCO₃⁻ transporters in cfpac-1 human pancreatic duct cells. **WORLD J GASTROENTERO** 12: (6)885-895 (2006)
22. Takacs T, Szabolcs A, **Hegyi P**, Rakonczay Z Jr, Farkas G Az akut pancreatitis diagnosztikus és terápiás elveinek változása a klinikai gyakorlatban. Egy regionális belgyógyászati és sebészeti centrum adatainak epidemiológiai analízise. [Changes in diagnostic and therapeutic standards of acute pancreatitis in clinical practice. epidemiologic analysis of data from a regional center of internal medicine and surgery]. **ORVOSI HETILAP** 149: (14)645-654 (2008)
23. Takacs T, Szabolcs A, Biczo G, **Hegyi P**, Rakonczay Z. A kísérletes akut pancreatitismodellek klinikai relevanciája. [The clinical relevance of experimental acute pancreatitis models]. **ORVOSI HETILAP** 149: (42)1981-1986 (2008)
24. Sahin-Toth M, **Hegyi P**, Toth M. Genetikai kockázati tényezők kronikus pancreatitisben [Genetic risk factors in chronic pancreatitis]. **ORVOSI HETILAP** 149: (36)1683-1688 (2008)
25. **Hegyi P**, Takács T, Rakonczay Z Jr. Lansoprazol az oxidatív stressz elleni védelemben. Experimentális adatok. **LEGE ARTIS MEDICINAE** 18: 55-58 (2008)
26. Czakó L, Szabolcs A, Vajda A, Csáti S, Venglovecz V, Rakonczay Z Jr, **Hegyi P**, Tiszlavicz L, Csont T, Pósa A, Berkó A, Varga C, Varga Ilona S, Boros I, Lonovics J. Hyperlipidemia induced by a cholesterol-rich diet aggravates necrotizing pancreatitis in rats. **EUR J PHARMACOL** 572: (1)74-81 (2007)
IF: 2.376
27. Szabolcs A, Reiter RJ, Letoha T, **Hegyi P**, Papai G, Varga I, Jarmay K, Kaszaki J, Sari R, Rakonczay Z Jr, Lonovics J, Takacs T. Effect of melatonin on the severity of L-arginine-induced experimental acute pancreatitis in rats. **WORLD J GASTROENTERO** 12: (2)251-258 (2006)

28. Palvolgyi A, Sari R, Nemeth J, Szabolcs A, Nagy I, **Hegyi P**, Lonovics J, Szilvassy Z. Interplay between nitric oxide and vip in cck-8-induced phasic contractile activity in the rabbit sphincter of oddi. **WORLD J GASTROENTERO** 11: (21)3264-3266 (2005)
29. Letoha T, Somlai C, Takacs T, Szabolcs A, Jarmay K, Rakonczay Jr Z, **Hegyi P**, Varga I, Kaszaki J, Krizbai I, Boros I, Duda E, Kusz E, Penke B. A nuclear import inhibitory peptide ameliorates the severity of cholecystokinin-induced acute pancreatitis. **WORLD J GASTROENTERO** 11: (7)990-999 (2005)
30. Sári R, Pálvolgyi A, Rakonczay Z, Takács T, Lonovics J, Czakó L, Szilvássy Z, **Hegyi P**. Etanol inhibits the motility of the rabbit sphincter of Oddi in vitro. **WORLD J GASTROENTERO** 10: (23)3470-3474 (2004)
31. **Hegyi P**, Rakonczay Z Jr, Sári R, Góg Cs, Lonovics J, Takács T, Czakó L. L-arginine-induced experimental pancreatitis. **WORLD J GASTROENTERO** 10: (14)2003-2009 (2004)
32. **Hegyi P**, Rakonczay Z, Sári R, Czakó L, Farkas N, Góg Cs, Németh J, Lonovics J, Takács T. Insulin is necessary for the hypertrophic effect of cholecystokinin-octapeptide following acute necrotizing pancreatitis. **WORLD J GASTROENTERO** 10: (15)2275-2277 (2004)
33. Czakó L, **Hegyi P**, Takács T, Góg Cs, Farkas A, Mándy Y, Varga IS, Tiszlavicz L, Lonovics J. Effects of octreotide on acute necrotizing pancreatitis in rabbits. **WORLD J GASTROENTERO** 10: (14)2082-2086 (2004)

2 SCIENTOMETRIAI ADATOK

	Rész adat	Összesen
TUDOMÁNYOS ELŐADÁSAI		
Kongresszusi előadások száma	-----	182
TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK SZÁMA		
Lektorált szakfolyóiratokban megjelent tudományos közlemények száma	----- ---	50
Ebből első vagy utolsó szerzőként	16	-----
Nemzetközi folyóiratban	45	-----
Hazai idegennyelvű folyóiratban	1	-----
Hazai magyar nyelvű folyóiratban	4	-----
Szerkesztői levelek, hozzászólások, válaszok száma	0	-----
Kongresszusi előadások folyóiratban vagy könyvben	-----	2
Külföldi folyóiratban	2	-----
Magyar folyóiratban	0	-----
Folyóiratban megjelent absztraktok száma	-----	134
SZAKFOLYÓIRATOKBAN MEGJELENT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEINEK MINŐSÍTÉSE		
Valamennyi eredeti közleményeinek összegzett impakt faktora (absztraktok és nem lektorált levelek nélkül)	----- ---	147.082
Az utolsó 10 év éves átlaga (2000. január 6 – 2010.	142.473	-----
A PhD vagy kandidátusi disszertációban <i>nem szereplő</i> közlemények impakt faktor összege	140.008	----- --
TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEINEK IDÉZETTSÉGE		
Idézettség összesen	-----	615
ebből független idézés	483	-----
ebből önidézés	132	-----

3. BEVEZETÉS

Az 1980-as évekig úgy gondolták, hogy a pankreász vezetéksejtek fő feladata, hogy az acinus sejtek számára mechanikai vázat biztosításának. Az 1980-as évek elején Barry Argent és mtsai. kidolgoztak egy olyan sejtz izolálási metodikát, mely lehetővé tette intakt pankreász vezetékek (duktuszok) és vezetéksejtek (duktális sejtek) izolálását. Ezt követően számos közlemény bizonyította, hogy a duktális sejtek nem csak egy mechanikus vázat képeznek az acinusok számára, hanem a pankreász nedv bikarbonát és folyadékszekréciójáért is felelősek. A bikarbonátban gazdag oldat feladata, hogy kimossa az acinusok által termelt emésztőenzimeket a pankreász duktális rendszeréből, illetve a duodenumba jutva semlegesítse a gyomornedv savas pH-ját.

A duktális HCO_3^- szekréció élettani körülmények között - hasonlóan a többi epitél sejtek szabályozó mechanizmusaihoz - serkentő és gátló szabályozás alatt áll. A serkentő működés során a hormonok és neurotranszmitterek által kiváltott sejten belüli jelátviteli utak viszonylag jól tisztázottak. Mindemellett a folyadék- és ionkiválasztás szabályozásában már bizonyították a „**gátló működés**” jelenlétét különböző epitéliumokban. A HCO_3^- szekréciót gátló útvonalak alapvető fontossággal bírhatnak fíz iológias körülmények között azáltal, hogy csökkentik a duktuszon belül kialakuló hidrosztatikai nyomást (megakadályozva ezáltal az enzimek parenchimába történő szivárgását), illetve étkezés után kikapcsolják a hasnyálmirigy szekréciót.

A pankresz vezetéksejtek pankreatitisz során betöltött szerepét az 1990-es évek *in vivo* vizsgálatai vetették fel először. Kimutatták, hogy cerulein nel indukált akut experimentális pankreatitisz vizsgálata során hipoproteinaemiával társult hiperszekréció alakul ki patkányban. Ezen szekréciós változás megelőzte a pankreászban végbemenő morfológiai elváltozásokat. A pankreatitisz kifejlődése után a hiperszekréciót hiposzekréció váltotta fel. A fenti adatok azt sugallják, hogy a szekré tum volumenének változásáért

(hiper- majd a később kialakuló hiposzekréció) valószínűleg a ductuszok tehetők felelőssé, azonban ennek oka a szakirodalomban tisztázatlan. Meg kell említeni, hogy a pankreász nedv volumenének csökkenése önmagában is képes pankreatitist kiváltani, melyre a legjobb példa a cisztás fibrózis.

4. CÉLKITŰZÉSEK

Tekintettel arra, hogy az intracelluláris pH (pH_i) pontos ismerete kulcsfontosságú a bikarbonát szekréció pontos meghatározásában, kísérleteink során célul tűztük ki egy korszerű **adat analízis metodika kifejlesztését** a pH_i időbeli követésére. Ezt követően fontosnak tartottuk a pankreász vezetékséjtek bikarbonát szekréciójának **élettani** (elsősorban a gátló szabályozó működés) és **kórélettani** (akut pankreatitiszben betöltött szerepét *in vitro* körülmények között) megfigyelését.

Részletezett célkitűzések:

- 4.1 Korszerű adat-analízis metodika kifejlesztése az pH_i időbeli követésére
- 4.2 A pankreász vezetékséjtek gátló működésének tanulmányozása
 - 4.2.1 A substance P (SP) hatásának vizsgálata a pankreász vezetékséjtekre
 - 4.2.2 A SP okozta szekréció gátlás intracelluláris útjainak vizsgálata
- 4.3 A pankreatitist kiváltó toxikus anyagok vizsgálata a pankreász vezetékséjtek bikarbonát szekréciójára
 - 4.3.1 Az epesavak hatásának vizsgálata
 - 4.3.2 A nem-konjugált és konjugált epesavak közötti különbségek vizsgálata
 - 4.3.3 A vírusfertőzés ductális szekrécióra kifejtett hatásának vizsgálata

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Ismert, hogy a tengerimalac és az ember pankreász vezetékessejtjei hasonló koncentrációban szekretálják a HCO_3^- -ot (~ 140 mM). Ezért az értekezésben szereplő összes kísérletet tengerimalac pankreász vezetékessejteken végeztük.

Kísérleteinkhez intra- és interlobuláris **duktuszokat izoláltunk** kb. 150-200 gramm tömegű tengerimalacok hasnyálmirigyéből. A kísérlek egy részében a duktuszokat **mikroperfundáltuk**. A mikroperfúzió lényege, hogy a polarizált epitél sejtek lumenális illetve bazolaterális oldalát különböző ion összetételű oldatokkal perfundáljuk.

A pH_i -t, az intracelluláris kalcium $[\text{Ca}^{2+}]_i$ és ATP $[\text{ATP}]_i$ koncentrációt **fluoreszcens módszerrel** határoztuk meg.

A HCO_3^- szekréció mértékét három különböző metodikával (transzporter blokkoló, alkalózisból történő regeneráció és klorid elvonásos technika) határoztuk meg.

A SP lokalizációját **immunhisztokémiai** metodikával, míg a PKC izoformák jelenlétét **Western Blot** technika segítségével végeztük.

Az epesavak sejtorganellekre gyakorolt hatásait **elektronmikroszkópai** vizsgálattal végeztük.

A vírusfertőzés duktális szekrécióra kifejtett hatásának vizsgálatához a sejteket pseudorabies vírussal fertőztük. A vírus szerkezeti fehérjét **immunfluoreszcens** festéssel detektáltuk.

Az eredményeket átlag $\pm$ standard hiba (SE) formájában tüntettük fel (n = kísérletek száma). A szignifikáns eltéréseket Student féle páros t-próbával (amikor két csoportot hasonlítottunk össze) vagy egy tényezős ANOVA próbával (amikor 3 vagy több csoportot hasonlítottunk össze) határoztuk meg. Szignifikánsnak a $p \leq 0,05$ értéket fogadtuk el.

5. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

Első lépésben **kidolgoztunk egy korszerű új módszert**, mellyel a korábbiakhoz képest lényegesen pontosabban lehet meghatározni a sejtek pH_i -jét.

Ezt követően az pankreász vezetéksejtek neurohumorális szabályozása közül a gátló utakat vizsgáltuk. Immunhisztokémia segítségével kimutattuk, hogy a SP megtalálható a kis duktuszok mellett levő, úgynevezett periduktális idegekben, a nagyobb idegek megnyúlt sejtjeiben, valamint a vérerek legkülső rétegében a tengerimalac pankreászában. Először sikerült kimutatnunk, hogy a SP neurokinin receptoron keresztül jelentősen gátolja a pankreász bikarbonát szekrécióját, melynek jelenősége lehet az emésztést követő szekréciós nedvek termelésének leállításában. A protein kináz C (PKC) aktivációján keresztül létrejövő gátló hatás főként a lumenális oldalon levő anion cserélő transzporterén keresztül valósul meg.

Az élettani megfigyelések után célul tűztük ki a pankreász vezetéksejtek pankreatitiszben betöltött **kórélettani** szerepének tanulmányozását *in vitro* körülmények között. Kísérleteink során a pankreatitiszben szerepet játszó etiológiai faktorok közül az epesavak (nem konjugált kenodezoxikólsav (CDC) és a konjugált glikokenodezoxikólsav (GCDC)) illetve a vírusok pankreász vezetéksejtekre gyakorolt hatását vizsgáltuk. Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a nem konjugált epesavak kis dózisban (0,1 mM) stimulálják, nagy dózisban (1 mM) pedig gátolják a pankreász vezetéksejtek HCO_3^- szekrécióját. A konjugált epesavaknak nem volt hatása a HCO_3^- szekrécióra. Az epesavak dózisfüggően emelték a $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -t. Fontos megemlíteni, hogy a CDC mind az oxidatív, mind a glikolitikus ATP képződést gátolta pankreász duktális epitel sejtekben. A kis dózisú CDC (szekréciót stimuláló) hatásában a $[\text{Ca}^{2+}]_i$ emelkedésnek, míg a nagy dózisú CDC (szekréciót gátló) hatásában az $[\text{ATP}]_i$ csökkenésnek volt kulcsfontosságú szerepe.

Hasonlóan a kis dózisú epesavak hatásához, a vírus fertőzés korai szakaszában a virulens pseudorabies vírus fokozta a pankreász vezetéksejtek HCO_3^- szekrécióját.

Összességében megállapíthatjuk, hogy a pankreász vezetéksejtek HCO_3^- és folyadék szekréciója - hasonlóan a többi epithel sejtek szabályozó mechanizmusaihoz - serkentő és gátló szabályozás alatt áll. Kísérleteink során a szakirodalomban elsőként tisztáztuk az egyik gátló neuropeptid, a SP hatásait. Az epesavakkal és vírusokkal végzett kísérleteink egyértelműen bizonyítják a HCO_3^- szekréció kórélettani jelentőségét. A pankreatitisz kezdeti szakaszában, a pankreász vezetéksejtek fokozott szekrécióval próbálják a toxikus anyagokat kimosni a pankreászból. Ha ez a védő mechanizmus nem elégséges és a toxikus anyagok nagy koncentrációban érik el a sejteket, akkor egy szekréciós stop alakul ki, ami jelentősen súlyosbíthatja a pankreatitisz lefolyását.

6. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

Az alábbi megállapítások tengerimalac pankreász vezetéksejtekre értendők.

Jelen értekezésben az alábbi új megállapításokat tettük.

- 6.1. Kidolgoztunk egy új korszerű pH kalibrációs metodikát.
- 6.2. A SP gátolja a duktális bikarbonát szekréciót.
- 6.3. A SP ezen gátló hatását a neurokinin receptorokon keresztül fejt ki.
- 6.4. A SP-nek nincs hatása a bazolaterálisan elhelyezkedő $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ kotranszporterre (NBC) és a Na^+/H^+ kicserélő transzporterekre (NHE).
- 6.5. A SP direkt úton gátolja a luminálisan elhelyezkedő DIDS szenzitív anion cserélő transzportert.
- 6.6. A PKC aktivációja gátolja a pankreász vezetéksejtek bikarbonát szekrécióját.
- 6.7. A SP PKC aktiváción keresztül fejt ki gátló hatását.
- 6.8. A luminálisan alkalmazott kis dózisú nem-konjugált epesavak stimulálják a pankreász vezetéksejtek bikarbonát szekrécióját.
- 6.9. Ezen stimuláló hatásukat inozitol trifoszfát (IP_3) szenzitív intracelluláris $[\text{Ca}^{2+}]$ emelésével hozzák létre.
- 6.10. A bazolaterálisan alkalmazott nem-konjugált kis dózisú (0,1 mM) epesavaknak nincs hatásuk a pankreász vezetéksejtek bikarbonát szekréciójára.
- 6.11. A luminálisan vagy bazolaterálisan alkalmazott nagy dózisú (1 mM) nem-konjugált epesavak gátolják a pankreász vezetéksejtek bikarbonát szekrécióját.
- 6.12. A luminálisan vagy bazolaterálisan alkalmazott nagy dózisú nem-konjugált epesavak intracelluláris Ca^{2+} szint emelkedést hoznak létre.

- 6.13. A nagy dózisú nem-konjugált epesavak hatására létrejövő Ca^{2+} szint emelkedés illetve a szekréciós gátlás nincs összefüggésben egymással.
- 6.14. A nagy dózisú nem-konjugált epesavak mitokondrium toxikusak.
- 6.15. A nagy dózisú nem-konjugált epesavak csökkentik az intracelluláris ATP koncentrációt.
- 6.16. A nagy dózisú nem-konjugált epesavak gátolják mind az oxidatív, mind pedig a glükolitikus ATP szintézist.
- 6.17. A konjugált epesavak bejutnak a pankreász vezetéksejtekbe, ami epesav transzporterek jelenlétére utal.
- 6.18. A nagy dózisú konjugált epesavaknak nincs hatása a bikarbonát szekrécióra.
- 6.19. A nagy dózisú konjugált epesavaknak nincs toxikus hatása a mitokondriumokra.
- 6.20. A nagy dózisú konjugált epesavak reverzibilisen csökkentik az intracelluláris ATP-t.
- 6.21. A legyengített, nem virulens, osztódni nem képes pszeudorabiesz vírusok bejutnak a pankreász duktuszok sejtjeibe, de nem befolyásolják a bikarbonát szekréciót.
- 6.22. A virulens herpesz vírusok stimulálják a pankreász vezetéksejtek bikarbonát szekrécióját.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt köszönetemet szeretném kifejezni **Prof. Takács Tamás** egyetemi tanárnak, tanítómesteremnek, aki diákéveimtől kezdődően tanított, megszerettette velem a tudományt és pályafutásom során mindvégig hasznos tanácsokkal látott el. Köszönettel tartozom **Prof. Barry Argent** egyetemi tanárnak, aki a Newcastle Egyetemen bevezetett a pankreász vezetéksejtek sejtélettani alapjaiba. Külön kiemelt köszönetemet szeretném kifejezni kollégámnak, barátomnak, **Dr. Rakonczay Zoltánnak** a közösen végzett munkákban nyújtott kimagasló segítségért. Szintén megkülönböztetett köszönetemet szeretném kifejezni **Dr. Venglovecz Viktóriának**, első tudományos fokozatot (Ph.D.) szerző tanítványomnak, aki nagymértékben hozzájárult az értekezés megszületéséhez.

A tudományos munka elvégzéséhez nélkülözhetetlen lett volna a kiemelkedő intézeti háttér. Ezúton köszönöm **Prof. Lonovics János** egyetemi tanárnak, aki az I.sz. Belgyógyászati Klinika intézetvezetőjeként klinikáján állást biztosított és végig támogatta/támogatja munkámat. Köszönetemet fejezem ki **Prof. Wittmann Tibor** jelenlegi tanszékvezető egyetemi tanárnak, aki immáron 3 éve biztosítja a feltételeket és támogatja munkacsoportomat. Pályafutásom előrehaladásában jelentős segítséget nyújtott **Prof. Varró András** egyetemi tanár, a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet tanszékvezetője, aki hazatelepülésemet követően műszerei biztosításával, fontos tanácsaival segítette munkámat. Szakmai és baráti tanácsai meghatározója pályafutásomnak.

Köszönettel tartozom volt és jelenlegi **munkatársaimnak**, **tanítványaimnak** (külön kiemelve azokat, akik a dolgozat témájában kiemelkedő segítséget nyújtottak: Dr. Ózsvári Béla, Dr. Maléth József, Ignáth Imre, Pallagi Petra) és **asszisztenseimnek** (Fuksz Zoltánnénak, Pálfi Editnek, Árva Miklósnénak, Sitkei Ágnesnek, Horesnyiné Tündének) az éveken keresztül nyújtott asszisztensi segítségért. Külön köszönöm hazai és nemzetközi **kollaborációs partnereimnek** (különösképpen Dr. Mike Graynek) önzetlen segítségüket.

És végül, de nem utolsó sorban KIEMELT köszönetem szeretném kifejezni szüleimnek **Dr. Madarász Évának** és **Dr. Hegyi Andrásnak** (†1988) szeretetükért, nevelőmunkájukért. Feleségemnek **Szilviának** szeretetét, határtalan türelmét és a nyugodt családi háttér biztosítását nem lehetett volna pótolni. Köszönöm gyermekeim (**Judit** 13é, **Eszter** 12é, **Sára** 10,5é, **Anna** 8é és **András** 3.5é) felém áradó szeretetét külön kiemelve megértésüket mely nélkül a sok távolmaradás elképzelhetetlen lett volna.

A kutatómunkához nélkülözhetetlen anyagi forrásokat hazai (OTKA, MTA, NKTH) és nemzetközi (Wellcome Trust, Royal Society, DFG, NIH) pályázatok biztosították. Ezúton köszönöm a döntéshozóknak, hogy bizalmukkal megtiszteltek.