

1

A STREPTOZOTOCIN ÉS INZULIN HATÁSA A XENOBIOTIKUMOK ELIMINÁCIÓJÁRA ÉS A SZULFOTRANSZFERÁZ ÉS ARILSZULFATÁZ ENZIMEK AKTIVITÁSÁRA

Almási Attila¹, Markovics Zoltán¹, Perjési Pál¹, Fischer Emil²¹Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Gyógyszerészi Kémiai Intézet,²Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

A per os történő gyógyszeradagolás során a gyógyszermolekulák elsősorban a felszívódás helyén, a vékonybélben, illetve a májban metabolizálódnak. A metabolizmus során a szulfuriláció révén is számos endogén szubsztát és xenobiotikum alakul át hatástalan vagy potensebb származékká.

A kísérleteink során használt *p*-nitrofenol (PNP), a metabolizmus helyein részben glükuronid, (PNP-G) és részben szulfát (PNP-S) konjugátumként választódik ki. A konjugátumok megjelenése speciesfüggő, de szulfátkonjugátumok elsősorban a glükuronsav-konjugáció telítődését követően képződnek a vékonybélben, míg a májban számottevő a termelődésük. Ebben a munkánkban a kísérletes diabétesz és az inzulin-szubsztitúció hatását vizsgáltuk a PNP szulfurilációjára a vékonybélben és a májban, illetve mértük a szulfotranszferáz (SULT) és arilszulfatáz (ARS) enzimek aktivitását is a vékonybél és a máj szervhomogenizátumokban.

Kísérleteinkben hím Wistar patkányokat (250±30 g) használtunk. A streptozotocint 65 mg/kg-os dózisban i.v. adtuk 1 héttel a vizsgálatok előtt. A vércukorszint emelkedésének kompenzálása tartós hatású inzulin egy héten át történő folyamatos illetve gyorshatású inzulin kezelés előtt egy dózisban történő adásával történt. A jejunumnak egy kb. 10 cm-es szakaszát izotóniás médiummal perfundáltuk, amely PNP-t tartalmazott különböző koncentrációban. Az epét az epevezeték kanülálásával 15 perces időközönként gyűjtöttük. A kísérlet végén a májból és vékonybélből mintákat vettünk, a SULT és arilszulfatáz enzimek aktivitását a szervhomogenizátumokból spektrofotometriás módszerrel mértük. A vékonybél-homogenizátumban és az epében található konjugátumok mérésére HPLC módszert fejlesztettünk ki. A PNP-S megjelenése a perfuzátumban a PNP-G-nél lényegesen alacsonyabb volt.

Méréseink során összefüggéseket kerestünk a kiválasztott metabolitok mennyisége és az átalakításban részt vevő szervek homogenizátumainak enzimaktivitása között.

2

LIMFOCITÁK PROLIFERÁCIÓJÁNAK ÉS KV1.3 KÁLIUM IONCSATORNÁINAK VIZSGÁLATA HIPERKOLESZTERINÉMIA SÁLLAPOTBAN

Balajthy András¹, Pethő Zoltán Dénes¹, Dr. Somodi Sándor², Dr. Hajdú Péter¹¹Debreceni Egyetem, OEC, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet,²Debreceni Egyetem, OEC, I. Belgyógyászati Klinika

Bevezetés: A hiperkoleszterinémia az ateroszklerózis illetve további kardiovaszkuláris betegségek egyik legfontosabb rizikófaktor. Ismert, hogy az ateroszklerózis egy krónikus gyulladásos folyamat, így kialakulásában a gyulladásos sejtek, mint pl. limfociták, elsődleges szerepet játszhatnak. In vitro kísérletekben a megnövelt membrán koleszterinszint jelentősen befolyásolta a limfociták Kv1.3 ioncsatornáinak biofizikai paramétereit illetve a jelátviteli folyamatokat. Munkánk során azt a hipotézist vizsgáltuk, hogy az in vitro kísérletekhez hasonló változásokat kapunk hiperkoleszterinémias egyedekből izolált limfociták vizsgálatakor.

Anyagok és módszerek: Kísérleteinkben az I. Belklinika Lipid Szakrendelése által gondozott, hiperkoleszterinémias, de egyéb betegségben nem szenvedő donoroktól valamint normál koleszterinszinttel rendelkező (kontroll) személyektől származó mintákat vizsgáltunk. A betegeket három csoportra osztottuk koleszterinszintjük alapján (mmol/l-ben megadva) I.: 3.8-5.2 (kontroll); II.: 6.3-9.9 III.: 11.6-13.7. A perifériás vérből CD4+ T-limfocitákat monoklonális antitest adhéziós módszerrel izoláltunk, és a Kv1.3 ioncsatornáinak áramát patch-clamp technikával, teljes-sejt konfigurációban vizsgáltuk. A sejtek osztódását CFSE hígítási esszével áramlási citométeren követtük, anti-CD3 és anti-CD28 stimulációt követően és annak hiányában.

Eredmények: Elektrofiziológiai méréseink azt mutatták, hogy a hiperkoleszterinémias betegek T sejtjeiben a Kv1.3 ioncsatornák biofizikai jellemzői (aktivációs kinetika, inaktivációs kinetika, inaktivációból történő visszatérés kinetikája, valamint az egyensúlyi aktiváció és inaktiváció membránpotenciál függése) nem változtak meg a megnövekedett szérumszint koleszterinszint hatására. A proliferációs kísérleteink során a III. csoport T sejtjeinek spontán aktivációs rátája emelkedettnek bizonyult a kontrollhoz képest, viszont a stimuláció hatására az I-II. csoportokhoz képest kevesebb sejt osztódott.

Következtetés: Ezek alapján tehát az in vitro kísérletekben talált, Kv1.3 kapuzást érintő eltérések nem jelennek meg in vivo, azonban a proliferációs mérések során talált változások a koleszterinnek in vivo körülmények között is megjelenő, jelátviteli utakat módosító hatását feltételezi.