

**Az inzulin receptort kifejező elsődleges érző idegsejtek morfológiai és
neurokémiai jellemzése patkányban**

Ph. D. értekezés tézisei

Dr. Lázár Bence András

Témavezetők:

Prof. Dr. Jancsó Gábor

Dr. med. habil Sántha Péter



Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola

Élettani Intézet

Pszichiátriai Klinika

Általános Orvostudományi Kar

Szegedi Tudományegyetem

Szeged

2019

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

Az értékezés alapjául szolgáló eredeti közlemények:

- I. Lázár BA, Jancsó G, Horváth V, Nagy I, Sántha P. The Insulin Receptor is Differentially Expressed on Somatic and Visceral Primary Sensory Neurons. *Cell and Tissue Res.* 374:243-249. 2018. IF: 3,043
- II. Lázár BA, Jancsó G, Oszlács O, Nagy I, Sántha P. The Insulin Receptor is Colocalized With The TRPV1 Nociceptive Ion Channel and Neuropeptides in Pancreatic Spinal and Vagal Primary Sensory Neurons. *Pancreas.* 47:110-115. 2018. IF: 2,958

Az értekezés alapjául szolgáló eredeti közlemények kumulatív impakt faktora: 6,001

Az értékezéshez közvetlenül nem kapcsolódó eredeti közlemények:

- I. Lázár BA, Jancsó G, Pálvölgyi L, Dobos I, Nagy I, Sántha P. Insulin Confers Differing Effects on Neurite Outgrowth in Separate Populations of Cultured Dorsal Root Ganglion Neurons: The Role of The Insulin Receptor. *Frontiers in Neurosci.* 12:732. 2018. IF: 3,877

Az értékezéshez közvetlenül nem kapcsolódó eredeti közlemények kumulatív impakt faktora: 3,877

Teljes kumulatív impakt faktor: 9,878

BEVEZETÉS

Az érződúcokban (ganglion spinale és az agyidegek érződúcai) található testi és zsigeri elsődleges érző idegsejtek számos morfológiai és funkcionális jellegzetesség alapján osztályozhatók. Morfológiai szempontok alapján két típust különíthetünk el: az A-típusú, nagy, világos, neurofilamentben gazdag, illetve a B-típusú, kis, sötét, neurofilamentben szegény sejteket. Az A-típusú idegsejtek döntően velőhüvelyes, míg a B-típusú idegsejtek velőtlen, C-rostokkal rendelkeznek. Funkcionális szempontból az elsődleges érző idegsejtek két csoportba oszthatók: a nem-fájdalmas mechanikai és termikus ingereket szállító velőhüvelyes axonnal rendelkező A-típusú, valamint a fájdalmas mechanikai, termális és kémiai ingereket közvetítő velőtlen rostokkal rendelkező B-típusú érző idegsejtekre.

A bőrt, a vázizmokat és a zsigereket érő fájdalmas ingerek érzékelését a nociceptorok végzik. A 20. sz. második felében ifj. Jancsó Miklós bebizonyította, hogy az erős paprika csípős anyagaként ismert kapszaicin ismételt lokális vagy szisztémás alkalmazása érzéketlenné teszi a kísérleti állatokat a kémiai anyagok által kiváltott fájdalmas ingerrel szemben, míg a mechanikai ingerek érzékelését a kezelés nem befolyásolja. Az alkalmazott eljárást a szakirodalom kapszaicin deszenzibilizáció néven tartja számon. Jancsó továbbá azt is megfigyelte, hogy a kapszaicin vagy a mustárolaj alkalmazása a bőrben nem csak égető fájdalmat vált ki, hanem lokális szöveti reakciókat, vazodilatációt és plazma extravazációt, azaz neurogén gyulladást is előidézik. Ez a megfigyelés felhívta a figyelmet arra, hogy ezen kemoszenzitív elsődleges érző idegsejtek a fájdalmas ingerek központi idegrendszerbe történő továbbítása mellett (szenzoros afferens funkció), kitüntetett szerepet játszanak a lokális szöveti reakciókban (szenzoros efferens vagy lokális regulatórikus funkció).

A kapszaicin szelektív neurotoxikus hatásának felfedezése a későbbiekben lehetővé tette a kemoszenzitív elsődleges érző idegsejtek neurokémiai és morfológiai fenotipizálását. Jancsó Gábor és munkatársai kimutatták, hogy a kapszaicin szisztémás alkalmazása a kisméretű B-típusú, részben peptideket tartalmazó érző ganglionsejtek szelektív degenerációját idézi elő. Későbbi vizsgálatok eredményei arra is rámutattak, hogy funkcionális és neurokémiai jellegzetességek alapján a C-rostoknak két altípusát különíthetjük el: a peptiderg és a nem-peptiderg érző neuronokat.

Pavao Stern és munkatársai elsőként vetették fel, hogy a neurogén gyulladás folyamatának szabályozásáért döntően olyan peptiderg nociceptív elsődleges érző idegsejtek felelősek,

amelyek perifériás végződéseikből, aktivációjukat követően, P-anyagot (SP) szabadítanak fel. Későbbi vizsgálatokban bizonyították, hogy a plazma extravazáció kiváltásáért a P anyag, míg a vazodilatáció létrejöttéért a calcitonin gén-rokon peptid (CGRP) felelős. A nem-peptiderg elsődleges érző neuronok specifikusan kötik a *Griffonia simplicifolia* lektinjét, az izolektin B4-et, és ezeknek csak csekély hányada tartalmaz neuropeptidet.

Michael J. Caterina és munkatársai igazolták, hogy a tranziens receptor potenciál vanilloid 1-es típusú (TRPV1) receptort mind a peptiderg, mind a nem-peptiderg elsődleges érző idegsejtek is expresszálják. A TRPV1 receptor egy olyan nem szelektív kation csatorna, melyet ma archetipikus nociceptív ioncsatornának tekintünk, amelyet a fájdalomérző, kemoszenzitív elsődleges érző idegsejtek döntő hányada expresszál.

Az elmúlt évtizedekben, a TRPV1 receptort expresszáló kemoszenzitív elsődleges érző idegsejtek jelentősége számos szervet érintő élettani és kórélettani folyamatban is felmerült, úgy, mint a bőr, a dura mater, a húgyhólyag és a hasnyálmirigy gyulladásos elváltozásai. A nociceptív szenzoros neuronok gén-expresszióját, neurokémiai fenotípusát és működését számos trofikus faktor szabályozza, mint például az idegnövekedési faktor (NGF) vagy a gliaderetű neurotrófikus faktor (GDNF). Újabban kimutatták, hogy a növekedési faktorokhoz hasonlóan az inzulin vagy az inzulin-szerű növekedési faktor, a TRPV1 receptor aktivációjának befolyásolása révén jelentős szerepet játszhatnak mind a nocicepcióban, mind pedig a szöveti gyulladásos reakciók befolyásolásában.

Az elmúlt években, számos vizsgálat igazolta, hogy az inzulin, a metabolikus folyamatokban betöltött kitüntetett szerepe mellett, olyan idegi folyamatokban is jelentős szerepet játszik, mint az idegsejtek túlélése, a neurit-növekedés vagy a neuronális aktiváció. Az inzulin idegi hatásait az idegsejteken is expresszált inzulin receptoron (InsR) keresztül fejti ki. Korábbi *in vitro* vizsgálatok eredményei azt is megállapították, hogy az inzulin fokozza a kapszaicin által kiváltott kobalt-felvételt, feltehetően a TRPV1 receptor aktivációján keresztül. Immunhisztokémiai vizsgálatok igazolták továbbá az InsR és a TRPV1 receptor ko-lokalizációját egér és patkány hátsógyöki ganglionsejtjeiben.

CÉLKITŰZÉSEK

Korábbi *in vitro* vizsgálatok kimutatták az inzulin és a nociceptív TRPV1 receptorok kölcsönhatásának jelentőségét, továbbá ko-lokalizációjukat egér és patkány elsődleges érző idegsejtekben. Az elsődleges érző idegsejtek által expresszált InsR funkcióját és lokalizációját

számos vizsgálat bizonyította, ugyanakkor az InsR célszerv-specifikus eloszlására vonatkozóan ismereteink hiányosak. A különböző szerveket beidegző, InsR-t kifejező elsődleges érző idegsejtek morfológiai és neurokémiai sajátosságainak feltárása közelebb vihet az inzulin és az InsR szerepének pontosabb megértéséhez a kemoszenzitív idegek által szabályozott élettani és kórélettani folyamatokban.

A jelen értekezésben összefoglalt vizsgálatok alapvető célját retrográd neuronális jelölés révén azonosított testi (bőr és vázizom) és zsigeri (húgyhólyag és hasnyálmirigy) InsR-t expresszáló nociceptív elsődleges érző idegsejtek morfológiai és neurokémiai jellemzése képezte, különös tekintettel az InsR és a TRPV1 receptor ko-lokalizációjára.

Korábbi megfigyelések felvetették a hasnyálmirigyet beidegző szenzoros idegek továbbá az inzulin és a nociceptív elsődleges érző idegsejtek aktivációja során felszabaduló szenzoros neuropeptidek, mint a CGRP és a SP kölcsönhatásának jelentőségét mind az exokrin, mind az endokrin pankréaszt érintő kórélettani folyamatokban. Ezért a jelen értekezésben összefoglalt vizsgálatok további célját a hasnyálmirigyet beidegző spinális és vagális elsődleges érző idegsejtek InsR, TRPV1 receptor, CGRP és SP expressziójának és ko-lokalizációjának feltárása képezte kvantitatív morfometriai és immunhisztokémiai eszközökkel.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Sebészeti eljárások

Vizsgálatainkat 12 db felnőtt, 300-350 g tömegű hím Wistar patkányon végeztük. Klorál-hidrát (400 mg/kg, i.p.) vagy izoflurán altatást követően az eredő érző ganglionsejtek azonosítása céljából Hamilton fecskendővel 1%-os biotin-konjugált búzacsíra agglutinin (biotin-conjugated wheat germ agglutinin; bWGA) oldatot injektáltunk 2 és 4 mikroliteres frakciókban a kísérleti állatok hátsó lábának talpbőrébe, musculus gastrocnemiusába, a húgyhólyag falába és a hasnyálmirigy testébe valamint feji, és farki részébe.

Szövetteni eljárások

A műtétet követő 3. napon a kísérleti állatokat thiopentállal (150 mg/kg i.p.) túlaltattuk, majd ezt követően 4%-os pufferezett formaldehid oldattal (1,25% glutáraldehid, 1% formaldehid 0,1 M foszfát pufferben; pH 7,4) transzkardiálisan perfundáltuk. A retrográd jelölt elsődleges érző idegsejteket tartalmazó mindkét oldali L₃-L₅, L₄₋₅, L₃-S₁, Th₁₀₋₁₃ hátsó gyöki ganglionokat és a ganglion nodosumokat eltávolítottuk és utófixálást követően a szövetmintákat 30% szacharózt

tartalmazó foszfát pufferben tároltuk. A szenzoros ganglionokból kriosztáttal 15 µm vastag reprezentatív sorozatmetszeteket készítettünk.

Immunhisztokémia

A metszeteket tartalmazó tárgylemezeket 0,1 M foszfát pufferben (pH 7,4) 2x10 percig mostuk PBS-ben (0,01 M fiziológias foszfát puffer, 0,9% NaCl). Ezt követően a lemezeket a primer antiszérumokat tartalmazó oldatban (0,3% Triton X-100 PBS-ben) 12 órán keresztül 4°C-on inkubáltuk. A primer antitesteket a következő hígításokban alkalmaztuk: poliklonális nyúl anti-InsR antitest (1:500-1:1000), poliklonális tengerimalac anti-TRPV1 receptor antitest (1:1500), monoklonális tengerimalac anti-SP antitest (1:1500), monoklonális egér anti-CGRP antitest (1:1500-1:3000). Az inkubálás végeztével a lemezeket PBS oldattal 3x15 percig mostuk, majd a lemezekre felvittük a szekunder antitesteket tartalmazó oldatot. A másodlagos antitesteket a következő hígításokban alkalmaztuk: számarban termeltetett DL 488 konjugált anti-nyúl IgG (1:500), számarban termeltetett Cy3 konjugált anti-tengerimalac IgG (1:500), és számarban termeltetett Cy3 konjugált anti-egér poliklonális antitestek (1:500). A bWGA kötés detektálását AMCA-konjugált extravidin oldattal (1:500) végeztük. A szekunder antitesteket és a jelölt extravidin markert tartalmazó oldattal a metszeteket nedves kamrában 2 órán át inkubáltuk. Ezután a lemezeket, 3x10 percig PBS oldatban mostuk, és ProlonGold fedőanyaggal lefedtük.

Morfometriai kiértékelés és statisztikai analízis

A metszeteket Leica DMLB fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk, és a metszetekről Retiga 2000 digitális kamerával sorozat felvételeket készítettünk. A felvételek archiválását és további feldolgozását az ImagePro Plus 6 képanalizáló program segítségével végeztük. A bWGA-jelölt elsődleges érző idegsejtek kvalitatív és kvantitatív analízisét az ImageJ programmal végeztük. A bWGA-jelölt sejtek esetében meghatároztuk a neuronok átlagos átmetszeti területét. Immunhisztokémiai vizsgálatainkban meghatároztuk a bWGA-jelölt neuronpopulációban az InsR, a TRPV1 receptor továbbá a CGRP és SP immunpozitivitás, valamint az InsR és a TRPV1 receptor, az InsR és a CGRP illetve az InsR és SP ko-lokalizáció mértékét. Az adatokat átlag ± standard deviáció (SD) értékben fejeztük ki. Az adatok statisztikai kiértékelése a Fisher-egzakt teszttel történt, a Dell Statistica szoftver segítségével. Szignifikáns eltérésnek a $p \leq 0,05$ értéket tekintettük.

EREDMÉNYEK

Retrográd jelölt spinális és vagális testi és zsigeri érző ganglionsejtek morfológiai sajátosságai

A bWGA oltása a kísérleti állatok hátsó lábának talpbőrébe számos visszajelölt sejtet eredményezett a L₃₋₅ hátsógyöki ganglionokban, elsősorban a L₄-es ganglionokban. Három kísérleti állatban 147 visszajelölt ganglionsejtet azonosítottunk, amelyek átlagos átmetszeti területe $311,1 \pm 43,4 \mu\text{m}^2$ volt.

A bWGA musculus gastrocnemiusba történt oltását követően három kísérleti állatban 138 visszajelölt ganglionsejtet azonosítottunk a L₄₋₅ hátsógyöki ganglionokban, elsősorban az L₅-ös ganglionokban. A visszajelölt sejtek átlagos átmetszeti területe $345,8 \pm 55,9 \mu\text{m}^2$ -nek adódott.

A húgyhólyag falába injektált bWGA számos visszajelölt sejtet eredményezett a L_{3-S1} hátsógyöki ganglionokban, elsősorban a L₆-os ganglionokban; négy kísérleti állatban 225 ganglionsejtet azonosítottunk. Kvantitatív morfológiai vizsgálataink szerint a bWGA-jelölt sejtek átlagos átmetszeti területe $339,2 \pm 54,8 \mu\text{m}^2$ -nek adódott.

A hasnyálmirigy eredetű spinális és vagális ganglionsejtek azonosítására a jelölő oldatot a hasnyálmirigy fejébe, testébe és farkába oltottuk. Számos bWGA-jelölt sejtet azonosítottunk a Th₉-L₁ hátsó gyöki ganglionokban, elsősorban a Th₁₁-es ganglionokban, továbbá a jobb- és baloldali ganglion nodosumban. Kvantitatív analízisünk során négy állatból 263 illetve 167 sejtet vizsgáltunk a hátsó gyöki ganglionokban és a ganglion nodosumokban. A méret szerinti gyakorisági hisztogramok vizsgálata során megállapítottuk, hogy a visszajelölt sejtek kis és közepes méretűek. Az átlagos átmetszeti területek $447,2 \pm 39,4 \mu\text{m}^2$ -nek és $585,4 \pm 44,9 \mu\text{m}^2$ -nek adódtak.

A visszajelölt testi és zsigeri spinális és vagális ganglionsejtek TRPV1 receptor immunreaktivitása

A bőr, vázizom, húgyhólyag és hasnyálmirigy eredetű bWGA-jelölt spinális és vagális ganglionsejtek jelentős hányada mutatott TRPV1 receptor immunreaktivitást. A hátsó gyöki ganglionokban a retrográd jelölt hátsó láb talpbőrt, musculus gastrocnemius, húgyhólyagot és hasnyálmirigyet beidegző elsődleges érző idegsejtek 63,1 \pm 3,4%-a, 62,5 \pm 2,7%-a, 65,0 \pm 1,8%-a és 68,2 \pm 4,8%-a mutatott TRPV1 receptor immunpozitivitást. A ganglion nodosumban a bWGA visszajelölt pankreatikus sejtek 64,0 \pm 3,9%-a volt TRPV1 receptor immunreaktív.

A visszajelölt spinális és vagális elsődleges érző idegsejtek InsR immunreaktivitása

A visszajelölt bőr, vázizom, húgyhólyag és hasnyálmirigy eredetű elsődleges érző idegsejtek jelentős hányada mutatott InsR immunreaktivitást a hátsó gyöki ganglionokban és a ganglion nodosumban. Kvantitatív adataink alapján a visszajelölt bőr, vázizom, húgyhólyag és hasnyálmirigy eredetű ganglionsejtek $22,4 \pm 2,8\%$ -a, $21,8 \pm 1,9\%$ -a, $53,4 \pm 3,1\%$ -a és $48,3 \pm 2,6\%$ -a mutatott InsR-immunreaktivitást a hátsó gyöki ganglionokban. Míg a visszajelölt pankreatikus ganglionsejtek $49,1 \pm 2,5\%$ -a mutatott InsR immunpozitivitást a ganglion nodosumban. Statisztikai elemzésünk során megállapítottuk, hogy a visszajelölt testi neuronpopulációk közötti InsR expresszióra vonatkozó különbségek nem szignifikánsak, ahogy a visszajelölt zsigeri neuronpopulációkra sem, míg a visszajelölt testi és zsigeri neuronpopulációk InsR-immunreaktivitására vonatkozó különbségek szignifikánsak ($p < 0,05$).

A visszajelölt testi és zsigeri elsődleges érző idegsejtek InsR és TRPV1 receptor ko-lokalizációja a hátsó gyöki ganglionokban és a ganglion nodosumban

Az InsR és a TRPV1 receptor ko-lokalizációjának feltárása céljából megvizsgáltuk az InsR és TRPV1 receptor ko-lokalizáció mértékét a bWGA-jelölt elsődleges érző idegsejtekben, a TRPV1 receptor immunreaktív neuronok arányát az InsR immunpozitív bWGA-jelölt elsődleges érző idegsejtekben és az InsR immunreaktivitás mértékét a TRPV1 receptor immunpozitív visszajelölt neuronpopulációban.

Elsőként, meghatároztuk az InsR és TRPV1 receptor ko-lokalizáció mértékét a visszajelölt spinális és vagális ganglionsejtekben. Kvantitatív adataink alapján megállapítható, hogy a bőr, a vázizom, a húgyhólyag és a hasnyálmirigy eredetű szenzoros neuronok $16,56 \pm 0,6\%$ -a, $15,33 \pm 1,1\%$ -a, $30,34 \pm 2,1\%$ -a és $23,2 \pm 2,2\%$ -a mutatott InsR és TRPV1 receptor kettős jelölődést a hátsó gyöki ganglionokban, míg a pankreatikus afferensek $35,3 \pm 1,7\%$ -a ganglion nodosumban. Statisztikai elemzésünk során megállapítottuk, hogy a visszajelölt testi neuronpopulációk közötti InsR és TRPV1 receptor ko-expresszióra vonatkozó különbségek nem szignifikánsak, ahogy a visszajelölt zsigeri neuronpopulációra sem, míg a visszajelölt testi és zsigeri neuronpopulációk InsR-TRPV1 receptor kettős jelölődésre vonatkozó különbségek szignifikánsak ($p < 0,05$).

Megvizsgáltuk továbbá a TRPV1 receptor immunreaktivitás mértékét a bWGA-jelölt InsR-immunpozitív neuronpopulációkban. Megállapítottuk, hogy a visszajelölt InsR-immunpozitív

bőr, vázizom, húgyhólyag és hasnyálmirigy eredetű elsődleges érző sejtek $72,7\pm 3,4\%$ -a, $73,3\pm 2,6\%$ -a, $57,1\pm 3,6\%$ -a, és $50,1\pm 3,0\%$ -a mutatott TRPV1 receptor immunreaktivitást a hátsó gyöki ganglionokban. Míg a visszajelölt InsR-immunpozitív pankreatikus elsődleges érző idegsejtek $71,0\pm 5,0\%$ -a mutatott TRPV1 receptor immunreaktivitást a ganglion nodosumban. Statisztikai elemzéseink alapján megállapítottuk, hogy az öt populáció közötti TRPV1 receptor immunreaktivitás mértékére vonatkozó különbségek nem szignifikánsak ($p < 0,05$).

Ezt követően feltártuk az InsR-immunreaktivitás mértékét a visszajelölt TRPV1 receptor immun-pozitív spinális és vagális ganglionsejtek esetében. Kvantitatív adataink alapján megállapítható, hogy a visszajelölt TRPV1 receptor immunpozitív bőr, vázizom, húgyhólyag és hasnyálmirigy eredetű elsődleges érző idegsejtek $25,8\pm 2,2\%$ -a, $25,5\pm 2,4\%$ -a, $43,9\pm 2,3\%$ -a és $34,0\pm 1,36\%$ -a mutatott InsR immunreaktivitást a hátsó gyöki ganglionokban. Az InsR immunreaktivitás mértéke a visszajelölt TRPV1 receptor immunpozitív hasnyálmirigy eredetű elsődleges érző idegsejtek esetén, a ganglion nodosumban $55,4\pm 2,0\%$ -nak adódott. Statisztikai elemzéseink feltárták, hogy a testi és zsigeri neuronpopulációk közötti különbségek szignifikánsak ($p < 0,05$).

A visszajelölt hasnyálmirigy eredetű elsődleges érző idegsejtek InsR és CGRP vagy SP ko-lokalizációja hátsó gyöki ganglionokban és a ganglion nodosumban

Tekintettel a szenzoros neuropeptidek jelentőségére, valamint az inzulin lehetséges szerepére a hasnyálmirigy patológiás folyamataiban, megvizsgáltuk a visszajelölt hasnyálmirigy eredetű elsődleges érző idegsejtek InsR és a CGRP továbbá az InsR és a SP ko-lokalizációját a hátsó gyöki ganglionokban és a ganglion nodosumban.

Megállapítottuk, hogy a bWGA-jelölt hasnyálmirigy eredetű elsődleges érző idegsejtek $33,2\pm 3,7\%$ -a és $54,3\pm 4,4\%$ -a mutatott SP és CGRP immunreaktivitást a hátsó gyöki ganglionokban. Míg, a ganglion nodosumban, a visszajelölt sejtek $40,0\pm 2,1\%$ -a és $25,1\pm 2,9\%$ -a mutatott SP és CGRP immunpozitivitást.

A hátsó gyöki ganglionokban és a ganglion nodosumban a bWGA-jelölt elsődleges érző idegsejtek $14,4\pm 1,2\%$ -a és $24,2\pm 1,0\%$ -a mutatott InsR és SP ko-lokalizációt. Megállapítottuk továbbá, hogy a bWGA-jelölt InsR-immunpozitív neuronok $28,4\pm 1,3\%$ -a és $46,2\pm 1,9\%$ -a mutatott SP immunreaktivitást, míg a bWGA-jelölt SP-immunreaktív elsődleges érző idegsejtek $42,0\pm 4,8\%$ -a és $60,2\pm 4,2\%$ -a mutatott InsR-immunpozitivitást.

Az InsR és a CGRP ko-lokalizáció mértékét is megvizsgáltuk. Kvantitatív adataink alapján megállapítható, hogy a hátsó gyöki ganglionokban és a ganglion nodosumban a bWGA-jelölt elsődleges érző idegsejtek $28,4 \pm 2,7\%$ -a és $8,0 \pm 0,9\%$ -a mutatott InsR és CGRP ko-lokalizációt. A visszajelölt InsR-immunreaktív elsődleges érző idegsejtek $58,3 \pm 5,3\%$ -a és $17,4 \pm 3,6\%$ -a mutatott CGRP-immunpozitivitást, míg a bWGA-jelölt CGRP-immunreaktív elsődleges érző idegsejtek $52,1 \pm 4,4\%$ -a és $32,2 \pm 2,5\%$ -a mutatott InsR-immunpozitivitást a hátsó gyöki ganglionokban és a ganglion nodosumban.

KÖVETKEZTETÉSEK

Az értekezésben összefoglalt vizsgálatok elsőként szolgáltatnak kvantitatív morfológiai és immunhisztokémiai adatokat a szomatikus és viszcerális szerveket innerváló InsR-t kifejező spinális és vagális nociceptív elsődleges érző neuronok megoszlására és neurokémiai profiljára vonatkozóan. Tekintettel a kemoszenzitív afferens idegeknek az exokrin és endokrin hasnyálmirigy gyulladásos folyamataiban játszott kitüntetett szerepére, részletesen vizsgáltuk a szenzoros neuropeptidek (SP és CGRP), a TRPV1 és az InsR lokalizációját és ko-lokalizációját a pankreatikus érző neuronokban.

Megállapítottuk, hogy a húgyhólyagot és a hasnyálmirigyet beidegző kemoszenzitív elsődleges érző idegsejtek szignifikánsan nagyobb arányban expresszálják az InsR-t, mint a testi: a bőrt és a harántcsíkolt izmot ellátó érző neuronok. Az InsR-t kifejező érző neuronok túlnyomó többsége kifejezi a TRPV1 receptort, ami arra utal, hogy ezek a neuronok szerepet játszanak a nociceptív ingerek továbbításában.

Korábbi megfigyelések felvetették az inzulin, az InsR és a TRPV1 receptor kölcsönhatásának jelentőségét különböző patológiás szöveti, elsősorban gyulladásos reakciókban. Eredményeink támogatják, és morfológiai alapot szolgáltatnak ezen feltételezéseknek, és ezen túlmenően arra utalnak, hogy az inzulin plazma és/vagy szöveti szintje befolyásolhatja, elsősorban a zsigeri szervek TRPV1 receptort kifejező afferens idegeit involváló patológiás folyamatokat.

Az elmúlt években számos vizsgálat igazolta a nociceptív, TRPV1-et expresszáló peptiderg szenzoros neuronok részvételét a hasnyálmirigyet érintő kórképekben. Az inzulin és a pankreatikus kemoszenzitív szenzoros neuronok kölcsönhatásának jelentőségét mind az exokrin, mind az endokrin pankréaszt érintő kórállapotokban felvetették. A jelen dolgozatban elsőként bizonyítottuk az InsR, a TRPV1, a SP továbbá a CGRP ko-lokalizációját pankreatikus elsődleges érző idegsejtekben. Eredményeink amellet, hogy alátámasztják a kemoszenzitív

spinális afferens idegek részvételét a pankreász gyulladásos elváltozásainak mechanizmusában, felvetik a vagális afferensek szerepét is a pankreászt érintő patológiás folyamatokban. Az InsR jelenléte a kemoszenzitív afferenseken arra utalhat, hogy az inzulin – az InsR-ok direkt vagy TRPV1 receptorokon keresztül megvalósuló indirekt aktiválódása révén – szerepet játszik az exokrin és/vagy az endokrin pankreász gyulladásos folyamatainak modulálásában.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönettel tartozom Dr. Jancsó Gábor Professzor Úrnak és Dr. Sántha Péternek, témavezetőimnek, a doktori tanulmányaim során biztosított folyamatos támogatásukért, türelmükért, emberi és szakmai tanácsaikért, útmutatásukért.

Külön köszönettel tartozom munkatársaimnak és barátaimnak: Dr. Kovács Zoltán Ambrusnak, Dr. Horváth Szatmárnak, Dr. Demeter Ildikónak, Dr. Gál Andornak, Dr. Kincses Bálintnak, Dr. Nagy Ádámnak, Dr. Andó Bálintnak és Dr. Kádár Bettinának, barátságukért, türelmükért, bátorításukért és segítségükért kutatómunkám során.

Szeretném megköszönni a Pszichiátriai Klinika 2-es és 5-ös Pszichiátriai Osztálya továbbá az Élettani Intézet Funkcionális Neuromorfológiai Laboratóriuma minden dolgozójának a produktív és barátságos munkahelyi légkör megteremtését. Szeretném továbbá megköszönni Dr. Janka Zoltán és Dr. Kálmán János Professzor Uraknak, a Pszichiátriai Klinika volt és jelenlegi vezetőjének, hogy támogatták doktori tanulmányaimat.

Legmélyebb hálámmal tartozom Családomnak szeretetükért, türelmükért és támogatásukért.

Külön köszönettel tartozom Nagyszüleimnek, elsősorban Nagypámnak, Prof. Dr. Lázár Györgynek, aki megismertette velem a természettudományi kutatások szépségét; értekezésemet az Ő emlékének ajánlom.