

**„A protein kináz C izoenzimek vizsgálatának jelentősége a szisztémás lupus erythematosus-ban szenvedő betegek perifériás monocitáiban és limfocitáiban” c.
OTKA (37531) pályázat**

**SZAKMAI BESZÁMOLÓJA
(ZÁRÓJELENTÉS)**

1. Szisztémás lupus erythematosus-ban (SLE) betegségben szenvedő 42 (39 nő, 3 férfi) beteg perifériás T limfocitáiban és monocitáiban vizsgáltuk meg a sejten belüli jelátvitelben nagy jelentőségű protein kináz C (PKC) izoenzimek expresszióját fehérje és hírvivő RNS szinten, és hasonlítottuk össze az egészséges kontroll minták mellett MCTD-s és Sjögren szindrómás betegek sejtjeivel. A tiszta sejtuszpenziókat Miltényi féle mágneses mikrogyöngy sejtizolálási technikával állítottuk elő. A fehérjék mennyiségét „Western Blot”, és a hírvivő RNS mennyiséget pedig reverz transzkripciót követő kvantitatív „real time” QPCR technikával határoztuk meg. Azt találtuk az SLE-s betegekben, hogy a T limfocitáikban a PKC béta, delta, éta, epszilon, théta és zéta, a monocitáikban pedig a PKC delta, epszilon és zéta mennyisége szignifikánsan kisebb mind fehérje, mind hírvivő RNS szinten mint az egészséges kontrollokban és a két másik poliszisztémás autoimmun kórképben. Ez a jelenség SLE specifikusnak tartható, és kapcsolatba hozható az ezen betegekben mások által már leírt, egyéb biokémiai útvonalakat érintő T sejt és monocita működési zavarokkal (2. *Bíró T. et al., „Abnormal Cell-specific expression...”, Scand J. Immunol.*; 5. *Griger Z. et al. „Defected protein kinase C...”, prepared for submission*). A megfigyelt PKC fehérje szintézis zavar transzkripció szintűnek tartható.
2. A glükokortikoszteroid kezelés hatására azonban mind in vivo, mind in vitro emelkedik a T sejtekben és a monocitákban a PKC izoenzimek expressziója, kivéve a T sejtekben a PKC théta. Ez arra utal, hogy a terápiában valóban hatékonyak bizonyuló szteroid nem képes a T sejtek és monociták PKC szintézisében és működésében létrejött zavarok teljes korrekciójára (2. *Bíró T. et al., „Abnormal Cell-specific expression...”, Scand J. Immunol.*; 5. *Griger Z. et al. „Defected protein kinase C...”, prepared for submission*).
3. Az SLE-s monociták kórosan csökkent arachidonsav termelésével kapcsolatban, - amit elsőnek mi írtunk le (Sipka S, J. *Rheumatol.*, 28, 2012-2017, 2001) -, azt találtuk, hogy a jelenség PKC delta csökkent mennyiségével magyarázható, és az arachidonsav

termelő enzimek közül a kalciumtól független foszfolipázok (iPLA2 és DAG lipáz) működéséhez köthető. Ezeknek a vizsgálatoknak a során mutattuk ki, hogy a MonoMac-6 humán monocita sejtvonalban a PKC izoformák expressziója és a hatásuk az arachidonsav termelésre nagyon hasonlít az SLE-s monocitákhoz, ezáltal ezek a sejtek az SLE-s monociták kísérleti modelljének tekinthetők. Ezeknek a sejteknek a használata nagyban segítette elő, hogy pontosan megállapíthattuk az SLE-s betegekben csökkenten működő PKC delta izoenzim kapcsolatát a kalciumtól független, arachidonsav termelő foszfolipázokkal. (4. Griger Z., et al., "The role of protein kinase C..." prepared for submission).

4. Gyógyszerterápia rezisztens, súlyos SLE-s betegek plazmaferézise során igazoltuk, hogy a CD4+CD25+ regulatív (szuppresszív) T limfociták száma szignifikánsan megemelkedik a harmadik kezelés után, ami a betegség aktivitási tüneteinek szignifikáns csökkenésével is jár. Igazoltuk azt is, hogy a regulációs sejtek számának emelkedése az össz T sejt számon belüli szignifikáns arány növekedést jelent. A megfigyelés jelentőségét az adja, hogy a plazmaferézis eljárás jótékony klinikai hatásainak egy újabb elemét figyeltük meg, továbbá a plazmaferézis eljárást olyan beavatkozásnak tekinthetjük, ami - a glükokortikoszteroid hatásokhoz hasonlóan - az immunszuppresszív hatását részben a CD4+CD25+ Fox P3+ sejtek perifériás számának megemelésével éri el (3. Baráth S., „A novel effect of plasmapheresis...”, közlésre elküldve a *Journal of Rheumatology*-hoz 2005 decemberben).
5. A HaCaT keratinocitákban kimutattuk, hogy a PKC alfa és PKC delta serkenti a differenciálódást és apoptózist, míg ezzel párhuzamban gátolja a proliferációt és tumor növekedést immundeficiens egerekben. Ezzel ellentétben a PKC béta és epsilon in vitro és in vivo is növeli a keratinociták sejtszótódását és gátolja a differenciálódást és az apoptózist (1. Papp H., „Opposite roles of protein...”, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2004).