

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: MUDr. Vladimír Štrbák, DrSc.,	Evidenčné číslo projektu: APVV-0235-06
Názov projektu: Bunkový objem a sekrécia inzulínu	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Ústav experimentálnej endokrinológie SAV
	Ústav molekulárnej biológie SAV
	Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače): <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	<p>Bacová Z, Orecná M, Hafko R, Štrbák V. Cell swelling-induced signaling for insulin secretion bypasses steps involving G proteins and PLA2 and is N-ethylmaleimide insensitive. <i>Cell Physiol Biochem.</i> 2007;20:387-396</p> <p>Orečná M, Hafko R, Bačová Z, Podskočová J, Chorvát Jr D, Štrbák V. Different secretory response of pancreatic islets and insulin secreting cell lines INS-1 and INS-1E to osmotic stimuli. <i>Physiol Res.</i> 57: 935-945, 2008.</p> <p>Štrbák V.: Neurons and Cell Swelling-Induced Peptide Hormone Secretion pp 69-86, In: <i>Mechanosensitivity of the Nervous System</i>, A. Kamkin, I. Kiseleva (series editors), 2009, Springer Science + Business Media B.V, pp. 344.</p> <p>Hafko R, Orecna M, Bacova Z, Kolláriková G., Lacik I., Štrbak V. Mechanism of ethanol-induced insulin secretion from INS-1 and INS-1E tumor cell lines. <i>Cellular Physiology and Biochemistry.</i> 2009;24:441-450.</p> <p>Hafko R, Orecna M, Bacova Z, Kirchnerova J, Chorvat D Jr., Štrbak V. Ethanol and urea affect insulin secretion from islets and insulinoma cells by different mechanisms. <i>Biologia. Section Cellular and Molecular Biology.</i> 2009;64(5):1039-1045.</p>
V čom vidíte uplatnenie výsledkov projektu:	Podstatné prehĺbenie vedomostí o mechanizme sekrécie indukovanej zmenou bunkového objemu môže umožniť jej ovplyvňovanie novými nástrojmi.

Charakteristika výsledkov

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Zistili sme, že na rozdiel od konvenčnej glukózou navodenej sekrécie inzulínu pankreatickými ostrovčekmi nie je sekrécia navodená zmenou bunkového objemu sprostredkovaná fosfolipázou A₂, ani G proteínmi. Táto sekrécia nevyžaduje ani účasť Na⁺-K⁺-Cl⁻ transportérov v signalizácii. Exocytóza navodená nabobtnaním bunky vyžaduje intaktné SNARE proteíny, na rozdiel od konvenčnej exocytózy je však N-ethylmaleimide rezistentná. Stimulácia zväčšením bunkového objemu angažuje aj sekrečné granule, ktoré sú nedostupné pri stimulácii glukózou. Sledovanie na INS-1 a INS-1E bunkových líniách ukázalo, že znižovanie obsahu cholesterolu v plazmatickej membráne má inhibičný účinok na sekréciu navodenú glukózou, zatiaľ čo sekrécia navodená zväčšením bunkového objemu je touto zmenou facilitovaná a u INS-1E línie sa dovedy neprítomná odpoveď dokonca objaví. Naopak, pridávanie cholesterolu pôsobí na tento typ sekrécie inhibične. Expresia vápnikových kanálov je podobná u oboch bunkových línií. Sekrécia navodená zmenou bunkového objemu sa u línie INS-1E objaví ak je použité médium zbavené vápnika alebo blokuje jeho transport L alebo P/Q kanálmi. To svedčí o tom, že transport vápnika je u tejto línie funkčný a špecifikum odpovede u tejto línie spočíva v signálnej kaskáde distálne od vápnika. Na rozdiel od línie INS-1 je zväčšením bunkového objemu navodená sekrécia u bunkovej línie INS-1E v prítomnosti zmesi inhibítorov Ca²⁺ kanálov rezistentná na tetanus toxín – môže byť teda nezávislá od SNARE proteínov. Vystavenie buniek hypotonickému médiu vedie už po 30 minútach k zmene expresie stoviek génov, ktoré sú stále analyzované. Tieto výsledky ukazujú na zásadné rozdiely v mechanizme sekrécie vyvolanej hypotonicitou a glukózou: je tu rôzna úloha vápnika, membránového cholesterolu i angažovanie rozdielnej populácie sekrečných granúl.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - anglicky:

We found that in contrast to conventional glucose-induced insulin secretion from pancreatic islets cell signaling for swelling-induced secretion does not involve fosfolipase A₂ and G proteins. Na⁺-K⁺-Cl⁻ transporters are not engaged in the mechanism of induction of this type of secretion. Intact SNARE proteins are necessary for swelling-induced secretion; it is however, N-ethylmaleimide insensitive. An extra pool of secretory vesicles, not available during glucose stimulation, participates in swelling-induced exocytosis. Study on INS-1 and INS-1E tumor cell lines showed, that decreasing membrane cholesterol content has inhibitory effect on glucose-induced and facilitating effect on swelling-induced insulin secretion. In INS-1E cells a positive response to hypotonicity appears only after cholesterol depletion. Expression of calcium channels in both cell types is similar. Cell swelling-induced insulin secretion from INS-1E cells also appears if calcium depleted medium is used, or inhibitors of L or P/Q calcium channels are present in the medium. These results suggest that calcium transporting system is correctly functioning and specific response in this cell line is due to a change at more distal end in signaling cascade. In contrast to INS-1 cells is swelling-induced insulin secretion in INS-1E cells in presence of calcium channel inhibitors resistant to tetanus toxin, it could be independent from SNARE proteins. Exposure of cells to hypotonic medium for 30 min results in change of expression of hundreds of genes, which are being analyzed. The results demonstrate fundamental differences in the mechanism of glucose- and cell swelling-induced secretion: different role of calcium, membrane cholesterol and involvement of an extra pool of secretory granules in osmotically induced exocytosis.

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas so zverejnením údajov v nej uvedených.

Podpis zodp. riešiteľa:

Dátum:

Podpis štatutárneho zástupcu:

Pečiatka: