Abstract

Project Code : PDF/60/2543

Project Title : The role of calcium-dependent signaling pathways on ion transport in endometrial epithelial cells

Investigator : Assistant Professor Chatsri Deachapunya, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

E-mail Address : chatsri@swu.ac.th

Project Period : 1 July 1999 – 30 June 2002

The main objective of this project was to study the role of calcium-dependent signaling pathways on ion transport in endometrial epithelial cells. UTP has been shown to elicit a variety of physiological processes mediated by increases in intracellular calcium. Therefore the effects and mechanisms of UTP on the chloride transport and the sodium transport properties were investigated in primary endometrial epithelial cells. Glandular endometrial epithelial cells were isolated from immature pig uterus and grown on permeable support for 7-10 days. The high resistance monolayers were mounted in Ussing chambers and the voltage-clamp amplifier was used to measure short circuit current (Isc) and transepithelial potential difference. UTP (1 μM) produced a rapid increase in Isc that was inhibited by NPPB and DIDS (Cl^- channel blockers). Current-voltage relationship demonstrated the activation of UTP on apical membrane Cl^- conductance and basolateral membrane K^+ conductance. In addition, UTP produced an inhibition of benzamil-sensitive Na^+ absorption and a reduction in benzamil-sensitive Na^+ conductance in the apical membrane. The UTP-dependent inhibition of Na^+ absorption was mimicked by the calcium ionophore ionomycin and phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA, PKC activator). Calcium-imaging experiments showed that PMA failed to increase in $[Ca^{2+}]_i$ whereas increases in $[Ca^{2+}]_i$ were observed following UTP stimulation. These results indicate that UTP stimulates Cl^- secretion by activation of apical membrane Cl^- permeability and basolateral membrane K^+ permeability. The UTP-stimulated Cl^- secretion appears to involve increases in $[Ca^{2+}]_i$ and activation of Ca^{2+}-activated Cl^- channel. The UTP-dependent inhibition of transepithelial Na^+ absorption and apical Na^+ channels may directly involve activation of PKC, and not increases in intracellular $[Ca^{2+}]$ alone. However, different PKC inhibitors and intracellular Ca^{2+} chelator might be useful for confirming the mechanism of UTP-dependent stimulation of Cl^- secretion and inhibition of Na^+ absorption in endometrial epithelium.

Keywords : UTP, sodium absorption, chloride secretion, PKC, endometrial epithelial cells

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : PDF/60/2543

ชื่อโครงการ : บทบาทของแคลเซี่ยมต่อการขนส่งไอออนในเซลล์เยื่อบุมดลูก

ชื่อนักวิจัย : ผศ. ดร. ฉัตรศรี เดชะปัญญา ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

E-mail Address : chatsri@psm.swu.ac.th

ระยะเวลาของโครงการ : 1 กรกฎาคม 2543 – 30 มิถุนายน 2545

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาบทบาทของแคลเซี่ยมต่อการขนส่งไอออนในเซลล์เยื่อบุ โดยทำการศึกษาผลและกลไกการออกฤทธิ์ของสาร UTP ในการควบคุมการขนส่งคลอไรด์และโซเดียมไอออนในเซลล์เยื่อบุมดลูกที่แยกออกมาเลี้ยงในห้องทดลอง การทดลองใช้เซลล์เยื่อบุมดลูกที่แยกออกมาจากมดลูกหมูที่ยังไม่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ นำมาเลี้ยงบน permeable support จนกระทั่งเจริญเต็มที่จนได้เป็นแผ่นเซลล์ชั้นเดียว หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 7-10 วันนำเซลล์ชั้นเดียวที่มีความต้านทานไฟฟ้าสูง มาติดตั้งเข้ากับ Ussing chambers ที่เชื่อมต่อกับเครื่อง voltage clamp เพื่อทำการวัด short circuit current (Isc) และ transepithelial potential difference (PD) ผลการทดลองพบว่าการให้สาร UTP (1 μM) มีผลเพิ่ม Isc อย่างรวดเร็ว Isc ที่เพิ่มขึ้นจาก UTP สามารถถูกยับยั้งด้วย NPPB และ DIDS (สารยับยั้ง chloride channel) การศึกษา current-voltage relationship แสดงให้เห็นผลของ UTP ในการเพิ่ม Cl^- conductance ของ apical membrane และ K^+ conductance ของ basolateral membrane ผลของ UTP ต่อการขนส่งโซเดียมพบว่าสามารถยับยั้ง benzamil-sensitive current ได้ถึง 80 % และลด Na^+ conductance ของ apical membrane การให้ ionomycin (calcium ionophore) และ phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA, PKC activator) ให้ผลยับยั้งการดูดซึมโซเดียมเช่นเดียวกับผลของ UTP นอกจากนี้ UTP ยังมีผลเพิ่มระดับแคลเซี่ยมภายในเซลล์ในขณะที่ PMA ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงระดับแคลเซี่ยม จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า UTP กระตุ้นการหลั่งคลอไรด์ของเซลล์เยื่อบุมดลูกโดยการเพิ่ม Cl^- permeability ของ apical membrane และเพิ่ม K^+ permeability ของ basolateral membrane กลไกการออกฤทธิ์ของ UTP ในการหลั่งคลอไรด์เกี่ยวข้องกับการเพิ่มระดับแคลเซี่ยมภายในเซลล์ และการกระตุ้น Ca^{2+}-activated Cl^- channel นอกจากนี้ UTP ยังมีผลลดการดูดซึมโซเดียมโดยยับยั้ง Na^+ conductance ของ apical membrane การยับยั้งการดูดซึมโซเดียมอาจผ่านการทำงานของ protein kinase C และไม่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มปริมาณแคลเซี่ยมภายในเซลล์ อย่างไรก็ตามการศึกษาเพิ่มเติมโดยการใช้สารยับยั้ง protein kinase C ชนิดต่าง ๆ กัน และการใช้สารที่ยับยั้งการเพิ่มระดับแคลเซี่ยมภายในเซลล์ จะช่วยยืนยันกลไกของ UTP ในการกระตุ้นการหลั่งคลอไรด์และยับยั้งการดูดซึมโซเดียมในเซลล์เยื่อบุมดลูกได้ดียิ่งขึ้น

คำหลัก UTP, การดูดซึมโซเดียม, การหลั่งคลอไรด์, PKC, เซลล์เยื่อบุมดลูก