

Angiotenzin II és egy angiotenzin receptor blokkoló szer hatása patkány izolált mesenterialis arteriáján

Szóke Zsuzsanna o.h.¹, Antal Mónika o.h.¹, Brassai Attila²

Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, ¹Általános Orvosi Kar, ²Gyógyszertani Tanszék

Efectele angiotenzinei II și unui blocant de receptor AT₁ pe artera mesenterică izolată de șobolan

Am studiat efectele angiotenzinei II (Ag II) și a losartanului pe artera mesenterică izolată de șobolan în două variante experimentale: pe țesut cu endoteliu intact și țesut fără endoteliu. AgII, ca una din cele mai puternice substanțe vasoconstrictoare, utilizată în diferite concentrații, a produs creșterea contracțiilor musculaturii netede, dependent de concentrație. Amplitudinea contracțiilor provocate de Ag II a fost redusă în prezența losartanului, tot dependent de concentrație. Am găsit diferențe statistice semnificative între cele două tipuri de țesut: contracțiile produse de Ag II au fost mai ample în cazul endoteliului intact, iar losartanul a fost un relaxant mai eficient pe țesut lipsit de endoteliu.

Cuvinte cheie: șobolan Wistar, endoteliu, artera mesenterică, losartan, angiotenzina II.

Effect of angiotensin II and of an AT₁ receptor blocker on the isolated mesenteric artery of rats

We studied the effect of Angiotensin II (Ag II) and of an AT₁ receptor blocker on the isolated mesenteric artery of Wistar rats, in two experimental conditions: on tissues with intact endothelium and with denuded endothelium. Ag II, one of the strongest vasoconstrictor substances, used in different concentrations, caused contractions in a concentration-dependent manner. Losartan administered before or after Ag II, in both cases significantly reduced the contractions caused by Ag II. The effects of both agents were influenced by the endothelium: contraction was increased by its presence, relaxation was promoted by its absence.

Keywords: Wistar rats, endothelium, mesenteric artery, losartan, angiotensin II.

Orvostudományi Értesítő, 2008, 81 (1): 54-56

www.orvtudert.ro

A renin - angiotenzin - aldosteron rendszer alapvető jelentőségű a vérnyomás fenntartásában, illetve a hipertonia keletkezésében. Fő hatóanyaga az erősen érszűkítő hatású angiotenzin II (AgII), mely szervezetünk csaknem minden szövetében megtalálható; döntő szerepet játszik abban, hogy adott területen jelentős érszűkület és érfal remodelling alakul ki. Érszűkítő hatása révén jelentősen emeli a vérnyomást, ami tovább fokozódik a szimpatikus idegrendszer aktiválódása révén. Másik jelentős effektusa, hogy az aldosteron termelését serkentve gátolja a víz és só kiválasztást. Az angiotenzin II specifikus receptorai közül klinikailag is jelentős az AT₁ és AT₂ receptor. Az Ag II a simaizomsejtek felszínén lévő angiotenzin 1-receptorhoz (AT₁) kötődve a G-protein-rendszeren keresztül növeli az intracelluláris kalciumion-koncentrációt és ezáltal okoz érszűkítést [4, 5, 6, 11]. A gyógyászatban az AT₁ receptor szelektív antagonistáinak (ARB) van nagy jelentősége, ezek egyik fontos képviselője a losartan. Az antihipertenzív gyógyszereknek ezt a csoportját kiváló tolerálhatóság jellemzi, az ACE inhibitoroktól eltérően nem okoznak renin és angiotenzin II szint emelkedést, nem váltanak ki bradikinin szint növekedést és prosztaglandin felszabadulást, száraz köhögést, angioneurotikus ödémát és következményes catecholamin felszabadulást.

Kísérleteinkben az érendothelium szerepét vizsgáltuk az angiotenzin II és a losartan hatásában: tanulmányoztuk patkányok izolált mesenterialis artériája összehúzódásait endothelium írtott és ép endothellel rendelkező szöveteken. Az endothel rendkívül fontos szerepet játszik az érfal funkcionális integritásának megőrzésében. Funkciójának gyengülése egyértelműen összefüggést mutat a cardiovascularis mortalitással. A különböző cardiovascularis rizikófaktorok kedvező befolyásolása mellett az endothelfunkcióra kedvezően ható gyógyszerek közé sorolhatók az ACE-gátlók, a kalciumcsatorna-blokkolók, a statinok és a fibrátok, valamint

a nebulolol. Az AT₁ receptor antagonisták endothel hatásáról viszonylag kevés adattal rendelkezünk [2, 8, 12]. Az ACE gátlással szemben az AT₁ receptor blokkolás alatt változatlanul ható ACE enzim (kinináz II) lebontja a bradikinin, az Ag II szabadon képződik. In vitro és állatkísérletek szerint az AT₁ receptor antagonisták javíthatják az endothel diszfunkciót (Caputo 1995, Maeso 1998, Porter 1999) [2, 3]. A helyzetet bonyolítja, hogy az AT₁ receptor blokkásban a megnövekedett Ag II aktivitás az AT₂ receptorokon keresztül pedig növeli a bradikinin és NO képződést (Drexler 1999).

Anyag és módszer

A kísérlet folyamán Wistar-Kyoto típusú patkányok (200-250 gramos) ereit használtunk. 30 darab hímnemű állatot éteres altatás után dekapitáltunk és felboncoltunk, majd eltávolítottuk a mesenterialis artériát. A kipreparált gyűrű alakú (2-3 mm) artériát fémnyergekre húztuk föl, azután pedig kifizítve (2 g-ig) szervfürdőbe helyeztük. A szöveteket 36 C°-os oxigenizált (95% O₂-5% CO₂) Krebs-Henseleitoldatban tartottuk életben 4-6 órán keresztül, azzal is biztosítva a fiziológiai körülményeket, hogy a perisztaltikus pompának köszönhetően a szövetek állandó átáramlást kaptak. A kísérletek felét ép endothellel rendelkező érfalon, a másik felét pedig endothel írtott szövetpreparátumon végeztük. Az endothel írtás mechanikus módszerrel történt, az artéria gyűrűk belső rétegét túvel körkörös mozdulatokkal távolítottuk el [9]. In vitro adagolt hatóanyagok hatásait figyeltük; minden esetben hat kísérletet végeztünk, a kémiai ingerlések közt 45-60 perces relaxációs idő telt el. A kezdeti 15-20 perces relaxációs idő után a szövet preparátumokat első lépésben phenylephrinnel húztuk össze az izomzat életképességét vizsgálva, majd acetilkolinral elernyesztettük az endothelium épségét tanulmányozva. Számítógép



segítségével izotóniás transduceren keresztül négy csatornás AD instruments-Chart-recorderrel regisztráltuk a kontrakciókat és a relaxációkat, a feldolgozás és görbeillesztés Sigma Plot programmal történt. Kísérleteinkben a szövetpreparátumokat kumulatíván adagolt Ag II-vel húztuk össze, különböző koncentrációkat 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M- használva. A losartant öt féle koncentrációban 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M- alkalmaztuk, majd 10^{-8} M oldatos előinkubáció után is megfigyeltük az angiotenzin II okozta összehúzódásokat. A kapott értékeket gramban adtuk meg. A statisztikai elemzések Microsoft Excel 2003, SPSS 10.0 program segítségével történtek. A szignifikancia számításához párosított T-tesztet használtunk $p < 0,05$ ($n \leq 6$) minősült statisztikailag szignifikánsnak.

Eredmények

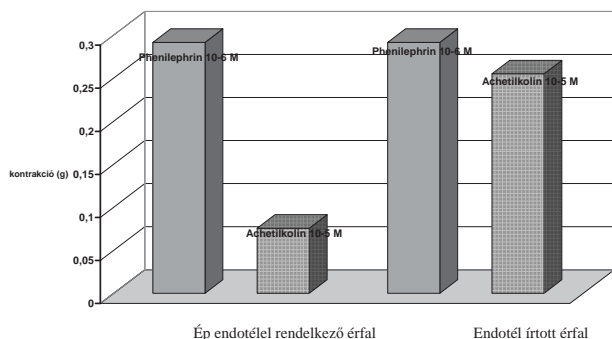
Minden esetben a szövetek életképességét igazolta, hogy a 10^{-6} M phenylephrin képes volt kiváltani a maximális összehúzódást. A mért összehúzódások középértéke $0,2916 \pm 0,013$ gram volt, az endothel írtott és az ép endothellel rendelkező szövetek között szignifikáns különbség nem mutatkozott. Acetilkolinnal ernyesztettük a szöveteket, az endothelium épségét tanulmányozva, a kizárási kritériumok a következők voltak: endothel írtott esetben: 10^{-5} M acetilkolin kevesebb mint 20% relaxációt okozzon, ép endothel esetében: 10^{-5} M acetilkolin nagyobb mint 60%

relaxációt okozzon. Kísérleteink során a következő átlag értékeket kaptuk, exstirpált endotheliumon 16%-os relaxáció, és endothel intakt szöveten 74%-os elernyedés volt észlelhető (1. ábra). Az egészséges endothelből acetilkolin hatására felszabaduló nitrogén monoxid (NO) az ép endotheliumú szöveten vasodilatációt okoz, míg az exstirpált szövetpreparátum tágulás helyett vasoconstrictióval válaszolt.

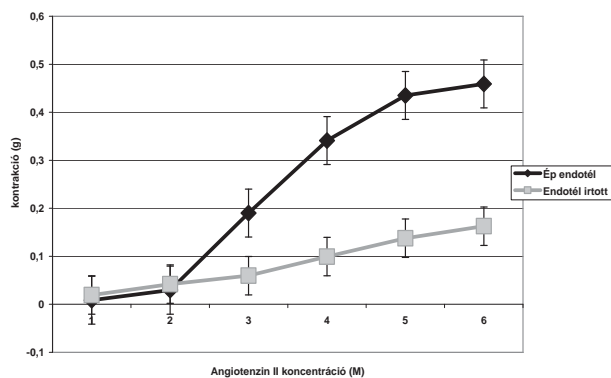
Angiotenzin II jelenlétében az összehúzódások mértéke a koncentráció függvényében emelkedett, a legnagyobb értékeket 10^{-5} M koncentrációnál érte el mind a két esetben. Ag II kumulatív hatásgörbéje endothel írtott és ép endotheliumú szövetpreparátum esetén szignifikáns különbséget mutatott: az exstirpált endothel esetén az összehúzódások nem voltak olyan kifejezettek, az intakt endothellel rendelkező erek háromszor magasabb értékeket mutattak mint az endothel mentes érfal: 0,459 gram: 0,1626 gramhoz viszonyítva (2. ábra).

A megtartott endotheles éren Ag II okozta maximális kontrakció magasabb volt mint a phenylephrin által kiváltott összehúzódás. Viszont endothel hiányában fordított viszony érvényesül, az Ag II okozta kontrakció kisebb volt mint a phenylephrin hatása (3. ábra).

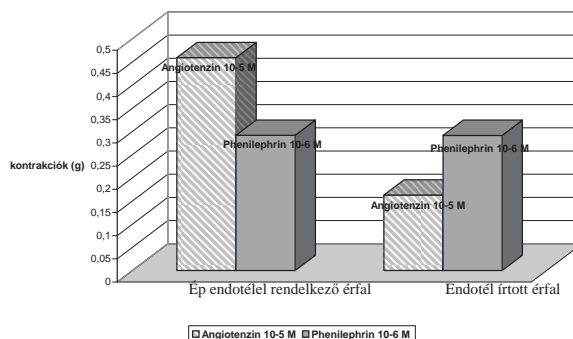
Az Ag II-vel összehúzott éren a losartan hatása is koncentráció függő volt, a töménység növekedésével fordított arányban csökkentek a kontrakciók, a legnagyobb csökkenés 10^{-4} M-nál volt észlelhető. A losartan antagonist hatása az endothelium meglétekor kifejezettebb volt (-0,0695 g) mint endothelium hiányában (-0,0511 g) (4. ábra).



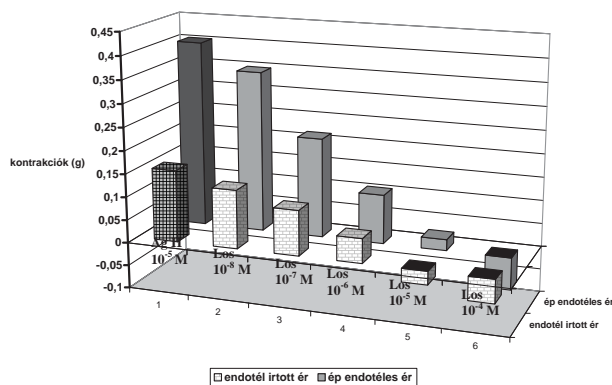
1. ábra. Phenylephrin okozta összehúzódások és acetilkolin okozta elernyedések



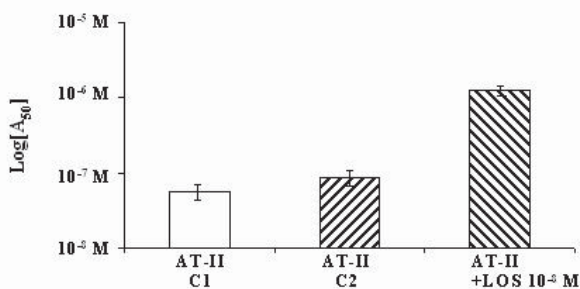
2. ábra. Angiotenzin dózis-hatásgörbe



3. ábra. Angiotenzin II és phenylephrin okozta összehúzódások



4. ábra. Losartan hatásai



5. ábra. Angiotenzin okozta összehúzódások losartan előinkubációjában

Előinkubációban alkalmazva a losartant, az Ag II hatását csökkentette. Ebben az esetben az Ag II-ből a legnagyobb koncentrációra (10⁻⁶ M) volt szükség ugyanazon összehúzódás eléréséhez, amit máskor az Ag II kisebb koncentrációjánál is képes kiváltani (5. ábra).

Megbeszélés

Az angiotenzin II hatása minden esetben az érfal összehúzódását eredményezte, ami könnyen ellensúlyozható volt már kis koncentrációjú losartannal. A losartan szelektíven gátolja az Ag II kötődését az AT₁-receptorokhoz és így okoz artéria tágulatot. Az angiotenzin receptor blokkolók sok egyéb hatásuk eredményeként csökken a vérnyomás, csökken a bal kamra hipertrófia és az érfali remodelling. A legújabb vizsgálatok biztató eredményeket mutatnak arra vonatkozóan is, hogy az ARB-k gátolhatják a diabétesz mellitusz, a szívelégtelenség és a pitvarfibrilláció kifejlődését is. Az endothel diszfunkció javításában is kulcsszerepet játszanak. Mindezen kedvező hatásuk nem funkcionális, inkább vazoszerkezeti változásokon alapszik [7].

Az endothel réteg megléte illetve a hiánya mindkét szer hatását befolyásolta. Az endotheliummal rendelkező érkészítményeken az Ag II szignifikánsan erősebb összehúzódást okozott, mint az endotheliumtól megfosztott készítményeken; utóbbiakban viszont a losartan ellazító hatása volt kifejezettebb. Ezek szerint az angiotenzin II és az angiotenzin AT₁ receptor blokkolás hatása endothelium függő. Így eredményeink a renin – angiotenzin rendszer és az endothel funkció szoros kapcsolatára utalnak.

Az angiotenzin II AT₂ receptoron keresztül létrejövő értágító hatásában az endothelium és az abból felszabaduló hatóanyagok, elsősorban NO szerepét többen igazolták [1, 8, 10]. Ezzel szemben az AT₁-es receptoron át érvényesülő érszűkítő hatásban az endothelium szerepére nézve többféle még kevésbé tisztázott elképzelés létezik [1,12]. Elképzelhető hogy az Ag II direkt simaizom összehúzó hatását erősíti

által hogy endotheliumon keresztül endothelin felszabadulást is hoz létre.

Az atherosclerosis korai jeleként létrejövő endoteliális diszfunkció jól jellemezhető a vascularis tónus szabályozásának egyik legfontosabb tényezőjének, a nitrogén-monoxidnak csökkent hatásával. Ennek hátterében csökkent termelés, fokozott felhasználás vagy rossz biohasznosulás állhat. Az endothelre ható szerek közül a nitrogén-monoxid biohasznosulást fokozó szerek a jövőben fontos terápiás lehetőséget jelenthetnek az érbetegségek kezelésében, de több klinikai tanulmány alapján hasznosnak bizonyultak az angiotenzin receptor blokkolók is [2, 3].

Irodalom

1. Batenburg W.W., Tom B., Schuijt M. P. et al. - *Angiotensin II type 2 receptor-mediated vasodilation. Focus on bradykinin, NO and endothelium-derived hyperpolarizing factor(s)*, Vascular Pharmacology, 2005, 42:109-118.
2. Császár A. - *Az endothel-diszfunkció és befolyásolási lehetőségei*, Háziorvos továbbképző szemle, 2004, 9:366-369.
3. Farkas K. - *Endothél diszfunkció dyslipidaemiában - A renin angiotenzin rendszer szerepe*, LAM 2006; 16(6):535-541.
4. Farsang Cs. (szerk) - *A hipertónia kézikönyve*, Medicina Kiadó, Budapest, 2001, 81-107.
5. Fürst Zs.(szerk) - *Farmakológia*, Medicina Kiadó, Budapest, 2006, 524-531.
6. Rus J., Muresan K., Ruff R., Brassai A. et al. - *Renin-angiotenzin rendszerre ható gyógyszerek befolyása tengerimalac vas deferens összehúzódásaira*, EME Orvostudományi Értesítő, 2006, 79(2): 235- 240.
7. Pál K., Dénes L. - *Az antihipertenzív kezelésen túl a kardiiovaszkuláris rizikó csökkentésének lehetősége angiotenzin receptor-blokkolóval*, Hippocrates - családorvosi és foglalkozás-egészségügyi folyóirat, 2007, 9(2).
8. Schiffrin E. L., Park J.B. - *Correction of arterial structure and endothelial dysfunction in human essential hypertension by the angiotensin receptor antagonist losartan*, Circulation, 2000, 101:1653-1659.
9. Todiraş M. - *Interrelaţii dintre factorii vasomotorici locali şi rolul lor în reglarea tonusului vascular*, Teză de doctor habilitat în medicină, Chişinău, 2006.
10. Tsutsumi Y., Matsubara H., Masaki H. et al. - *Angiotensin II type 2 receptor overexpression activates the vascular kinin system and causes vasodilation*, J. Clin. Invest, 1999, 104(7):925-935.
11. Vizi E. Sz. - *Humán farmakológia*, Medicina Kiadó, Budapest, 2002, 503-515, 524-528.
12. Watanabe T., Barker T. A., Berk B.C. - *Angiotensin II and the Endothelium*, Diverse Signals and Effects, Hypertension, 2005, 45:163-169.