

Az endothelium eredetű ATP mint esetleges noradrenalin felszabadulás-modulátor a tengerimalac tüdőartériájában

Brassai Attila¹, Bán Erika-Gyöngyi¹, Lendvai Balázs²

¹Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, Gyógyszertan Tanszék,

²Magyar Tudományos Akadémia Kísérleti Orvostudományi Intézete, Budapest

ATP-ul de origine endoteliană ca modulator al eliberării noradrenalinei în artera pulmonară izolată de cobai

Introducere: Acțiunea vasoconstrictoare a noradrenalinei este influențată de către mai mulți factori neurohumorali, printre care probabil și ATP-ul. Scopul acestor experimente era să detectăm un eventual efect neuromodulator al ATP-ului endotelial. **Material și metode:** Am aplicat stimul electric asupra arterei pulmonare izolate, după care am măsurat cantitatea de noradrenalină radioactivă eliberată. Diferența dintre cele patru grupe experimentale a constat în faptul că în două grupe am denudat endoteliul și în două grupe am adăugat inhibitorul selectiv al receptorilor purinici, Reactiv Blue 2. **Rezultate:** În cazul celor patru grupe rezultatele obținute s-au dovedit a fi asemănătoare, diferența dintre ele nu a fost statistic semnificativă. **Concluzii:** Ca urmare a rezultatelor se poate concluziona, că (în experimentele noastre) ATP-ul endotelial nu a prezentat efectul neuromodulator presupus.

The endothelial ATP as possible neuromodulator on noradrenaline release in guinea pig pulmonary artery

Introduction: The vasoconstrictor effect of noradrenaline is influenced by many neurohumoral agents. We investigated if the endothelial ATP has such an effect on the release of noradrenaline. **Materials and Methods:** We measured the release of tritiated noradrenaline after electrical field stimulation. The difference between the four experimental groups was that in two groups we removed the endothelium and in two groups we used the selective purinoreceptor blocker, Reactive Blue 2. **Results:** The results in all the four groups were broadly the same, the differences were not statistically significant. **Conclusion:** The endothelial ATP didn't show the presumed neuromodulator effect on noradrenaline release.

Orvostudományi Értesítő, 2007, 80 (3): 207-209

www.emeogysz.ro

Az erek endotheliumának jobb megismerése napjainkban is az orvostudomány egyik prioritása. Jól ismertek azon endothelium-eredetű molekulák, melyek igen fontos szerepet játszanak, mint neurotranszmitterek vagy modulátorok (pl. az endothelin vagy az NO) [2,5]. Ezen molekulák közé sorolható az ATP (adenozin-trifoszfát) is, mely az ismert energetikai jelentősége mellett fontos, mint a noradrenalin ko-neurotranszmittere a szimpatikus idegrendszerben [7], de az adrenerg ingerületátvitelt mint modulátor is befolyásolja [9,10].

Ezen fontos molekula neuromodulátor hatását speciális receptorokon, az ún. purinoceptorokon fejt ki, melyeknek ma már több típusa és altípusa ismeretes [1,3,4]. Ezen receptorok egy része poszt-szinaptikusan helyezkedik el (a sejttesten vagy a dendritnyúlványokon), és ezek felelősek a gyors excitatorikus hatásért a szimpatikus ingerlés során. A mi szempontunkból a legjelentősebbek a P_{2Y} elnevezésűek, melyek preszinaptikus lokalizációval bíró, extracelluláris receptorok [6,8]. Fő élettani szerepük a noradrenalin felszabadulásának a gátlása. PTX-érzékeny, G-proteinhez kapcsolt receptoroknak írták le őket (von Kügelgen, Starke), ahol a hatásmechanizmus alapja a kalcium ionok beáramlásának a gátlása. Ezen receptoroknak van egy szelektív antagonistája az ún. Reactive Blue 2 (RB2).

Anyag és módszer

Hím fehér tengerimalacokat (300-500 g-os testsúlyúak) először dietiléter segítségével elaltattunk, majd megöltük és kivéztettük e kísérleti állatokat. Jeges Krebs-oldatban kioperáltuk az arteria pulmonalist, majd egyes kísérletekben finom dörzsöléssel eltávolítottuk az endotheliumot. Ezután triciált noradrenalinval kezeltük a szöveteket. A

kísérlet alatt végig 95% oxigént és 5% szén-dioxidot tartalmazó gázkeveréket áramoltatunk át a Krebs-oldaton. A gyűrű formájú preparátumok két végét megkötöttük, majd kifeszítettük két kis acélhorog közé. Ezután a preparátumokat 60 percig pihenni hagytuk, az állandó friss Krebs-áramoltatás mellett, majd az átáramló Krebs-oldatot kémcsövekben felfogtuk (3 perc után cserélődik egy kémcső, így 20 megtöltése 60 percet igényel). A kísérletek során mindig alkalmaztunk elektromos ingerlést is (2 s, 360 shock, 10 Hz) a 3 (S1) és a 13. (S2) kémcsőnél.

A radioaktivitást folyadékszintillációs spektrométerrel regisztráltuk. A végén a szövetek súlyát megmértük és 10%-os triklórecetsavval homogenizáltuk.

A kapott eredményeket egy megfelelő számítógépes program segítségével értékeltük ki, és szignifikancia-számítást végeztünk (ANOVA egyirányú variációanalízis, majd Tukey-teszt, $p < 0,05$ minősült szignifikánsnak).

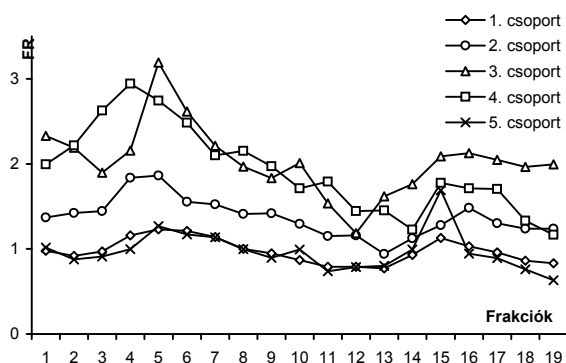
Négy kísérleti csoport volt: az első a kontrollcsoport (intakt endothelium, RB2 nélkül). A másodikban eltávolítottuk az endotheliumot, de itt sem adunk RB2-t. A harmadikban intakt endothelium mellett bevezettük (a 8. kémcsőtől kezdődően) állandó áramoltatással a purinoreceptorblokkoló RB2-öt. A negyedik csoportban hasonló módon adtuk ezt a szert, de előtte eltávolítottuk az endotheliumot. Mind a 4 kísérletsorozatban 5-5 kísérletet végeztünk.

Eredmények

Az alábbi ábrákon feltüntettük minden esetben az 5 kísérletsorozat (series) valamint az egyes esetekben kapott frakcionált arányt, százalékban kifejezve (FR%).

A kontrollcsoportban a tüdőartériát ép endothelium és





1. ábra. Eredmények a kontrollcsoportban

RB2 hozzáadása nélkül ingereltük. Ezen eredmények az 1. ábrán vannak bemutatva.

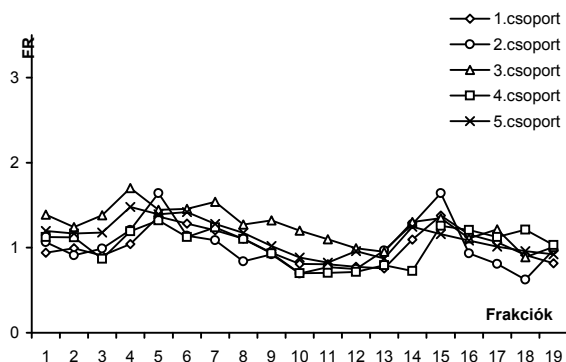
A második kísérleti csoportban az endotheliumot finom dörzsöléssel eltávolítottuk. Ebben az esetben sem adagoltunk RB2-t. Az eredményeket összehasonlítva a kontrollcsoport esetében kapott eredményekkel (átlagok, S2/S1) a különbség nem bizonyult statisztikailag szignifikánsnak ($p > 0,05$). A második csoport eredményeit a 2. ábra mutatja be.

A harmadik kísérleti csoportban az endothelium sértetlen maradt, de a 8. kémcsőből kezdve bevezettük a RB2 adagolását. Ilyen körülmények között azt tapasztaltuk, hogy a kontrollcsoport átlag S2/S1 arányához viszonyítva az itt mért átlag S2/S1 arány nem mutatott statisztikailag szignifikáns különbséget ($p > 0,05$). A harmadik kísérleti csoportban kapott eredmények a 3. ábrán kerültek összefoglalásra.

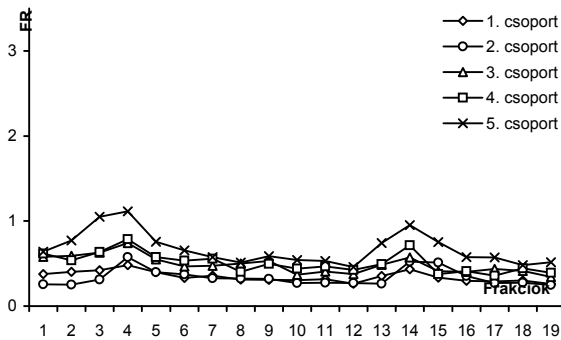
A negyedik kísérleti csoportban az előzőekben leírt módon ingereltük a tüdőartériát, amelyről azonban előzetesen finom dörzsöléssel eltávolítottuk az endotheliumot. A denudált artéria esetében a 8. kémcsőből kezdődően bevezettük a RB2 adagolását is. A negyedik csoport eredményeit a 4. ábra mutatja be.

A négy csoport átlagértékeit az 5. ábrán hasonlítottuk össze.

Látható, hogy az e kísérletsorozat során kapott átlag S1/S2 arány sem mutatott statisztikailag szignifikáns különbséget a kontrollcsoport, vagy pedig a 2., 3. vagy 4. csoport esetében mért átlag S1/S2 arányhoz képest ($p > 0,05$).



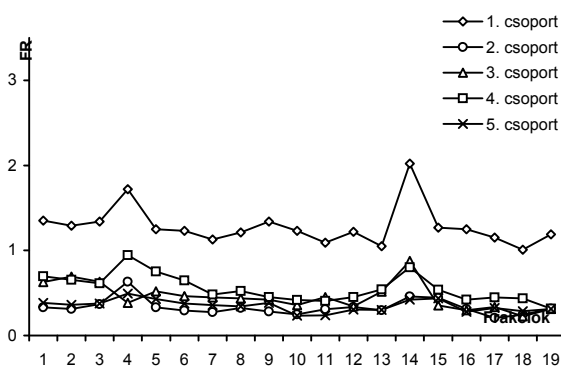
2. ábra. Eredmények a második csoportban



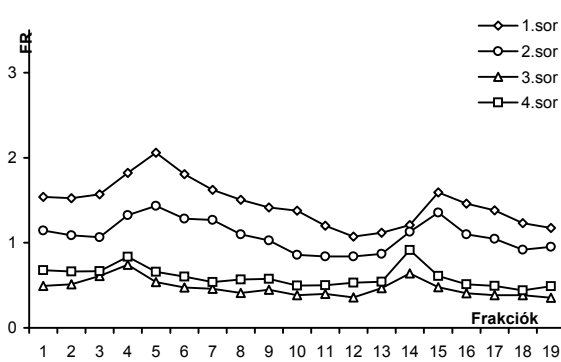
3. ábra. Eredmények a harmadik csoportban

Megbeszélés

Jelen kísérletsorozatban az endothelium eredetű ATP eszeleges neuromodulátor hatását kívántuk tisztázni. Az ATP természetesen származhat az endotheliumon kívülről is (pl. az idegből vagy az ér sima izmából), de módszerünkkel szelektíven lehetett követni az endothel eredetű ATP frakciót és annak esetleges neuromoduláló hatását a noradrenalin felszabadulására. Mivel az ATP gátolja a noradrenalin felszabadulást, az endothelium hiánya az innen eredő ATP ezen gátló hatását kellett volna hogy csökkentse, vagyis egyszerűsítve a NA felszabadulás fokozódása volt várható a gátlás gátlása révén. Ezzel



4. ábra. Eredmények a negyedik csoportban



5. ábra. A négy csoport átlagértékei

szemben az ingerlésre adott noradrenalin felszabadulás a négy csoportban nem mutatott statisztikailag szignifikáns különbséget,

Következtetés

Kísérleteink során mi nem találtunk ilyen neuromodulátor hatást az endotheliumból származó ATP részéről.

Irodalom

1. Aldasoro M., Martinez C., Vila J. M. et al. - *Endothelium-dependent component in a contractile response of human omental arteries to adrenergic stimulation*, Eu J Pharmacol, 1993, 250:103-107.
2. Brassai A., Makó K., Domjanschitz L. et al. - *Lack of prejunctional modulation of noradrenaline release by endogenous nitric oxide in guinea pig pulmonary artery*, Neurochem Intern, 2002, 1183:1-5.
3. Ghanayen M. S., Gordon, J. B. - *Modulation of pulmonary vasomotor tone in the fetus and neonate*, Resp Res, 2001, 2:139-144.
4. Grainger I., Boachie-Ansan G. - *Anandamide-induced relaxation of sheep coronary arteries: the role of endothelium, arachidonic acid metabolites and potassium channels*, Br J Pharmacol, 2001, 134:1003-1012.
5. Matsuda H. et al. - *Endothelins contract guinea pig pulmonary artery and enhance its adrenergic response via ET(A) receptors*, Clin Exp Pharmacol Physiol, 1996 23:379-385.
6. Sperlág B., Erdélyi F., Szabó G. et al. - *Local regulation of 3H-noradrenaline released from isolated guinea-pig right atrium by P2x-receptors located on axon terminals*, Br J Pharmacol, 2000, 131:1775-1783.
7. Wikland M. P., Ohlen A., Cederquist B. - *Adrenergic neuromodulation by endothelin in guinea pig pulmonary artery*, Neurosci Lett, 1989, 101:269-273.
8. Vizi E.S., Sperlág B. - *Receptor- and carrier mediated release of ATP of postsynaptic origin: cascade transmission*, Prog Brain Res, 1996, 120: 159-169.
9. von Kügelgen I., Kurz K., Starke K. - *Axon terminal P2 purinoceptors in feedback control of sympathetic transmitter release*, Neurosci, 1993, 56:263-267.
10. von Kügelgen I., Stoffel D., Starke K. - *P2-purinoceptor-mediated inhibition of noradrenaline release in rat atria*, Br J Pharmacol, 1995, 115:247-254.