

HÖGYES ENDRE ÉLETE ÉS KORA 100 ÉV TÁVLATÁBÓL

Szollár L.

Semmelweis Egyetem ÁOK Kóréletani Intézet, Budapest

Högyes Endre (1847. XI. 30. Hajdúszoboszló – 1906. IX. 9. Budapest) halálának 100. évfordulójára emlékezünk.

III. éves orvostanhallgató korában többedmagával megszervezte a hallgatók "önképzőköri" testületét (annak szabályzatát maga fogalmazta meg), mely a mai diákkör ősenek is tekinthető. Tanári pályája során mindvégig gondot fordított arra, hogy a kísérleti bűvárkodásba bevonja az arra érdemes hallgatókat, a sikeresen tevékenykedőkből kerültek ki intézetének munkatársai és váltak valóban tanítványaivá.

875. március 8-án kelt kinevezése a kolozsvári egyetem kórtani és gyógyszer-tanszékének élére. Kolozsvárott lényegében (új egyetemről lévén szó) előzmények nélkül kerül sor az általános kór- és gyógytan oktatásának bevezetésére. Meghívás alapján kerül 1883 szeptemberétől a budapesti általános kórtani tanszék élére. Hitvallása a kórélettanról: "A kórtan, melyet helyesen nem tekinthetünk másképpen, mint olyan tudományt, melynek feladatát az életjelenségekben fellépő zavarok törvényeinek kutatása kell, hogy képezze....(Orv. Hetilap 18: 141-, 181-, 201-, 221- (1874)

Említésre érdemes veseélet-tani munkássága; a később Bárány Róbert által Nobel-díjjal jutalmazott labirintus-kutatások elsősorban a kolozsvári évekre esnek; míg budapesti éveiben meghatározó volt a vesztettségellenes oltás új módozatának kialakítása.

Högyes tanszéki utóda Balogh Kálmánnak, Markusovszkytól veszi át és haláláig folytatja az Orvosi Hetilap szerkesztését, míg Balassa utóda a Magyar Orvosi Könyvkiadó Társulat titkáráként majd elnökeként.

Róla is elmondható, amit mestere, Balogh Kálmán emlékére mondott: "A szellemi munka, mit agyveleje kifejtett, megmarad részben írott műveiben, részben bennünk, tanítványaiban, akik tőle átvettük, akik azt másoknak részint eredeti alakjában részint átdolgozva, csiszolva, tovább fejlesztve megint tovább adják. E szellemi munka ma még részben az ő nevéhez van kötve, azután majd egy része a mienkhez fog fűződni; majdan ismét utódaink veszik át, végre lassanként belevegyül nemzeti kultúránk szellemi munkájának közös nagy áradatába..." (Emlékbeszéd Balogh Kálmán fölött, 1890. okt. 27., Akadémiai emlékbeszédek VI. kötet 9. szám)

Högyes Endrére emlékezve néhány olyan mozzanatot elevenítünk fel, mely üzenet lehet egy mai egyetemi oktatónak is, és melyek szelleme ars poeticát formáló erő is lehet a jövő magyar orvos-kutató, közéleti értelmiségi nemzedékek nevelésében is.

DR SÓS JÓZSEF A KUTATÓ ORVOSPROFESSZOR

Pucsek József

Országos Sportegészségügyi Intézet, Kutató Osztály, Budapest

Dr. Sós József professzor úr a kor tudományos problémáival 1928-ban orvos egyetemi tanulmányainak végzése közben ismerkedett meg. Diákkörösként a Debreceni Élettani és Általános Kóréletani Intézetben Verzál professzor mellett dolgozik díjas demonstrátorként. Első tudományos közleményével 1931-ben pályadíjat nyert. Az egyetem elvégzése után érdeklődése a népegészségügy problémái felé fordul és gyermek egészségügyi felméréseiről dolgozatokat közöl. 1936-ban Mansfeld Géza professzor mellett a Pécsi Tudomány Egyetem Gyógyszertani és Általános Kórtani Intézetében folytatja tudományos munkásságát. A 30-as évek közepétől a 40-es évek közepéig megjelent dolgozataiban népegészségügyi témákról ír. 1941-ben az Országos Közegészségügyi Intézet Néptáplálkozás Kutató Osztályának szervezője és vezetője. 1942-ben kiadják „A magyar néptáplálkozás” című könyvét. 1948-ban a Budapesti Kóréletani Intézet igazgatója lesz. A közegészségügyi problémák mellett egyre intenzívebben foglalkoztatják a magyarországi táplálkozási viszonyok, a golyva, a kalcium anyagcsere és a D vitamin szerepének kutatása. A pajzsmirigy eredetű ártalmak tanulmányozása mellett vizsgálja a vérszegénység okait, és egyre jobban elmélyed az egyes anyagcsere károsodások kórélettanában. Az anyagcsere folyamatok kutatása révén az aminosav hiányos táplálkozás, az antimetabolitok szerepének tisztázásáig jut el. Hangsúlyozza az antimetabolitok jelentőségét az anyagcsere kutatás és az orvosi gyakorlat szempontjából. A táplálkozási hiánybetegségek és az antimetabolitok hatásának tanulmányozása az 50-es évek kórélet-tani vizsgálatainak alapjait képezi. A kardiovasculáris, a hormonális és az idegrendszeri és zsíryanagcsere kutatásokat érintő vizsgálatokkal hazai és nemzetközi szinten is komoly sikereket érnek el. Munkásságának utolsó fejezetét a civilizációs betegségek kutatása és patomechanizmusának tisztázása jelentette. Az általa megadott tudományos témák irányításának összefogásának és értékelésének mestere volt. A nagy ideából minden laboratórium kapott egy csipetnyit és a csipetnyinek tűnő munkákból kandidátusi illetve doktori értekezések születtek és egy tudományos nemzedék nevelkedett. Sós iskola növendékei követve mesterük példáját kutató intézetek vagy klinikák tanszékevezető professzoraiként a magyar orvostudomány jeles képviselőivé váltak.

„Sós József és a közegészségtan.”

Kertai Pál

SÓS JÓZSEF, AZ EMBER ÉS A TANSZÉKVEZETŐ

Dési Illés

SZTE ÁOK Népegészségtani Intézet

A szerző egykor a SOTE Kóréleti Intézet diákköröseként—adjunktusaként, Sós József professzor közvetlen beosztottjaként dolgozott. Emlékei alapján felvillantja Sós professzor emberi arcát, magatartását, munkatársaihoz való viszonyát.

Tanítványai rendkívül sokat köszönhetnek a professzornak mind szakmailag, mind emberileg, jelentős részük vagy itthon, vagy külföldön vezető állásba került.



SÓS JÓZSEF, A KÖZÉLETI EMBER

Frenkl Róbert

Semmelweis Egyetem, Testnevelési és Sporttudományi Kar

A szó klasszikus értelmében volt Sós József közéleti ember. Evidenciaként dolgozott a köz érdekében, a közjó szolgálatában. Ez, a társadalmi érdek határozta meg tudományos kutató munkáját, jellemezte, mint embert, ebben az értelemben a köz szolgálata integrálta személyiségét. Ez annál sajtóosabb, mert nem vonzották, legfeljebb megtalálták bizonyos pozíciók, inkább befelé forduló alkat volt, akit éppen a férfikor delén, súlyos betegség is visszafogott.

Már a második világháború előtt, mint az OKI Néptáplálkozástudományi Főosztály – 1941-47 – vezetője, illetve a Golyvakutató Állomás (1943) megszervezője közéleti szereplő lett. A háború után az Egészségügyi Minisztérium Egészségvédelmi Főosztályát szervezte meg, illetve vezette. (1945-48)

1948-ban nevezték ki egyetemi tanárrá és lett a BOTE Kórélettani Intézet igazgatója, egészen 1973-ban bekövetkezett eltávkozásáig. 1948 és 57 között az Intézetre koncentrált, ekkor, - 1951 - zajlott le betegsége. Közéleti szereplésének kibontakozása 1957 és 1968 közé tehető. 1957-ben lett az Egészségügyi Tudományos Tanács elnöke. (1957-1968) A sorsfordító hatvanas években az egészségpolitika meghatározó személyisége. – 1962-64 között tudományos rektorhelyettes, 1964-67 között rektor a Budapesti Orvostudományi Egyetemen. Nevéhez fűződik a realitások helyreállítása irányában történő demokratizálódó vezetési stílus újjáéledése az egyetemi életben, a rendszerváltozásig ható következményekkel. Munkássága maradandó értékei közül kimagasló a Nagyváradi téri Elméleti Tömb létesítésének a kiharcolása. Mózesként a megvalósítást nem érthette meg, nem jutott be az ígért földjére. 1961-ben lett a Magyar Tudományos Akadémia levelező tagja. Szűkkeblű kortársai – az idők nem változnak – 1972-ben nem választották meg rendes tagnak.

A 115 ÉVE ALAKULT ELSŐ MAGYAR ÉLETTANI TÁRSULÁS ÉS AZ ODAVEZETŐ TÖRTÉNETI MÉRFÖLDKÖVEK DOKUMENTUMAI

Monos Emil

Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

Egy kalandos sorsú jegyzőkönyvgyűjtemény tanúskodik a Királyi Magyar Természettudományi Társulat kebelében - Högyes Endre kezdeményezésére - Élettani Szakértekezletek néven 1891-ben alapított szakosztály üléseiről (Orvosi Hetilap 133/34:24-27, 1992). A 12 fő által létrehozott szakosztály első elnöke Klug Nándor (1845-1909), jegyzője pedig Jendrassik Ernő (1858-1921), Jendrassik Jenő (1824-1891) fia, volt. Az idevezető út figyelemre méltó történeti mérföldkövei váltak hozzáférhetővé a közelmúltban a Semmelweis Egyetem Központi Könyvtárában.

A megelőző évszázad során 3 kiváló eredeti magyar nyelvű élettan könyv jelent meg. “A physiologiának rövid sommája” az első (1789, 258 oldal), szerzője Rácz Sámuel (1744-1807). E mű egyben az első magyar nyelvű egyetemi tankönyv. A másodikat “Az ember élettana” címmel Balogh Kálmán (1835-1888) adta ki 2 kötetben (1862). Ő az első magyar nyelvű kórélettan könyv (“Általános kór- és körjelzés”, 1865) szerzője is. Klug Nándor műve a harmadik, amely “Az emberélettan tankönyve” címmel jelent meg 1888-ban. 1875-ben is publikáltak magyar nyelven élettan könyvet, “Az ember-élettan alapvonalai” címet viseli (J. Ranke), német eredetiből történt a fordítás. Lenhossék Mihály Ignác (1773-1840) 5 kötetes latin nyelvű “Physiologia medicinalis” c. nagy műve 1816-ban került kiadásra. Ő 1808-tól az élettan és felsőbb anatómia (szövettan) tanára Pesten, 1819-ben nevezték ki tanszékvezetőnek a Bécsi Egyetemre.

Hermann Boerhaave (1668-1738) leydeni orvos “Institutiones Medicae” c. sok kiadást megért könyve évtizedeken át vezérfonala volt az elméleti és gyakorlati orvosképzésnek Európában (első kiadása 1708). Tanítványa, Gerard van Swieten (1700-1772), Mária Terézia udvari orvosa, bő kommentárokkal gazdagította-aktualizálta mestere művét. Azonban Albrecht von Haller (1708-1777) 8 kötetes “Elementa Physiologiae Corporis Humani” (1757) c. latin nyelvű monumentális művének megjelenése lett fő motorja az európai élettan fejlődésének.

PATKÁNYBAN A CIKLOOXIGENÁZ (COX)-2 GÁTLÁSA KIVÉDI AZ AGYI HIPOPERFÚZIÓ ÁLTAL OKOZOTT MEMÓRIAKÁROSODÁST ÉS NEURON PUSZTULÁST

Institóris Ádám¹; Farkas Eszter², Berczi Sándor²; Bari Ferenc¹
SZTE ÁOK Élettani Intézet¹ és Anatómiai Intézet²

A krónikus agyi hipoperfúzióknak fontos szerepet tulajdonítanak egyes demencia típusok kialakulásában. Ugyanakkor nem ismert a klinikai tünetek mérséklő hatékony terápia. Az iszkémia-függő neuronális károsodások kialakulását COX enzimek által katalizált biokémiai folyamatok is elősegítik.

Célunk az volt, hogy megvizsgáljuk a nem-szelektív COX és a szelektív COX-2 gátlás esetleges neuroprotektív hatását agyi hipoperfúziós modellben.

Hím patkányokon kétoldali a. carotis communis lekötéssel permanens agyi hipoperfúziót hoztunk létre (n=18). A műtét utáni három napon nem-szelektív COX-gátló indometacin (3mg/kg) és COX-2 gátló NS398 (15mg/kg) kezelést alkalmaztunk, i.p. Kontrollként áloperált és kezeletlen állatok szolgáltak (n=24). Egy hét elteltével a hippocampushoz kapcsolódó térbeli tanulást Morris water maze-ben teszteltük, majd immuncitokémiai (krezil) jelölés után neuronszámolást végeztünk a hippocampus CA1 régiójának piramissejt rétegében. A túlélést az NS398 (66,67%), szemben az indometacinnal ((41,67%) szignifikánsan javította és meggátolta a térbeli tanulási zavar kialakulását is. E mellett az NS398 meggátolta a neuronpusztulást a hippocampus CA1 piramissejt rétegében. Eredményeink alapján feltételezhető, hogy a hipoperfúzió okozta károsodás kialakulásában elsősorban az COX-2 által katalizált folyamatok játszanak szerepet és az enzim szelektív gátlása jótékony hatású lehet agyi hipoperfúzió esetén. *A munka az OTKA (T-046531) és a DNT támogatásával készült.*

SZENZOROS NEUROPEPTIDEK SZEREPE A TERHES PATKÁNY UTERUS KONTRAKTILITÁSÁNAK SZABÁLYOZÁSÁBAN

Klukovits Anna, ¹Falkay György, ²Jancsó Gábor

¹Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet, ²Élettani Intézet, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

Korábbi vizsgálataink arra utaltak, hogy a méhizomzat kontraktilitásának szabályozásában a vegetatív idegek mellett az érző idegek is jelentős szerepet játszanak. In vitro szerv preparátumon kimutattuk, hogy a tranziens receptor potenciál 1-es típusú vanilloid receptor (TRPV1) agonista capsaicin fokozza az elektromos téringerlés által kiváltott kontrakciók amplitúdóját. A jelenség kialakulásában a calcitonin gén-relációs peptid (CGRP) depléciója játszik szerepet, és azt a terhelességi (adrenerg) denerváció nem befolyásolja. Jelen kísérleteinkben az uterus szenzoros idegeiben lokalizált neuropeptidek, a CGRP, a P anyag (SP) és a galanin (GAL) hatását vizsgáltuk terminusban lévő spontán szülő patkányokból és bakteriális lipopoliszachariddal indukált koraszülést követően eltávolított uterus preparátumokban elektromos téringerléssel kiváltott kontrakciókra. Terminusban lévő patkányok izolált uterusán elektromos erőter ingerléssel (40 V, 1-70 Hz, 0,6 ms) neurogén kontrakciókat váltottunk ki, amelyeket patkány α CGRP, SP-antagonista [D-Pro²,D-Trp^{7,9}]-SP és GAL-antagonista M35 jelenlétében is detektáltunk. Megállapítottuk, hogy az α CGRP (max. kontrakció csökkenés: 39,4 $\pm$ 11,8%), és az általunk alkalmazott SP-antagonista (54,58 $\pm$ 11,8%) illetve GAL-antagonista (28,43 $\pm$ 7,5%) hatékonyan gátolja a késői terhes uterusban kiváltott neurogén kontrakciókat, és kivédi a capsaicin-kezelés okozta kontrakció fokozódást. A koraszülésből származó minták esetében hasonló kontrakció csökkentő hatást tapasztaltunk. Megfigyeléseink hozzájárulhatnak a gyulladás indukálta koraszülés neurogén modulációjának megértéséhez, valamint felvetik a TRPV1 aktivációt és a szenzoros neuropeptidek hatását befolyásoló farmakonok terápiás felhasználásának lehetőségét a terminus körüli kontrakció-fokozódás csökkentésében.

NEUROTENZIN ÉS NEUROTENZIN-1 RECEPTOR ANTAGONISTA (SR48692) SZEREPE A POZITÍV MEGERŐSÍTŐ HATÁSBAN

László Kristóf¹, Kertes Erika², Tóth Krisztián¹, Oláhne Várady Katalin¹, Tólos Szilvia¹, Lénárd László^{1,2}

¹ Pécsi Tudományegyetem, Orvostudományi Kar, Élettan Intézet és

² MTA Idegéletani Kutatócsoport e-mail: kristof.laszlo@aok.pte.hu

A neurotensin (NT) tizenhárom aminosavból álló neuropeptid, amelyet borjú hypothalamusban fedeztek fel. A központi idegrendszer működésében neurotranszmitterként és neuromodulátorként vesz részt. A ventralis tegmentalis areaba a NT mikroinjekció pozitív megerősítő hatású. Kimutatták, hogy a NT a striatum területén szenzitíven befolyásolja a dopaminerg neuronok működését és modulálja a dopamin-mediált magatartási folyamatokat, a tanulást és motivációt. Az amygdala centrális magja (ACE), a limbikus rendszer részeként fontos szerepet játszik a tanulásban, megerősítésben, szorongásban és az emóciók szabályozásában. Irodalmi adatok szerint az amygdala gazdag NT tartalmú idegvégződésekben és NT-1 receptorokban.

Kísérleteinkben hím Wistar patkányokon az ACE-ba bilaterálisan injektált két különböző dózisú NT (250 ng és 2.5 µg/0,4 µl NT [Sigma: N 3010]) megerősítésben és szorongásban betöltött szerepét vizsgáltuk. Helypreferencia tesztben a 250 ng NT szignifikánsan megnövelte a kezelő kvadránsban töltött időt, a 2.5 µg NT hatástalannak bizonyult. Az elevated plus maze tesztben nem volt különbség az egyes csoportok között, ami a szorongási indexet illeti (nyitott karokon és a nyitott karok végein töltött idő). Kísérletünket megismételve, az állatok egyik csoportja 250 ng NT-t, a másik NT-1 receptor antagonistá (SR48692) előkezelés után 15 perccel 250 ng NT-t, a harmadik csoport antagonistát önmagában kapott, a kontroll állatok pedig a peptid vívőanyagát. A NT dóziséval ekvimoláris mennyiségű (0,14 nM) antagonistá előkezelés kivédte a NT hatását. Az antagonistá önmagában nem befolyásolta a megerősítő hatást. Kísérleteinkkel elsőként igazoltuk, hogy az ACE-ba injektált NT pozitív megerősítő hatású és ezen hatás közvetítésében a NT-1 receptorok szerepet játszanak. Kimutattuk, hogy a NT nem rendelkezik sem anxiogén, sem anxiolitikus hatással.

A vizsgálatokat az OTKA (MO36687) és az MTA támogatta. Az antagonistá rendelkezésünkre bocsátásáért a Sanofi-Synthelabo-nak mondunk köszönetet.

AZ ELŐZETESEN ALVÁSBAN ÉS ÉBRENLÉTBEN TÖLTÖTT IDŐNEK AZ EEG DELTA TELJESÍTMÉNYÉRE KIFEJTETT HATÁSA NEM NAPSZAKFÜGGŐ

Lelkes Zoltán

SZTE ÁOK Élettani Intézet, Szeged

A non-REM alvás alatti EEG delta teljesítménye a megelőző alvás-ébrenléti aktivitás függvénye. Minél kevesebb az alvásban töltött idő annál nagyobb a rákövetkező alvás alatti delta aktivitás. Az EEG delta teljesítményének kifejezett napszaki ritmusa van, amely, legalább részben az alvás-ébrenléti aktivitás napszaki ingadozásainak következménye. Az nem világos, hogy a delta aktivitás említett ingadozásáért kizárólag az alvásban és ébrenlétben töltött idő napszaki ingadozása felelős, vagy hogy ehhez másféle circadian hatások is hozzájárulnak. Jelen munkánkban az alvás-ébrenléti aktivitásnak a rákövetkező alvás alatti delta teljesítményre kifejtett hatását hasonlítottuk össze különböző napszakokban.

Kísérleteinket 12-12 óras fény-sötét ciklusban tartott Sprague-Dawley patkányokon végeztük. Az EEG-t és az alvás-ébrenléti aktivitás 48 órán keresztül regisztráltuk. Három óránként kiszámoltuk a non-REM alvásban töltött idő arányát és az EEG delta teljesítményét. Az alvásban töltött időt kumulatív görbén ábrázoltuk, melyhez egy regressziós egyenest illesztettünk, majd kiszámoltuk, hogy a görbe egyes pontjai mennyivel voltak a regressziós egyenes felett vagy alatt. Ezzel a távolsággal jellemeztük a non-REM alvás többlet-hiány mértékét. Ez a non-REM alvás többlet-hiány érték majdnem az egész világos napszak folyamán emelkedett, a sötét alatt pedig többnyire csökkent. Ezután a delta teljesítményt a hozzá tartozó non-REM alvás többlet-hiány értékének függvényében ábrázoltuk. Ily módon össze tudtuk hasonlítani a non-REM alvás többlet-hiány érték és a hozzá tartozó delta teljesítménynek a viszonyát a világos és a sötét napszakban.

A delta teljesítmény a non-REM alvás többlet-hiány értékének függvényében változott, minél alacsonyabb volt ez a többlet-hiány érték, annál nagyobb volt a delta teljesítmény. Nem találtunk különbséget a sötét és a világos napszak között.

Az alvásban és ébrenlétben töltött időnek a rákövetkező alvás alatti delta teljesítményre kifejtett hatásának nagysága nem függött az adott napszaktól. Az alvás alatti delta teljesítmény napszaki ingadozása valószínűleg kizárólag az alvásban és ébrenlétben töltött idő napszaki ingadozásának következménye.

AZ ALFA-TOCOPHEROL KEZELÉS CSÖKKENTI A KRÓNIKUS AGYI HIPOPERFÚZIÓ OKOZTA IDEGI KÁROSODÁST PATKÁNYBAN

Mracskó Éva¹, Farkas Eszter², Süle Zoltán², Penke Botond³, Karg Eszter⁴, Bari Ferenc¹

SZTE ÁOK Élettani Intézet¹, Anatómiai Intézet², Orvosvegytani Intézet³ és Gyermekgyógyászati Klinika⁴

Az öregedés folyamatában és a demenciák kialakulásában fontos szerepet játszik a krónikus agyi hipoperfúzió, mely rágsálókban a két artéria carotis comm. lekötésével (2VO) modellezhető. Ezen modell segítségével megvizsgáltuk, rendelkezik-e a leginkább antioxidáns tulajdonságáról ismert α -tocopherol védő hatással a hipoperfúzió okozta agyi károsodással szemben. A 2 VO-t hím patkányokon végeztük. Az állatoknak a műtétet megelőző, vagy az azt követő 5 napon keresztül (elő- ill. utókezelés) szójaolajban oldott α -tocopherolt (100mg/tskg, i.p.) adtunk. Kontrollként áloperált, szójaolajjal kezelt állatokat használtunk. A műtét után egy héttel a hippocampushoz kapcsolódó térbeli tanulást a Morris water maze-ben teszteltük. A magatartási kísérleteket követően HPLC-vel meghatároztuk a perifériás szövetekben és az agyban az α -tocopherol koncentrációt, immuncitokémiaileg jellemeztük a hippocampusban a mikrogliá sejt aktiválódást, valamint krezzel festett metszeteken megmértük a CA1 régió str. pyramidale vastagságát. Ez utóbbiból a neuronpusztulás mértékére következtethetünk. Az elő- és utókezelés hasonló eredményeket hozott. Az α -tocopherol csökkentette a tanulásromlás mértékét, kivédte a CA1 régióban a neuronpusztulást és a mikrogliá-aktivációt (0.14% vs. 1.7%, 0.12% vs. 2.7%). Kezelés hatására a májban, a zsírszövetben és a vérben az α -tocopherol koncentrációja emelkedett, míg az agyban nem változott. Kísérleteink alapján ebben a modellben az α -tocopherol mind elő-, mind utókezelésben neuroprotektívnek bizonyult.

A munka az OTKA (T-046531) és a DNT támogatásával készült.

IDEGSÉRÜLÉSEK HELYREÁLLÍTÁSA OLDALVARRAT- ÉS GYULLADÁSOS-INDUKCIÓS-TECHNIKÁK KOMBINÁLÁSÁVAL FELNÖTT PATKÁNYBAN

Páli Jenő, Vancsó Péter, B. Kiss Evelyn, Szabó Anikó, Hamar János

Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet, Budapest

50 felnőtt Wistar patkányban vizsgáltuk az end-to-side varrási technika eredményességét önmagában és az idegágak gyulladásos indukciójával kombinálva retrográd fluoreszcens True Blue jelöléssel a bajuszpárna mozgató beidegzését adó ramus buccolabialis superior és ramus buccolabialis inferior (n. facialis) tekintetében. Kontroll állatokban a r. b. superiorból 2345 ± 40 , míg a r. b. inferiorból 2428 ± 116 mozgató idegsejt volt jelölhető a nucl. n. facialisban. Azonban a mozgató idegsejtek mellett a r. b. superiorból 1909 ± 111 , míg a r. b. inferiorból 70 ± 18 érző idegsejt is jelölődött a ggl. trigeminale V/3-as területén. A r. b. inferior átvágását és a r. b. superior oldalával történő egyesítését (end-to-side varrás) követő 100 nap túlélési idő után a r. b. inferior distalis csontjából, a varrattól 5 mm-es távolságban 414 ± 130 érző és 164 ± 73 mozgató idegsejt volt jelölhető. A r. b. inferior átvágását megelőzően 2 nappal a r. b. inferior gyulladásos indukált állapotba hozása az érző axonsarjak benövését a r. b. superiorból a r. b. inferior distalis csontjába nem befolyásolta (491 ± 187 , $p > 0,05$), míg a motoros axonsarjakét szignifikánsan csökkentette (34 ± 20 , $p < 0,05$). A r. b. inferior átvágását megelőzően 2 nappal a r. b. superior gyulladásos indukált állapotba hozása az érző idegrostok benövését a r. b. inferiorba nem befolyásolta (404 ± 183 , $p > 0,05$), míg a motoros axonsarjak benövését szignifikánsan fokozta (397 ± 120 , $p < 0,05$). Eredményeink alapján elmondható, hogy (I) a r. b. superior és inferior patkányban kevert idegágak; (II) az idegregeneráció során az érző axonsarjak korábbi motoros idegrostok velőshüvelyébe is képesek benőni; (III) a gyulladásos indukció az érző idegrostok sprouting-jára nincs hatással; (IV) a mozgató idegrostokból axonsarjak kevésbé nőnek bele indukált idegbe; (V) a mozgató idegrostok indukciójával fokozódik az axonsarj-képződés és benövés nem indukált distalis idegcsontba.

INTRAAMYGDALÁRIS GHRELIN HATÁSA PATKÁNYOK TÁPLÁLÉKFELVÉTELÉRE ÉS OPEN FIELD AKTIVITÁSUKRA

Tóth Krisztián¹, László Kristóf¹, Lukács Edit¹, Bagi E. Éva¹ és
Lénárd László^{1,2}

*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani
Intézet¹ és MTA Idegélettani Kutatócsoport²*

A vérkeringésben található ghrelinnek (Ghr) 2 típusát különböztetjük meg: acylált (A-Ghr) és nem acylált (NA-Ghr) Ghr. Az A-Ghr i.p. és i.c.v. és direct hypothalamikus mikroinjekciója fokozza a táplálékfelvételt. Az amygdala (AMY) fontos szerepet játszik a táplálékfelvétel és a táplálkozási magatartásformák szabályozásában. Az A-Ghr i.c.v. injekciója fokozza a c-Fos aktivitást az AMY-ban, valamint Ghr tartalmú neuronok végződését igazolták az AMY basolaterális magjában (BLA). Korábbi kísérleteinkben igazoltuk, hogy az A-Ghr intraamygdaláris mikroinjekciója dóziszfüggő folyékony táplálékfelvétel csökkenést okoz ad libitum táplált patkányokban. Ezen hatás specifikus, mert növekedési hormon secretagogue receptor (GHSR) antagonistá előkezeléssel felfüggeszthető volt. Jelen kísérleteinkben, ad libitum táplált és 24 órát éheztetett hím Wistar patkányok folyékony táplálékfelvételét (Milkquick, Debrecen [136,45kj/100ml]) valamint open-field tesztben motoros aktivitásukat tanulmányoztuk. Az A-Ghr-t steril fiziológiás sóoldatban oldottuk (0,15M), 50 és 100 ng-ját 0,4 µl mennyiségben injektáltuk bilaterálisan a BLA-ba. A mikroinjekciókat követően mértük az állatok táplálékfelvételt az első 30 percben 5 percenként, valamint a 40., 50., 60., 90., 120., 150. és 180. percben. Az ad libitum táplált állatokban az 50 és a 100 ng A-Ghr szignifikáns táplálékfelvétel csökkenést okozott. Huszonnégy órás éheztetést követően a korábban hatékony 50 és 100 ng A-Ghr nem befolyásolta a táplálékfelvételt. A 100 ng A-Ghr hatását open field tesztben is vizsgáltuk. Öt perc megfigyelési idő alatt a keresztezések számát és a megtett távolságot rögzítettük. Nem volt változás ezekben a paraméterekben az A-Ghr kezelést kapott csoportban a kontroll csoporthoz képest. Eredményeink azt mutatják, hogy a BLA-ba adott A-Ghr táplálékfelvétel csökkenést okoz. Ezen hatás kialakulását az éhezés megakadályozza. Az intraamygdaláris A-Ghr táplálékfelvételt gátló hatása nem magyarázható a spontán motoros aktivitás megváltozásával. Adataink azt sugallják, hogy az AMY szintjén megvalósuló Ghrelinerg táplálékfelvétel szabályozó mechanizmusok specifikus moduláló szereppel bírnak és függenek az éhség-állapottól. *A vizsgálatokat az OTKA (MO36687) és az MTA támogatta.*

A FELNÖTT PATKÁNY HÓLYAGKONTRAKCIÓINAK SZABÁLYOZÁSA, ÉS MODELLKÉNT VALÓ FELHASZNÁLÁSA

Szigeti Gyula Péter¹, Jenes Ágnes¹, Ruzsnavszky Ferenc¹,
Széll Enikő², Varga Attila³, Csernoch László¹

*Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum,
¹Élettani Intézet, ²Gyermecklinika, ³Urológiai Klinika*

A húgyhólyag fiziológiásan két egymástól eltérő szerepet tölt be, tárolja és kiüríti a vizeletet. Ezt a folyamatot elsődlegesen a paraszimpatikus gerincvelői (micturitus) központ felügyeli, mely maga is felsőbb idegi szabályozás alatt áll. A gerincvelői központból kolinerg és NANC efferensek idegzik be a teljes detrusor izomzatot. Az urethrányílás környéki területek és a kupola azonban a vizeletürítést elindító stimulusra eltérően reagálnak. Ebben a kontrakció/relaxáció szabályozásában részt vehetnek egyéb hatások is, úgymint az uroepithel sejtek (NO felszabadulás révén), Cajal-sejtek (szinkronizáló/deszinkronizáló működésükkel), vagy maguk a simaizomsejtek, a jelátviteli folyamatok interakciója által.

Feltételezésünk szerint a hólyag eltérő területeinek ellentétes működéséért a receptorok közti, vagy a receptorok jelátviteli útjai közti interakció is felelős lehet, célunk ezért ezen folyamat feltérképezése volt, valamint annak az eldöntése, hogy a vizsgált mechanizmus szempontjából a patkány hólyag mennyire használható a humán folyamatok modelljeként.

A kísérletekhez 3 hónapos, kifejlett patkányok húgyhólyagjából készült primer simaizomsejt tenyészetet használtunk fel. A receptorok közti kölcsönhatást a különböző neurotranszmitterek adagolása által kiváltott intracelluláris Ca²⁺-koncentráció változások alapján vizsgáltuk, melyet mikroszkóp-fotometriával mértünk.

A simaizomtenyészetben mind a purinoreceptorokat stimuláló ATP, mind a kolinerg jelátvitelt serkentő carbachol (cch) képes volt calciumszint emelkedést létrehozni. A válaszok nagysága azonban hólyagterületfüggést mutatott.

Humán sejteken is sikerült hasonló interakciót kimutatnunk. Így a patkány húgyhólyagot a vizsgált folyamat szempontjából megfelelő modellnek tartjuk. Ennek klinikai jelentőségét az adja, hogy a patkány hólyag szabályozási folyamatainak feltérképezése, mint állatmodell, alapvető jelentőségű lehet az emberekben kialakuló „túlstimulált” hólyag mechanizmusának megismerésében és terápiájának továbbfejlesztésében

A TASK-3-CSATORNÁK JELENLÉTE SEJTNYÉSZETBEN FENNTARTOTT MELANOMA SEJTVONALAKBAN: MITOKONDRIÁLIS FUNKCIÓ

Rusznák Zoltán

DE OEC, Élettani Intézet

A TASK-3-csatornák potenciális onkogén hatású molekulák; már több rosszindulatú daganattípusban leírták a fehérje génjének amplifikációját és a fehérjetermék overexpresszióját. Jelen munkánkban szövettanilag fenntartott melanoma sejtek TASK-3-expresszióját vizsgáltuk. A kísérleteket három, a csatorna különböző epitópjait felismerő antitest alkalmazásával végeztük, melyek közül az egyik a Sigma-Aldrich fejlesztőlaboratóriumával közösen létrehozott monoklonális antitest volt. Az antitestek specifitásának ellenőrzését tranziensen és stabilan transzfektált sejtvonalak, Western-blot és elektrofiziológiai vizsgálatok alkalmazásával végeztük.

Megállapítottuk, hogy melanoma sejtek erős TASK-3-specifikus jelölődést mutatnak. A jelölődés döntően intracelluláris volt, jelentős nuclearis-perinuclearis lokalizációval. Bár a sejtfelszíni membrán immunpozitivitása is megfigyelhető volt, az sohasem volt olyan erős, mint a cytoplasmaticus jelölődés. Lényeges eredménynek véljük, hogy a munka során konfokális mikroszkópia és kettős jelölés alkalmazásával bizonyítottuk, hogy a cytoplasmaticus TASK-3-specifikus festődésnek és jellegzetes megoszlásának hátterében a csatornák mitokondriumokkal történő kolokalizációja áll. A TASK-3-csatornákat nem expresszáló C2C12 sejtekben a mitokondriumok jelölődtek, ugyanakkor a TASK-3-specifikus immunjelölés negatív eredményt hozott, megerősítve a megfigyelés specifikusságát. A TASK-3-csatornák a melanoma sejtekben jellegzetes időfüggő transzlokációt is mutattak.

A kísérletek során siRNS alkalmazásával „TASK-3-knock-down” sejteket hoztunk létre. A siRNS-szekvenciák fluoreszcens jelöléssel voltak ellátva, így jelenlétük a melanoma sejtekben egyértelműen megítélhető volt. A négy kipróbált siRNS-szakasz közül három hatásosan csökkentette az azokat felvett sejtek TASK-3-immunjelölődését, és ezekben a tenyészetekben a sejtszám jelentős, koncentrációfüggő csökkenését is tapasztalhattuk, amit a sejtek jellegzetes morfológiai változásai kísérték.

Eredményeink azt sugallják, hogy a TASK-3-csatornák jelenléte alapvető jelentőségű a melanoma sejtek túlélésének elősegítésében, ami részben a mitokondriális funkciók biztosítása révén valósulhat meg.

TiO₂ NANOPARTIKULUMOK BŐRÖN VALÓ PENETRÁCIÓJÁNAK ÉS BIOLÓGIAI HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA IN VIVO ÉS IN VITRO – EU 5. NANODERM PROJEKT

Bíró Tamás¹, Kiss Borbála², Kertész Zsófia³, Szikszai Zita³, Kiss Árpád³, Czifra Gabriella¹, Tóth I. Balázs¹, Juhász István², Hunyadi János²

¹Élettani Intézet és ²Bőrklinika, Debreceni Egyetem, OEC; ³MTA Atommagkutató Intézete

A titánium-dioxidot (TiO₂), mint fizikai védőanyagot, széles körben alkalmazzák különféle kozmetikai termékekben. Kevés adattal rendelkezünk ugyanakkor az anyag (főként annak nanopartikulum méretű részecskéinek) humán bőrön keresztüli penetrációjáról, valamint *in vivo* és *in vitro* biológiai hatásairól. Ezért az EU 5. keretprogramjának keretében (NANODERM konzorciumi projekt) a TiO₂ nanopartikulumok fenti hatásait vizsgáltuk.

A humán fejbőről származó bőr graftokat SCID egerek hátbőrébe ültettük, majd a mikronizált TiO₂ nanopartikulumokat hidrofób emulzióban a bőrre helyeztük. Ezt követően gyorsfagyasztott szövettani metszeteket készítettünk, majd nukleáris mikroszondák és a hozzájuk kapcsolt fizikai technikák (STIM, PIXE, RBS analízis, kvantitatív elemterképek szerkesztése) segítségével elemeztük a TiO₂ nanopartikulumok megoszlását. Megállapítottuk, hogy a TiO₂ részecskék behatoltak a str. corneum rétegei közé, ugyanakkor nem tapasztaltunk mélyebb (az “élő” sejtrétegeket érintő) penetrációt.

Párhuzamos *in vitro* kísérleteinkben ugyanakkor kimutattuk, hogy a TiO₂ nanopartikulumok jelentős mértékben befolyásolták humán bőrből származó tenyésztett sejtek folyamatait. Kimutattuk, hogy a dermális fibroblasztok (ellentétben a keratinocytákkal és a sebocytákkal) jelentős mértékben internalizálták a TiO₂ részecskéket, mely együtt járt az intracelluláris kalciumkoncentráció megemelkedésével. Megállapítottuk emellett, hogy TiO₂ expozíció jelentősen lecsökkentette mindhárom sejttípus proliferációját, míg a fibroblasztok esetében emellett apoptózist is indukált.

Fenti eredményeink arra utalnak, hogy intakt epidermális barrierfunkció mellett a TiO₂ nanopartikulumok nem penetrálnak a mélyebb (“élő”) rétegekbe. Adataink ugyanakkor rámutatnak arra is, hogy a TiO₂ részecskék, amennyiben direkt kontaktusba kerülnek a sejtekkel, jelentős mértékben képesek azok biológiai folyamatainak és életképességének befolyásolására.

ÓPIÁT-PROGESZTERON KÖLCSÖNHATÁS ELTÉRÉSEK A HUMÁN UTERUS LEIOMYOMA SEJTEK PROLIFERÁCIÓJÁNAK SZABÁLYOZÁSÁBAN

Körnvei József¹, Kovács Kálmán², Vértés Zsuzsanna¹, Göcse Péter², Lengyel Ferenc¹, Vértés Marietta¹

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, ¹Élettani Intézet és ²Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Pécs

Az egyik leggyakoribb nőgyógyászati megbetegedés a myoma, melynek növekedése ösztrogén függő. Az ópioid peptidek és a progeszteron egyaránt az uterus növekedés negatív szabályozó tényezői. Patkány és humán uterus sejtekben köztük a hatásmechanizmusukban közös elemek révén megvalósuló kétirányú kölcsönhatás működik. Nem ismert azonban, hogy humán uterus leiomyoma sejtekben is kimutatható-e ezen molekuláris kapcsolat.

A hysterectomya műtétekből származó myometrium és leiomyoma mintákat limitált kollagenáz emésztéssel diszpergáltuk, majd gazdagított Waymouth tápoldatban tenyésztettük 10% szérumban jelenlétében. A kezelések az egész tenyésztési periódus alatt jelen voltak a tápoldatban. A szubkonfluens tenyészetek sejtsűrűségét tripszines leválasztást és tripánkéék kizárásos festést követően számolással határoztuk meg, vagy az MTT sejtproliferációs assay-t alkalmaztuk, illetve a flaskák teljes DNS tartalmát mértük Burton módszerével.

A leiomyoma sejtek 40-240%-al gyorsabban szaporodtak, mint a megfelelő myometrium simaizomsejtek. [D-Met²-Pro⁵]-enkefalinamid (ENK) gátolta az ösztadiol (E₂) és epidermális növekedési faktor (EGF) által stimulált sejtproliferációt. ENK a leiomyoma sejtek nem-stimulált, bazális szaporodását is gátolta, és az ENK és DAMGO mellett itt [Met⁵]-enkephalin is hatásosnak bizonyult a 7 napos patkány uterusban leírtakhoz hasonlóan. Az ENK sejtosztódást gátló hatását az ópiát receptor antagonistá naloxon (NAL) felfüggesztette. NAL önmagában sem a bazális, sem a stimulált sejtosztódást nem befolyásolta. Mifepriszton (RU486) felfüggesztette az ENK nem-stimulált, E₂- és EGF-stimulált proliferációra gyakorolt gátló hatását. RU486 önmagában is erősen serkentette a myometrium sejtek szaporodását, sőt az EGF-stimulált sejt kultúrák denzitását is még tovább növelte, mely hatás leiomyomában nem volt kimutatható. Progeszteron egyaránt gátolta az uterus sejtek nem stimulált, E₂ és EGF által serkentett proliferációját. Ezen gátló hatás myometrium sejtekben E₂ jelenlétében volt a legerősebb, míg leiomyomában E₂-ra nem változott. A progeszteron sejtproliferációt gátló hatását az ópiát antagonistá naloxon kivédte.

Adataink alapján az opioid peptidek sejtosztódást gátló mechanizmusa és az ópiát-progeszteron kölcsönhatás működőképes a humán leiomyoma sejtekben is. Azonban, az itt először leírt eltérések a sejtosztódás szabályozásának részleges dedifferenciációját mutathatják, ami a pathomechanizmusban is szerepet játszhat. (A kísérleteket OTKA-T-037440 és -46695 támogatással végeztük)

GALANIN ÉS MONOAMINERG RENDSZER INTERAKCIÓJÁNAK A VAZOPRESSZIN ÉS OXYTOCIN KIVÁLASZTÁSRA GYAKOROLT HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA PATKÁNY NEUROHIPOFÍZIS SEJTJENYÉSZETBEN

¹Nagyéri, Gv., ¹Gálfi, M., ²Juhász, A., ³Molnár, A., ¹Radács, M., ⁴László, F., ³László, F.A.

SZTE JGYTFK ¹Biológia Tanszék, ⁴Testnevelési és Sporttudományi Intézet, Szeged; ²SZTE ÁOK Pszichiátriai Klinika, Szeged; ³SZTE TTK, Összehasonlító Élettani Tanszék, Szeged

Ismeretes, hogy a galanin (GAL), mint peptid modulátorszerpet játszik a hipotalamo-neurohipofizeális rendszer működésének regulációjában és jelentősen befolyásolja a monoaminerg vegyületek hatását.

Dopamin (DA), szerotonin (5-HT), hisztamin (HA), ill. K⁺ adagolás hatását vizsgáltuk a vazopresszin (VP) és oxytocin (OT) kiválasztásra patkány izolált sejt kultúrában. Tanulmányoztuk, hogy GAL hozzáadásával hogyan változik a monoaminerg vegyületek okozta VP ill. OT szekréció. Az izolált neurohipofízis szövetkultúrát enzimatisz disszociációs technikával készítettük. A VP és OT méréseket 14 napos kultúra felülszó médiumából vett mintákból RIA módszerrel végeztük. Az anyagokat 10⁻⁶ M dózisban adagoltuk.

Kimutattuk, hogy a felülszó médiumban 10⁻⁶ M GAL hozzáadása után csökken a VP kiválasztás. DA, ill. 5-HT jelentősen, HA kisebb mértékben emelte a VP szintet. Előzetesen bejuttatott GAL teljesen kivédte a DA okozta VP koncentráció növekedést, az 5-HT által kiváltott VP szint emelkedését kisebb fokban, a HA okozta fokozódást jelentősebb mértékben csökkentette. A nem specifikus hormonkiválasztást előidéző K⁺ okozta VP szint növekedést a GAL nem befolyásolta. Amennyiben a GAL adagolása a monoaminerg vegyületek bejuttatása után történt a VP szintek változatlanok maradtak. Hasonló eredményeket kaptunk az OT koncentráció mérése során, azonban mind a bazális, mind a stimulált szintek a VP-hez viszonyítva magasabbnak bizonyultak, az 5-HT és HA adás előtt alkalmazott GAL mérsékeltebb csökkenést idézett elő. A K⁺ okozta OT szint változást a GAL ugyancsak nem befolyásolta.

Eredményeink arra utalnak, hogy a monoaminerg rendszer okozta VP, ill. OT kiválasztás változást a GAL direkt módon befolyásolja. A monoaminerg és GAL-erg rendszer interakciója a VP és OT kiválasztás vonatkozásában a hipotalamusztól függetlenül, a neurohipofízis szintjén is érvényesül.

A BAZÁLIS MEMBRÁN INDUKÁLTA ACINARIS DIFFERENCIÁCIÓ VIZSGÁLATA HUMÁN NYÁLMIRIGY SEJTVONALON

Vág János¹, Szilávik Vanda¹, Nátz Eszter¹, Varga Gábor¹, Fazekas Árpád², Brian O'Connell³

¹Semmelweis Egyetem, Orálbiológiai Tanszék, SE-MTA Molekuláris Orális Biológiai Kutatócsoport, Budapest, ²Semmelweis Egyetem, Konzerváló Fogászati Klinika, Budapest, ³Dublin Dental School and Hospital, Trinity College, Dublin, Írország

A bazális membrán fontos szerepet tölt be a szöveti fejlődés irányításában a sejt-proliferáció, -migráció és differenciáció szabályozásával. A humán submandibularis nyálmirigy eredetű sejtvonal (HSG) in vitro körülmények között bazális membrán kivonatra (BME) ültetve képes acinaris szöveti struktúrákat kialakítani. Más vizsgálatok szerint a BME felületén növesztett HSG sejtek funkcionális markereket pl. amilázt kezdenek termelni. A HSG sejtenyészet és a BME alkalmazásával szabályozható, in vitro kísérleti elrendezéseket teremthetünk. Kísérleteinkben célul tűztük ki, hogy különböző összetételű BME használatával optimalizáljuk azokat a körülményeket, amelyek az acinaris differenciációhoz szükségesek.

A HSG sejtek plazmatik edényeken és különböző protein koncentrációjú és növekedési faktor tartalmú BME (20mg/ml -6mg/ml) felületén voltak tenyésztve 2 napig MEM-10%FCS médiumban. A szöveti morfológiát fénymikroszkóppal követtük nyomon. Az amiláz gén expresszió változását kvantitatív, realtime PCR segítségével ellenőriztük.

A BME koncentráció csökkentésével a 3D acinaris struktúrák előfordulása fokozódott. A csökkentett növekedési tartalmú (GFR) BME sokkal hatásosabbnak tűnt, mint az eredeti összetételű BME a morfordifferenciáció tekintetében. Az amiláz expresszió szignifikánsan növekedett a 17.5mg/ml GFR-BME és a 16.4mg/ml BME felületén tenyésztett HSG sejtekben (3.2 ± 0.57 -szeres és 3.7 ± 0.68 növekedés, $p < 0.001$). Ugyanakkor ezekben a tenyészetekben nem volt megfigyelhető acinaris struktúrák kialakulása, helyette 2D sejthálózatok jöttek létre.

A 3D acinaris struktúrák kialakulásnak inkább az alacsonyabb koncentrációjú BME kedvez. Feltételezésünk szerint a lágyabb mátrix előmozdítja a sejtek migrációját, proliferációját és 3D struktúrák kialakulását. Az amiláz expresszió viszont inkább a BME egyes biológiaiailag aktív összetevőihöz köthető, így annak kihígítása az expresszió elvesztésével jár.

Támogatások: Wellcome Trust (071268/Z/03/Z), OTKA (042584), OM (18657/2005), ETT (350/2003)

REDOX-HOMEOSZTÁZIS, BIOAKTÍV ÁGENSEK ÉS SZEKUNDER PREVENCIÓ COLECTOMIA UTÁN

Blázovics Anna¹, Váli László¹, Székely György², Pallai Zsolt³, Kurucz Timea³, Szilvás Ágnes²

Semmelweis Egyetem, II. Belgyógyászati Klinika¹, Szent János Kórház², Diachem Kft³, Budapest

A moderált oxidatív stressz nagyon fontos a jelátvitelben és esszenciális a proliferáció, valamint az apoptotikus sejthalál során, ezért az antioxidáns túlsúly súlyos problémát jelenthet.

A diéta-függő antioxidáns bioaktív vegyületek, mint pl. a vitaminok, polifenolok, flavonoidok, (izotiocianátok, stilbén) és a fémek képesek szabályozni ezeket a folyamatokat in vitro, de hatásmechanizmusuk in vivo nem ismert minden részletében.

Tanulmányunk célja az volt, hogy vizsgáljuk az antioxidánsokban és fémekben gazdag szabadalmaztatott „Zöldség és gyümölcs színanyag-koncentrátum”, - amely a fent említett komponenseket tartalmazza - hatását colectomizált önkéntesekben.

A koncentrátumot három hónapon keresztül adtuk 20 felnőttnek 5-10 évvel a colectomia után.

A kezelés (2x1 adagolókanál/nap) kedvezőtlenül befolyásolta a plazma és erythrocyta szabadgyök-szintet és a HbA1c-koncentrációt, csökkentette a plazma H-donor-aktivitást és a redukálóképességet. Hasonlóan csökkent a SOD- és a GSHPx-szint a tünetmentes betegekben. A HbA1c-szint szingifikáns pozitív korrelációt mutatott az erythrocyta szabadgyök-szinttel, és a csökkent antioxidáns státusszal. A szervezet jelentős kompenzáló hatása következtében esszenciális szabad gyököket indukált a nutritív antioxidáns túlsúly miatt.

Az antioxidáns-fogyasztás nélkülözhetetlen az egészséges élethez, de a koncentrációtartomány tág és függ az egyed genetikai adottságaitól is. Az antioxidánsok, hasonlóan a fémekhez befolyásolják a jelátviteli utakat, helyreállítják a szervezet normális funkcióit, de a bioaktív vegyületek hosszas, kontrollálatlan fogyasztása kontraindikált. (Támogatás: NKFP 1B/047 Program)

A HÍZÓSEJTEK SZEREPE AZ EPE ÁLTAL KIVÁLTOTT OESOPHAGITIS PATOMECHANIZMUSÁBAN

Erős Gábor, Kovács Flóra, Kaszaki József, Boros Mihály

Célkitűzés: Az epés regurgitáció jelentős kóroki tényező mind az akut mind a krónikus nyelőcsőgyulladás kialakulásában. A hízósejtek a gastrointestinalis traktus számos kórfolyamatában részt vesznek, de szerepük a reflux oesophagitis patomechanizmusában kevésbé tisztázott. Célul tűztük ki a hízósejt-reakciók valamint a potenciálisan protektív tulajdonságú foszfátidilkolin (PC) hatásának vizsgálatát akut epés esophagitis állati modelljében.

Módszerek: Kísérleteinket altatott kutyákon végeztük. Az első – kontroll csoport (n=5) nyelőcsővét fiziológiás sóoldattal töltöttük fel. A 2. csoportban (n=6) hígított epét juttattunk a lumenbe. A 3. csoportot (n=6) az epe beadása előtt PC oldattal (50 mg/kg iv) előkezeltük. A kísérlet végén szövetmintát vettünk, melyből meghatároztuk a szöveti ATP koncentrációt, a mieloperoxidáz (MPO) aktivitást, szövettani metszetekből pedig a hízósejt degranuláció (alciánké-k-safranin O festés) és a strukturális károsodás mértékét.

Eredmények: Az epés kezelés a mucosa hízósejtek kb. 80%-ának degranulációját és a kontrollhoz képest 2.5-szeres leukocyták akkumulációját eredményezte. A szöveti ATP koncentráció a kontrollhoz viszonyítva 45%-kal csökkent. A PC előkezelés után a hízósejt degranuláció mértéke szignifikánsan alacsonyabb volt (54%). A PC beadása nem befolyásolta jelentősen a felszíni szövetkárosodást, de az epe által okozott ATP depleciót és leukocyták akkumulációját kivédte.

Összefoglalás: A hízósejtek fontos szerepet töltenek be a nyelőcső nyálkahártya védelmi mechanizmusában. A szisztémás PC előkezelés az ATP szint csökkenés és a gyulladásos válasz gátlása révén fejtette ki protektív hatását. A parenterális PC hatékony terápia lehet az epe által okozott szöveti károsodás esetén.

A TEST EGYENSÚLYÁNAK MEGTARTÁSÁT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK VIZSGÁLATA KOSÁRLABDÁZÓKON

Ángyán Lajos, *Téczely Tamás és *Petőfi Áron

*PTE, FEEK, Emberi Erőforrás Fejlesztési Intézet, Mozgástani
Kutatócsoport, * PTE, ÁOK, Mozgástani Intézet*

Az emberi test sztatikus és dinamikus egyensúlyának megtartása a mozgásszabályozás fontos feladata. Az egyensúly megtartása tanulható és fejleszthető motoros képesség. Ezért fontos mindazon tényezők vizsgálata, amelyek befolyásolják az egyensúlyozást. Három csoportba sorolhatjuk a test egyensúlyát befolyásoló tényezőket: (1) biomechanikai jellemzők (pl. testtömeg), (2) motoros képességek (pl. izomerő), és (3) az idegrendszer általános izgalmi állapota (pl. reakciókészség). Miután a kosárlabda játékokban kitüntetett szerepe van mind a sztatikus, mind a dinamikus egyensúly megtartásának, 11 professzionális, 22±5 éves, férfi kosárlabdázón vizsgáltuk a testméreteket, néhány motoros képesség és a reakcióidő összefüggését az egyensúly megtartásával. Az egyensúlyozást egy lábon állással, számítógéphez kapcsolt stabilométerrel és gerendán járással vizsgáltuk. Az adatok elemzéséhez kétmintás t-próbát és korrelációs számítást alkalmaztunk. Méréseink szerint a dinamikus egyensúly megtartása könnyebb, mint a sztatikus egyensúlyé (különbség: 1.9 lépés/perc, $p < 0.01$). A stabilométeren mért billenések balra valamivel nagyobbak, mint jobbra (különbség: 2.3°, $p < 0.001$). Szoros összefüggést találtunk a billenések nagysága és a testméretek közül a testtömeg és a testtömegindex, a motoros képességek közül pedig a sztatikus erő és a teljesítőképesség között. Közepes, de statisztikailag szignifikáns összefüggés volt a reakcióidő és a billenések nagysága között. Ez a tény megerősíti azt a felfogást, hogy a mozgásérzékelő receptorokból kiinduló ingerületekkel kiváltott billenések - a fény, illetve hangingerekre adott válasz reakcióidejéhez hasonlóan - az idegrendszer reakciókészségét tükrözik, s ennek megfelelően fejleszthető az egyensúlyozás, mint motoros képesség.

FELNÖTT LAKOSSÁG ÉLETTANI TELJESÍTMÉNYE

Frenkl Róbert, Mészáros János, Mohácsi János,
Petrekánits Máté

Semmelweis Egyetem, Testnevelési és Sporttudományi Kar

A felnőtt lakosság testösszetétele és fiziológiai teljesítőképessége az utóbbi 15-20 év során is jelentősen változott. A túlsúly és a nagyon mérsékelt kardiorespiratorikus állóképesség alapján veszélyeztetettek aránya, a nemtől függetlenül 40-55% közöttre becsülhető.

A vizsgálat célja olyan protokoll kialakítása, amely alkalmas a nem sportoló felnőtt lakosság aktuális kondíciójának és terhelhetőségének megállapítására, a rekreációs testedzés élettani megalapozására.

Az antropometriai és terheléses élettani adatfelvételt a Helsinki Nyilatkozat vonatkozó paragrafusai értelmében a vizsgálatra önként jelentkező, 18-65 éves korú, rendszeresen nem sportoló, egészséges felnőtteknél végezték el.

A tápláltsági állapotot a testmagasság és a testtömeg ismeretében számítható testtömegindexszel (BMI) és a Lange-kalliperrel mért bőrredő vastagságok alapján számított relatív testzsírtartalommal jellemezték egyénenként. A mérhető és pontosan adagolható fizikai terhelést futószalag ergométeren hajtották végre a vizsgáltak, előzetes bemelegítés után, folyamatos EKG-kontroll mellett. A terhelés folyamatában mért VE/VO_2 és a VE/VCO_2 alapján meghatározták a légzési anaerob küszöböt egyénenként.

A kritikus testzsírtartalom nagyobb gyakorisága 45 éves kortól jellemző mindkét nemben. Részben az extra testtömeg következménye az, hogy a 45-65 éves korcsoportok élettani teljesítményének korfüggő csökkenése meredekebb, mint 18-45 éves kor között.

A szelekciós szempontok miatt – önkéntesség, negatív laboratóriumi leletek – a minta nem tekinthető reprezentatívnak, viszont alapot nyújt a kíváncsok korosztályi élettani referencia értékek megállapítására. Jelen eredmények gyengébbek, mint a nemzetközi összehasonlító értékek. (Niemann 1995)

AZ E/A HÁNYADOS A NYUGALMI PULZUSSZÁM FÜGGVÉNYÉBEN EDZETT ÉS NEM EDZETT FÉRFIAKBAN

Kneffel Zsuzsanna, Kispéter Zsófia, Horváth Patrícia, Christofi
Kyriaki, Sidó Zoltán*, Pavlik Gábor

*Semmelweis Egyetem, Testnevelési és Sporttudományi Kar, *Magyar
Honvédség Központi Honvédkórház*

A rendszeres edzés jótékony hatása a diasztolés funkcióra bizonyos csoportokban megnyilvánulhat magasabb E/A hányadosban. Értékelését megnehezíti, hogy a pulzusszámmal fordított arányban van, tehát nehéz tisztázni, hogy az E/A hányados növekedése az edzésbradycardia következménye vagy önálló edzéshatásnak tudható be.

Echokardiográfiás Doppler-vizsgálattal határoztuk meg a korai (E) és a késői telődés (A) csúcsebességét diasztolében. A kérdés tisztázásáért a két lehetőség adódik. Az egyik, azonos életkorú és azonos pulzusszámú edzett és nem-edzett csoportok E/A átlagainak összehasonlítása, ezt alkalmaztuk korábbi munkánkban. A másik lehetőség, regressziós egyenesek összehasonlításával vizsgáljuk az edzettek és nem edzettek értékeit, ezt végeztük el jelen vizsgálatunkban. 940 edzett és 298 nem edzett férfi adatait hasonlítottuk össze öt korcsoportban: 14 év alatti gyermekekben, 14-20 év közötti fiatalokban, 21-30 év közötti fiatal felnőttekben, 31-44 év közötti felnőttekben és 44 év feletti idősebbekben. Az első három korcsoportban sem a regressziós egyenesek meredekségében, sem egymáshoz való viszonyukban nem látszott eltérés az edzett és a nem edzett csoportok között. A 31-44 év közötti felnőtt férfiakban az edzettek egyenese párhuzamosan magasabban futott a nem edzettekénél. Az idősebbeknél csak az edzett csoportban volt szignifikáns regresszió az E/A hányados és a pulzusszám között.

Eredményeink szerint a pulzusszám hatását mindig figyelembe kell venni az E/A hányados értékelésénél. Vannak olyan esetek, amelyekben a sportolók jobb relaxációs indexe kizárólag az alacsonyabb pulzusszámmal magyarázható (fiatalok), de vannak esetek, amelyekben egyértelmű az aktív életmód önálló hatása (idősebbek).

Kulcsszavak: diasztolés funkció, edzett szív, életkor, echokardiográfia

A NYUGALMI VÉRNYOMÁS, PERCTÉRFOGAT ÉS PERIFÉRIÁS ELLENÁLLÁS VÍZI SPORTOLÓKBAN

Pavlik Gábor, Kneffel Zsuzsanna, Németh Hajnalka, Osváth Péter, ***Sidó Zoltán**., **Horváth Patrícia**

*Semmelweis Egyetem, Testnevelési és Sporttudományi Kar,
Egészségtudományi és Sportorvosi Tanszék, Budapest, *Magyar
Honvédség központi Honvédkórház, Budapest*

Célkitűzések: Előző vizsgálatunkban a TF rendelőjében sportorvosi ellenőrzésre és echokardiográfiás mérésre megjelent különböző sportolók és nem-sportoló egészséges emberek nyugalmi vérnyomását vizsgáltuk különböző életkorokban. Többek között megállapítottuk, hogy a vízi sportolók vérnyomása valamivel magasabb volt, mint a szárazföldi versenyzőké.

Módszerek: Jelen vizsgálatban négy életkorban, mindkét nemből összehasonlítottuk a vízi sportolók vérnyomását szárazföldi sportolók vérnyomásával és egészséges nem-edzett emberekével. Kétdimenzionálisan irányított echokardiográfiás vizsgálatok segítségével kívántunk tájékozódni arról, hogy a vérnyomás meghatározó tényezői mennyiben vesznek részt a vérnyomás alakításában.

Eredmények: 15 évesnél fiatalabb korban csak a szinkronúszó lányok vérnyomása volt valamivel magasabb, mint a nem sportolóké és a szárazföldi sportolóké. Serdülő és ifjúsági korosztályban (15-18 év) az úszó, szinkronúszó és vízilabdázó lányok vérnyomása volt magasabb. Fiatal felnőtt korban (19-30 év) férfiakban a vízilabdázók és öttusázók, nőkben az úszók, vízilabdázók és öttusázók vérnyomása volt valamivel magasabb. Következtetés: Az említett csoportokban a perctérfogat sehol nem volt magasabb, az emelkedett vérnyomást a perifériás rezisztencia növekedése idézte elő.

Kulcsszavak: vérnyomás, echokardiográfia, vízi sportolók

A SERCA2A AKTIVITÁS KARAKTERISZTIKUS VÁLTOZÁSAI A DILATATÍV KARDIOMIOPÁTHIA MANIFESZT SZAKASZÁBAN

Barnucz Enikő, Takács Annamária, Miklós Zsuzsanna, Ligeti László, Ivanics Tamás

SE, Klinikai Kísérleti Kutató-és Humán Élettani Intézet

BEVEZETÉS: Kísérleteink során vizsgáltuk a dilataív kardiomiopátia (DCM) alatt végbemenő változásokat az intracelluláris kalcium transzport folyamatokban részt vevő fehérjék működésében, illetve mRNS szintjében. Kísérleteink modelljéül az MLP-KO egértörzset választottuk.

MÓDSZEREK: 3 és 9 hónapos egerek szíveit izoláltuk és Langendorff szerint perfundáltuk. A bal kamrai nyomást ballon katéter segítségével regisztráltuk. A $[Ca^{2+}]_i$ változásának dinamikáját Indo1-AM festékkel követtük nyomon fluorometrián. Az intracelluláris kalcium homeosztázis fenntartásában szerepet játszó kulcsenzimek mRNS szintjét rt-PCR-rel határoztuk meg. A szarkoplazmatikus retikulum (SR) Ca^{2+} -ATP-ázának (SERCA2a) súlyát a Ca^{2+} transzportban a transzporter gátlásával (ciklopiazonsav, CPA 5 μ M) becsültük meg.

EREDMÉNYEK: CPA hatás alatt a 3 hónapos hibrid állatokban észlelt értékhez ($42,1 \pm 5,6$ ms) képest az ugyanilyen korú beteg állatokban a Ca^{2+} -tranzien্স félrelaxációs ideje megnyúlt ($60,6 \pm 7,4$ ms), a 9 hónapos állatok félrelaxációs idejében azonban nem találtunk különbséget. SERCA2a gátlás alatt ennek megfelelően a fiatalabb állatokban a kontrollhoz képest megnőtt a végdiasztolés kalcium koncentráció, a 9 hónaposakban viszont már mérséklődött a különbség a beteg és a kontroll csoport között. A 3 hónapos MLP-KO egerek bal kamrai félrelaxációs képessége ($57,7 \pm 7,7$ ms) elmarad a hasonló korú, kontroll egyedekéhez képest ($43,5 \pm 4,2$ ms). A 9 hónapos hibrid és KO egerek relaxációs képességében nem találtunk különbséget. A rianodin receptor (RyR2), a nátrium-kalcium kicserélő (NCX) és a foszfolamban (PLB) mRNS szintjei a DCM különböző stádiumaiban nem változtak. A DCM korai szakaszában (3 hónapos) csökkent a SERCA2a mRNS szintje (22% a kontrollhoz képest), míg a betegség manifeszt szakaszában (9 hónapos) megegyezett a kontroll állapottal (110% a kontrollhoz képest).

KÖVETKEZTETÉS: Eredményeink arra utalnak, hogy a betegség korai szakaszában a SERCA2a mRNS szintje és működése sérül, majd a DCM késői szakaszában eddig ismeretlen szabályozó mechanizmusok révén restituiálódik

A $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ EXCHANGER GÁTLÁS FAJSPECIFIKUS HATÁSA A SZÍVIZOM KONTRAKTILITÁSRA IZOLÁLT NYÚL ÉS PATKÁNY SZÍVBEN

Farkas Attila, Acsai Károly, Balázs Marianna, Tóth András,
Forster Tamás, Csanády Miklós, Papp Gyula, Varró András,
Farkas András

*SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet és SZTE ÁOK
II.sz. Bel. Klinika és Kardiológiai Centrum*

A $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger (NCX) kulcsszerepet játszik az akciós potenciál időtartama alatt a szívizomsejtekbe bejutó Ca^{2+} ionok eltávolításában és az intracelluláris Ca^{2+} homeosztázis fenntartásában. Inotróp hatásának vizsgálatát mindeddig nehezítette kellően specifikus blokkolók hiánya. Kísérleteinkben egy új, az eddigieknél lényegesen szelektívebb NCX gátló, a SEA0400 (2-[4-[(2,5-difluorophenyl)methoxy]phenoxy]-5-ethoxyaniline) 0,1, 0,3 és 1,0 μM koncentrációjának hatását vizsgáltuk a szívizom kontraktilitásra. Izolált, Langendorff-perfundált nyúl és patkány szíveken a bal kamrába ballont helyeztünk, amelynek térfogatát változtatva feszítettük a kamrafalat, miközben a kamrai nyomást folyamatosan regisztráltuk. Starling görbét készítettünk: a ballon térfogatának függvényében regisztráltuk a bal kamrai nyomásértékeket. Vizsgálatunkban a SEA0400 egyik koncentrációja sem befolyásolta izolált nyúl szívben a bal kamrai nyomás értékeket, ezzel szemben izolált patkány szívben a szer 1,0 μM koncentrációban növelte a bal kamrai ballonnal történő feszítésre kialakuló szisztolés nyomás értékeket a kontrollhoz viszonyítva (SEA0400 1,0 μM : 154 ± 9 Hgmm, kontroll: 138 ± 4 Hgmm; $P < 0,05$). A SEA0400 nem változtatta a vizsgált EKG szakaszok (PQ, QRS, RR, QT) hosszát egyik fajban sem.

Eredményeink szerint az NCX szelektív gátlása a kontraktilitást vizsgálva faj specifikus következményekkel járt: izolált patkány szívben pozitív inotróp hatású volt, míg izolált nyúl szívben nem okozott változást. Ennek hátterében valószínűleg a két faj eltérő akciós potenciál alakja következtében kialakult különböző intracelluláris Ca^{2+} transzport folyamatok állhatnak.

A vizsgálatot támogatta: ETT 203/2003, OTKA F046776 és BO/00168/03.

AZ ENDOKANNABINOID RECEPTOROK SZEREPE A HŐSOKK KARDIOPROTEKTÍV HATÁSÁBAN

Mirk Éva, Duray Borbála, Miklós Zsuzsanna, Ivanics Tamás,
Ligeti László

*Semmelweis Egyetem, Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani
Intézet*

Bevezetés: Számos megfigyelés utal arra, hogy hősokk (HS) előkezelés iszkémia elleni védő hatásában szerepet játszhatnak az endogén kannabinoid receptorok. Ezzel összhangban korábbi kísérleteinkben kimutattuk, hogy a HS előkezelt szívek endokannabinoid (anandamid) szintje kétszeresére emelkedett. Jelen kísérleteink során azt vizsgáltuk, hogy az eddig ismert endokannabinoid receptorok részt vesznek-e a HS előkezeléssel kiváltott kardioprotektív hatásban.

Kérdések: Hogyan változik a szívizom kontraktilitása, relaxációs képessége és az intracelluláris kalcium homeosztázis HS után, illetve a CB_1 és CB_2 receptorok szelektív gátlása során?

Módszerek: Hím Wistar patkányok maghőmérsékletét 15 percre 42 °C-ra tartottuk. 24 óra múlva a szíveket izoláltuk, majd Langendorff szerint perfundáltuk. 30 perces iszkémiás és 30 percre tartó reperfúziós modellt alkalmaztunk. CB_1 és CB_2 receptor antagonisták (1 μM SR 141716A, 1 μM SR 144528) adását az iszkémia előtt elkezdtük és folytattuk az egész kísérlet alatt. Mértük az izolált szívek hemodinamikai paramétereit és az intracelluláris szabad kalcium (Ca^{2+}_i) koncentrációt.

Eredmények: Megfigyeltük, hogy a HS-os szívek az iszkémiás károsodást jobban tolerálták, végdiasztolés Ca^{2+}_i -szintjük alacsonyabb volt (kontroll: 1119 ± 308 , HS: 786 ± 157 nM). A CB_1 és CB_2 receptorok gátlása ezt a hatást nem befolyásolta (SR 141716A: 812 ± 140 nM, SR 144528: 734 ± 160 nM). Ezzel összhangban változtak a szív relaxációs képességét jellemző $-\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$ paraméterek a reperfúzió végén (kontroll: -355 ± 54 , HS: -459 ± 196 , SR 141716A: -450 ± 111 , SR 144528: -488 ± 155 Hgmm/s).

Következtetés: Megállapítottuk, hogy a HS kardioprotektív hatása nem a CB_1 és CB_2 receptorokon keresztül valósul meg. Ez azonban nem zárja ki az endokannabinoidok szerepét, mert elképzelhető, hogy azok az újonnan felfedezett CB_3 receptoron keresztül hatnak. Ennek tisztázásához további kísérletek szükségesek.

FOSZFOLIPÁZ A2 GÁTLÓSZEREK ARITMIÁKAT VÁLTANAK KI PATKÁNY KAMRAI SZÍVIZOMSEJTEKEN

Szentandrassy Norbert¹ és Stephen C. O'Neill²

¹Debreceni Egyetem OEC, Élettani Intézet, Debrecen és

²Cardiac Physiology Unit, School of Medicine, University of Manchester, United Kingdom

A foszfolipáz A2 (PLA2) miokardiális iszkémia hatására aktiválódik és többszörösen telítetlen zsírsavakat szabadít fel a szívizomsejtek membránjából. Ezen molekulák védelmet nyújtanak az életveszélyes szívritmuszavarokkal szemben. A PLA2-nek kalcium-függő és kalcium-független formája is jelen van a szívizomsejtekben. Ezek különböző stimulusokkal aktiválhatók, de az endogén aktivitásukról csak keveset tudunk. Célunk tehát az volt, hogy megvizsgáljuk a PLA2 endogén aktivitását és ennek lehetséges szerepét szívizomsejteken.

Kísérleteinket felnőtt Wistar patkányok szívéből izolált kamrai sejteken végeztük 25 C-on. Az akciós potenciálok (AP-ok) mérése és a sejtek feszültség-clamp-je perforált-patch technikával történt. Az intracelluláris Ca²⁺ koncentráció (Ca²⁺ic) méréséhez Indo-1AM-et vagy Fluo-3AM-et használtunk. A PLA2 gátlása 4-bromofenacil-bromiddal (4-BPB) és metil-arachidonil-fluorofoszfónnával (MAFP) történt. Mindkét PLA2 gátlószer percekben belül irreverzibilis módon növelte az AP-ok időtartamát. 5 mikrom MAFP 20.6±2.6%-kal (n=22, p<0.001), míg 10 mikrom 4-BPB 73.2±13.4%-kal (n=17, p<0.001) emelte az APD90 értékeit. Továbbá mindkét szer korai és késői típusú utódepolarizációkat okozott és spontán AP-okat váltott ki. MAFP jelenlétében majdnem minden sejten mindhárom típusú aritmia megfigyelhető volt. A 4-BPB kevésbé volt hatékony, egyik vizsgált sejt sem mutatta egyszerre mindhárom típusú aritmiát. Ezen aritmiákat az (Ca²⁺ic) emelkedése előzte meg és kimosással nem voltak megszüntethetőek. A PLA2 termék arachidonsav (20 mikrom) hozzáadása drámaian csökkentette mindhárom típusú aritmia számát és előfordulását.

Eredményeink azt sugallják, hogy patkány kamrai szívizomsejtekben a PLA2-nek endogén aktivitása lehet. Az így felszabaduló AA antiaritmiás tulajdonsága révén védhet a szívritmuszavarokkal szemben. Az antiaritmiás hatás pontos mechanizmusa és a benne szerepet játszó PLA2 típusának kiderítése azonban további kísérleteket igényel.

PROTEIN KINÁZ C-ALFA KALCIUM FÜGGŐ KÖTŐDÉSE A HUMÁN SZÍVIZOMSEJTEK MIOFIBRILLÁRIS FEHÉRJÉIHEZ

Molnár Andrea, Pásztorné Tóth Enikő, Kornelia Jaquet², Szűcs Viktória, Varró András, Papp Gyula, Vaszily Miklós, Galajda Zoltán, Bagi Zsolt, Papp Zoltán, Édes István, Peter M. Blumberg és **Tóth Attila**

Debreceni Egyetem, Kardiológiai Intézet, Klinikai Fiziológiai Tanszék

A különböző protein kináz C (PKC) izoenzimek gyakran expresszálódnak ugyanazon sejtekben és különböző hatásokat közvetítenek. A PKCalfa a szívben legnagyobb mennyiségben expresszálódó PKC izoforma, amely részt vesz a kontraktilitás szabályozásában.

Hipotézisünk szerint a PKCalfa aktiválódását követően transzlokálódik a mifibrilláris rendszerhez, ahol kontraktilis fehérjét foszforilálva fejti ki hatását.

A kísérletekben humán bal kamrai izomsejteket izoláltunk melyeket triton-X-100-zal kezeltünk. A kezelést követően a mifibrilláris rendszer centrifugálással elkülöníthető a citoszol-membrán frakciótól.

Eredményeink szerint Ca²⁺ jelenlétében (1 mM) a PKCalfa a citoszolból a mifibrilláris rendszerhez transzlokálódott (PKCalfa kötődés: kontrol: 12±6%; +Ca: 93±7% p<0.05; +PMA: 34±11%; +Ca+PMA: 91±5%, p<0.05). A transzlokáció Ca²⁺ függése (EC50) 645 nM-nak adódott. A PKCalfa kötő fehérjék kimutatása érdekében overlay assay-t használtunk, mellyel legalább 5 fehérjéhez mutattuk ki a PKCalfa kötődését. A kötőfehérjék molekulamérete alapján feltételeztük, hogy ezek egyike a troponin-I (TnI). Ezt megerősítette, hogy sikerült kimutatni a PKCalfa Ca²⁺ függő kötődését tisztított, rekombináns TnI-hez. Érdekes, hogy ez a kölcsönhatás nem függött az oldatok foszfolipid és diacil-glicerol tartalmától. Az in vitro kísérleteket alátámasztotta, hogy fagyasztva metszett humán szívizomban a TnI és PKCalfa kolokalizálódott immunhisztokémiai adataink szerint. Végül, in vitro foszforilációs kísérletekben az aktivált PKCalfa számos mifibrilláris fehérjét foszforilált, többek között a TnI-t is.

Összefoglalva, kimutattuk, hogy a PKC képes a mifibrilláris rendszer fehérjéihez transzlokálódni és azokat foszforilálni. Továbbá, eredményeink szerint a TnI a PKC kötő fehérjék új csoportjának (a korábbi elnevezések analógiájára: receptors for Ca²⁺ bound C-kinase (RECK)) első tagja lehet.

A kísérleteket az OTKA (F48873) támogatta.

AZ IDEGI PLASZTICITÁSTÓL A NEUROPROTEKCIÓIG

Toldi József

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

Az előadás áttekinti azt a munkát, amit a szerző és munkacsoportja a címben megjelölt területen az elmúlt 15 év alatt folytatott.

Kísérleteikben kimutatták, hogy a látórendszer korai sérülése (részleges vagy teljes vakság) a központi idegrendszer kiterjedt részeiben olyan változásokat okoz, ami keresztmodalitású hatásként a többi szenzoros rendszert is érinti, kompenzáló folyamatokat indukálva pl. a szomatoszenzoros rendszerben. Mindez –többek között- a kérgi reprezentációs térképek átrendeződését is eredményezi. Ilyen kérgi plaszticitás azonban nemcsak a szenzoros idegek sérülésekor (pl. a nervus trigeminus infraorbitalis ágának átmetszésekor) következik be, de pl. motoros kérgi plasztikus változások felnőtt állatokon is kiválthatók a nervus facialis tisztán efferens rostokat tartalmazó ágának átvágásával. A néhány perc alatt bekövetkező változások arra utalnak, hogy a perifériás idegi sérülések az agykéreg gátlási szintjének csökkenését eredményezve, eleve meglévő, de a sérülés előtt gátolt idegi kapcsolatok manifesztálódását teszik lehetővé. A munkacsoport későbbi kísérleteiben be is bizonyította a perifériás idegi sérülésre bekövetkező kérgi gátlási szint-csökkenést.

Az agykéreg ingerlékenységének fokozódása nemcsak perifériás idegi sérülések után figyelhető meg, de jellemző az agyi traumákat, ischémiás-reperfúziós állapotokat követően is. A szerző és munkacsoportja agykérgi léziót és extravazációt okozó két modellen (hideglézió és fototrombotikus lézió), továbbá globális ischémiát okozó 2VO és 4VO modelleken vizsgálja a neuroprotekciónak lehetőségei közül azokat, melyek a sérülés következtében előálló túlzott ingerlékenység fokozódásnak fékmentését célozzák. A kitűzött célt két úton közelítik meg: egyrészt a glutamát-receptorok közül az NMDA típusúak transziens blokkolásával, másrészt a sérülés következtében megemelkedett agyi glutamát-tartalom csökkentése révén.

OSCILLATORY NEURONAL ACTIVITY AND VOLITIONAL EYE MOVEMENTS: POTENTIAL RELEVANCE TO BASAL GANGLIA PATHOLOGY AND PARKINSON'S DISEASE

Ivan Bodis-Wollner

Parkinson's Disease and Related Disorders Clinic, State Univ. of New York, Downstate Medical Center

A FAMILIARIS SCLEROSIS MULTIPLEX EPIDEMIOLÓGIÁJA MAGYARORSZÁGON

Bencsik K.¹, Fricska Nagy Zs.¹, Rajda C.¹, Füvesi J.¹, Honti V.¹,
Vécsei L.^{1,2}

¹ SZTE Szent-Györgyi Albert orvos és Gyógyszerésztudományi Centrum,
Neurológiai Klinika, Szeged.

² MTA-SZTE Neurológiai Kutatócsoport

Bevezetés: A sclerosis multiplex (SM) fiatal felnőtt korban, a kaukázusi rasszban, nők között az egyik leggyakoribb megbetegedés. Magyarországon 6000-6500 SM beteg él (1). Etiológiájában genetikai fogékonyság, vírusinfekció, környezeti tényezők egyaránt szerepet játszanak. A betegség családi halmozódását a nemzetközi irodalmi adatok (2,3) 5-10%-ban adják meg.

Célkitűzés: jelen tanulmányban a magyar SM beteg populáció 25%-ban határozzuk meg a kórkép familiáris előfordulását.

Betegek és módszer: Magyarországon 2004-ben 5 SM centrum, 1500 páciense demográfiai adatainak felhasználásával vizsgáltuk a betegség családi halmozódását. A betegek a McDonald diagnosztikus kritériumok szerint relapszus-remisszió, szekunder progresszív és benignus kórformájúak voltak. Pácienseink között 15 családban (33 beteg) diagnosztizáltunk SM-et az első ági rokonok között.

Összefoglalás: Magyarországon az SM familiáris előfordulás 2% a teljes beteg populáció tekintetében. A nemzetközi irodalmi adatok szerint 5-10%-os a familiáris rizikó, ám ezen vizsgálatok magas prevalenciájú (120-180/100000) területekről származnak. Jelen tanulmány az első a közép-kelet európai régióban, mely a betegség familiáris rizikóját határozza meg.

Irodalom:

1. Bencsik K., Rajda C., Füvesi J., Klivényi P., Járdánházy T., Török M., Vécsei L.: The prevalence of multiple sclerosis, distribution of clinical forms of the disease and functional status of patients in Csongrad county, Hungary. *Eur Neurology* 2001;46:209-9.
2. Ebers GC., Bulman DE., Sadovnick AD., Rice G.: A population-based study of multiple twins. *N Engl J Med* 1986;315:1638-42.
3. Ebers GC., Sadovnick AD., Risch NJ.: A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. Canadian collaborative Study Group. *Nature* 1995; 377:150-51.

PROGRESSZÍV ELEKTROFIZIOLÓGIAI VÁLTOZÁSOK AURÁS MIGRÉNBN

Benedek Krisztina, Janáky Márta, Tajti János, Kun Zsuzsanna,
Vécsei László,

¹Szegedi Tudományegyetem Neurológiai Klinika, Szeged

²MTA-SZTE Neurológiai Kutatócsoport

³Szegedi Tudományegyetem Szemészeti Klinika, Szeged

Vizsgálatainkban 20 aurás migrénes beteg elektrofiziológiai változásait ERG, OP, VEP, PERG amplitudó és latenciáértékeit vizsgáltuk, fejfájásuk időtartama, rohamszáma és súlyossága függvényében. A felvételeket koruknak megfelelő kontrollokhoz, valamint 10 év alatti és 10 évnél hosszabb migrénes anamnézissel rendelkező betegekével hasonlítottuk össze. Külön vizsgálatban 10 betegnek két egymást követő felvétele készült, hét éves különbséggel. A standard ERG nem mutatott statisztikai különbséget sem migrénes és kontroll, sem pedig rövid és hosszú migrénes anamnézisű betegek között. Ellentétben ezzel, a hét éves utánkövetési vizsgálatok alapján szignifikáns b hullám amplitudó csökkenést találtunk függetlenül az aktuális rohamfrekvencia vagy a preventív medikációtól.

Az OP első pozitív hullámának amplitudója szignifikánsan nagyobb, latenciája rövidebb volt a rövid mint a hosszú migrénes anamnéziséknél. OP1 amplitudó ugyancsak nagyobb volt a kontroll populációban mint migréneseknél ($p=0.02$). A longitudinális vizsgálatban az OP1 amplitudó csökkent, a latencia pedig nőtt a 7 éves utánkövetési periódusban.

A VEP p100 hullámának amplitudója szignifikánsan nagyobb volt rövid, mint hosszú migrénes anamnézisű betegeken ($p=0.008$). A két egymást követő vizsgálattal rendelkező betegek közül 6 esetben csökkent, 2 esetben nőtt, és 2 esetben változatlan maradt az amplitudó. A PERG amplitudók szignifikánsan kisebbek voltak migrénben mint kontrollokban, és ugyancsak csökkentek hosszú migrénes időtartamnál.

Eredményeink progresszív elektrofiziológiai változásokra utalnak hosszú migrénes anamnézisű betegeknél. Ezek a változások utalhatnak szubklinikus látásromlásra, valamint a kezdetben hiperexcitabilis Ca^{+} , Na^{+} és Cl^{-} csatornák lehetséges kimerülésére.

IMMUN/GYULLADÁSOS TÉNYEZŐK SZEREPE NEURODEGENERATÍV KÓRKÉPEKBEN

Engelhardt József¹, Siklós László², Havas László³,
Obál Izabella¹, Klausz Gergely⁴, Soós Judit¹

¹Szegedi Tudományegyetem, Neurológia,

²MTA Szegedi Biológiai Kutató, Biofizika,

³Országos Pszichiátriai és Neurológiai intézet, Neuropathológia,

⁴Szegedi Tudományegyetem Mikrobiológia és Immunitástani Intézet.

Betegség és hely specifikus immun-gyulladásos reakcióknak jelentős szerepe van a fatális neurodegenerációs betegségekben előforduló szelektív neuron pusztulásban. A leggyorsabban halálhoz vezető humán motoros neuron (MN) betegségben, az amyotróphiás laterálsclerosisban (ALS) és annak anti-MN IgG adásával indukált állatkísérletes modelljében a MN-ok károsodása humorális immun reakcióként az IgG intracytoplasmikus felvételével indul. Az IgG felvétel együtt jár az intracelluláris Ca²⁺ emelkedésével és fokozott neurotransmitter (glutamát és acetylcholin) felszabadulással. A magas intracelluláris Ca²⁺ szint számos autolytikus folyamatot indít el és a poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) DNS reparáló enzim mennyiségi növekedését is indukálja mind ALS-ben a motoneuronokban, mind Parkinson kórban a substantia nigra dopaminerg neuronjaiban. A PARP az NFkappaB co-aktivátora, mely többek közt az apoptosist elősegítő tényezők transzkripcióis faktora. A neuronokban a PARP túlaktiváció sejthalálhoz vezető energia deficitet is okoz. Az astrocytáknak aktiválódó PARP lehetővé teszi a macrophag chemoattractant protein-1 (MCP-1) termelődését, mely a macrophagok odavonzásáért és a microglia aktivációjáért felelős. A microglia sejtekben a PARP aktivációja segíti a neuronokat károsító autotoxikus anyagok (glutamát, szabad gyökök, interleukinek) termelését és elválasztását mint veleszületett immun funkciót. Antigén prezentáló dendritikus sejtek, lymphocyták lokális megjelenése és a megváltozott vér-agy gát működés a celluláris központi idegrendszeri immun folyamatok lehetőségét teremti meg, tovább erősítve a specifikus immun választ.

ACUSTICUS STIMULÁCIÓK EEG HATÁSAINAK VIZSGÁLATA PONTONKÉNTI KORRELÁCIÓS DIMENZIÓ MEGHATÁROZÁSSAL

A. Járdánházy, **T. Járdánházy**, J. Tajti, L. Vécsei

Department of Neurology, University of Szeged, Hungary

Bevezetés: EEG vizsgálattal a corticalis felszínközeli neuronok dendritjeinek szummálódott postsynapticus potenciáljait regisztrálhatjuk megfelelő erősítés és szűrés után. Különböző aktivációk hatására változások állnak be az agyi tevékenységben, melyek lineáris és nonlineáris módszerekkel kimutathatók. Ezek egyike a pontonkénti korrelációs dimenzió (PD2) meghatározás, amely különbségtételt tesz lehetővé az agy aktivitási szintjei között. Annál magasabb a PD2 értéke, minél összetettebb egy jel, azaz minél több egymástól független generátor vesz részt létrehozásában. Vizsgálataink során előre várt csipogás, két ismételt csengetés, valamint 15-15 sec disco illetve komoly-zene EEG hatásait hasonlítottuk össze.

Módszer: az első vizsgált csoport tagjairól (9 egészséges nő és 5 férfi, átlagéletkor 41 év) 30 sec alapfelvétel készült, a 30. sec-ban csipogó hangot, az 50. sec-ban az 1., a 70. sec-ban a 2. csengetést hallották, majd 90 sec-nál a felvételt leállítottuk. A második csoport tagjai (3 egészséges nő és 8 férfi, átlagéletkor 53 év) 15 sec alapfelvételt követően 15 sec disco zenerészletet hallottak, majd 15 sec csendet követően 15 sec klasszikus zenerészlet következett, majd a felvételt leállítottuk. Az adatfeldolgozás digitalizálással kezdődött 128 Hz mintavétellel, 12 biten. A 16 csatornás felvételtől 3-3-at kiválasztottunk a mindkét oldali frontális, temporális és occipitális területen, és elvezetésenként meghatároztuk a pontonkénti korrelációs dimenziót Skinner és Molnár eljárásával. Statisztikai módszerként a Wilcoxon-féle Signed Rank Testet használtuk.

Eredmények: Az első csoportnál a csipogó hang hatására főleg frontális és occipitális, az első csengetésre temporális és occipitális, és a második csengetésre főleg temporális területen találtunk szignifikáns hisztogram csúcs és átlag csökkenést, melyet a várakozás teljesülésével is magyaráztunk. Az alpha illetve a kevert alpha-béta háttértevékenységű személyek között mérsékelt különbségeket találtunk. A disco-zene a bal frontális, a komoly-zene a bal temporális területen eredményezett szignifikáns hisztogram átlag csökkenést, melyet a zene relaxáló hatásával magyarázhatunk, egyezően irodalmi adatokkal.

Konklúzió: Megállapítottuk, hogy a rövid időtartamú – tájékozási reakciót kiváltó - ingerlések az agy több területén, „diffúzabban” okoztak szignifikáns változásokat, mint az emocionális hatást is kiváltó zene-hallgatás, melynek körülírtabb agyi és relaxáló hatását sikerült kimutatni a pontonkénti korrelációs dimenzió meghatározásával.

A KINURENIN RENDSZER SZEREPE NEUROLÓGIAI MEGBETEGEDÉSEKBEN

Klivényi Péter, Hartai Zsuzsanna, Janáky Tamás, Dux László,
Penke Botond, Vécsei László

*Szegedi Tudományegyetem, Neurológiai Klinika, Orvosi Vegytani
Intézet, Biokémiai Intézet, Szeged*

A kinurenin rendszer a triptofán lebomlás fő útvonala, amely során ez ideig ismert egyetlen excitotoxin receptor antagonistá kinurénsav (KYNA) keletkezik. Az útvonala másik terméke az excitotoxin receptor agonista hatású quinolionsav (QUIN). A kinurénsav szintéziséért felelős enzim a kinurénsav aminotranszferáz (KAT), amelynek 2 típusát ismerünk (KAT I, KAT II). Számos adat utal az excitotoxicitás szerepére különböző neurológiai megbetegedésekben.

Vizsgálataink során azt tanulmányoztuk, hogy egyes központi idegrendszeri (KIR) megbetegedésekben kimutatható-e a kinurenin rendszer érintettsége a periférián. Munkánk során sclerosis multiplexben, Parkinson kórban ill. fokális dystoniában szenvedő betegek vörösvértestjeikben (vvt) ill. a plazmájukban vizsgáltuk a KAT aktivitást, ill. a kinurénsav koncentrációt.

Sclerosis multiplexes betegek vvt-iben emelkedett KAT I és KAT II aktivitást találtunk, míg a KYNA szintje a plazmában emelkedett meg. Parkinson kóros betegek esetén csak a KAT II aktivitás fokozódást tapasztaltuk a vvt-kben, és a KYNA is csak itt emelkedett meg. Fokális dystóniában szenvedő betegek esetén a vvt-kben csak a KAT I aktivitás növekedett meg, míg a KYNA koncentráció nem változott. Mind Parkinson kór, mind fokális dystónia esetén csökkent KAT I és KAT II aktivitást találtunk a plazmában.

Eredményeink arra utalnak, hogy a KIR megbetegedései esetén is ki lehet mutatni a perifériás kinurenin rendszer zavarát. Ezek az eltérések feltehetően másodlagos jelenségek, amelynek előidézésében a KIR-ből kijutó molekuláknak lehet szerepe. Ilyen lehet többek között a 3-hidroxi-kinurenin. Ennek igazolására további vizsgálatok szükségesek.

ADATOK A MIGRÉN PATHOMECHANIZMUSÁHOZ: AGYI EREK VIZSGÁLATA *IN VITRO*

Szok Délia, Vécsei László, *Lars Edvinsson

Szegedi Tudományegyetem, Neurológiai Klinika, Szeged

**Department of Experimental Vascular Research, University Hospital of Lund,
Lund, Sweden*

A migrén patogenezisében, a trigemino-vascularis teória alapján szerepet tulajdonítanak az intrakraniális erek állapotának, melyet számos neurotransmitter befolyásol. Az endotelinek (ET) erős vazokonstriktor hatású kémiai anyagok. Ezen tulajdonságuk miatt szerepet játszhatnak különféle cerebrovasculáris betegségekben (ischaemiás stroke-ban, cerebrális vazospasmusban, migrénben). Kétféle receptor-altípuson keresztül hatnak: a kontraktilis ET-A és ET-B receptorok a vascularis simaizomsejtretegben; míg a dilatátoros ET-B receptorok a vascularis endotheliumban helyezkednek el.

Kísérleteinkben az endotelin hatásait vizsgáltuk patkány agyi ereken "pressurized" *in vitro* arteriográfia módszerrel. A vizsgálandó vasoaktív drogokat szeparáltan (luminálisan ill. extraluminálisan) alkalmaztuk az izolált érdarabkákon. A luminális perfúzáumba adva a farmakont szelektíven stimuláltuk az endoteliális receptorokat, míg az extraluminális térbe adva a vascularis simaizomsejtreteg receptorait ingereltük.

Módszer: "Pressurized" *in vitro* arteriográfia. Hím Sprague-Dawley patkányokat dekapitáltunk CO₂ inhalációt követően és disszekáltuk az artéria cerebri médiákat (ACM). Az ACM-darabkákat (külső átmérő 240-270 µm) puffer-oldattal teli kis kádba helyeztük, az érvégeket rákötöttük két üveg-mikropipettára, luminálisan perfundáltuk (0.1 mL/min) és 85 Hgmm középnyomást biztosítottunk. A puffer-oldat pH-ját 7,4 körül tartottuk (37 °C fokon), 95% O₂/5% CO₂ gázkeverékkel áramoltatva. Az érdarabkák egy invertáló mikroszkópon keresztül video-kamerával egy monitorra voltak kinagyítva. Ezzel a módszerrel az erek külső átmérőjének változásait tudtuk regisztrálni. A szelektív ET-B receptor agonista, sarafotoxin S6c hatását vizsgáltuk ezzel a szövettűrő módszerrel, luminálisan, illetve extraluminálisan alkalmazva patkány agyi ereken.

Eredményeink: Az ET-B receptor agonista sarafotoxin S6c luminálisan adva ehnye vazodilatációt hozott létre patkány ACM-en, míg extraluminálisan adva vazokontrakciót okozott.

Összefoglalva: Az endotelin-B receptorok a vascularis endotheliumban helyezkednek el és szerepük van az erek dilatációjában. A vazodilatáció lehetséges mechanizmusai: nitrogén-monoxid (NO), ciklooxygenáz-metabolitokon és/vagy endothelium-derivált hiperpolarizáló faktor (EDHF) mediálta folyamatok. Blokkolva ezeket az utakat, NO-szintáz inhibitor alkalmazásakor kaptunk csökkent S6c-indukált vazorelaxációt. Ezzel a módszerrel az endoteliális dilatátoros ET-B receptor jelenléte igazolható patkány agyi ereken. Az endoteliális ET-B receptor aktiválásakor létrejövő vazodilatáció valószínűleg NO-mediált.

Irodalom:

1. Tajti J, Knyihár-Csillik E, Szok D, Vécsei L. Experimental models of migraine. *European Journal of Neurology* 1997;4(Suppl 1):S27.
2. Szok D, Hansen-Schwartz J, Edvinsson L. Effect of the ET-B receptor agonist, sarafotoxin 6c on rat cerebral arteries by pressurized arteriography. *Cephalalgia* 2000;20:416-417.
3. Sams A, Knyihár-Csillik E, Engberg J, Szok D, Tajti J, Bódi I, Edvinsson L, Vécsei L, Jansen-Olesen I. CGRP and adrenomedullin receptor populations in human cerebral arteries: in vitro pharmacological and molecular investigations in different artery sizes. *European Journal of Pharmacology* 2000;408:183-193.
4. Szok D, Hansen-Schwartz J, Edvinsson L. In depth pharmacological characterization of endothelin B receptors in the rat middle cerebral artery. *Neuroscience Letters* 2001;314:69-72.
5. Hansen-Schwartz J, Szok D, Edvinsson L. Expression of ET_A and ET_B receptor mRNA in human cerebral arteries. *British Journal of Neurosurgery* 2002;16:149-153.

A NEUROPEPTIDEK SZEREPE A MIGRÉN PATHOMECHANIZMUSÁBAN

^{1,2}Tajti János, ³Rolf Uddman, ⁴Lars Edvinsson, ¹Szok Délia,
^{1,2}Vécsei László

¹Szegedi Tudományegyetem Neurológiai Klinika, Szeged

²Magyar Tudományos Akadémia és Szegedi Tudományegyetem
Neurológia Kutatócsoportja, Szeged

³Department of Otorhinolaryngology, Malmö University Hospital,
Malmö, Sweden

⁴Department of Internal Medicine, Lund University Hospital, Lund,
Sweden

Bevezetés: A migrén rohamokban jelentkező, multifaktoriális, neurovascularis megbetegedés. Az egyik leggyakoribb neurológiai kórkép, mely a felnőtt lakosság 16%-át érinti, és ezért jelentős gazdasági-társadalmi hatása van. Pontos pathomechanizmusa nem ismert, de a jelenlegi hipotézisek a trigeminovascularis rendszer aktivitását tételezik fel a fejfájás hátterében.

Módszerek: A neuromessenger molekulák és receptor mRNS jelenlétét és megoszlását a human ganglion trigeminaléban (Gasser-dúc) immuncitokémiai, in situ hybridizáció és reverz transzkriptáz-polimeráz láncreakció (RT-PCR) technikákkal tanulmányoztuk.

Eredmények: Indirekt immunfluoreszens vizsgálatok igazolták, hogy a trigeminalis ganglionban a neuronok 40%-a calcitonin génrelációs peptid (CGRP), 18%-a P-anyag (SP), 15%-a nitrogén oxid szintáz (NOS), 20%-a hypofízis adenilát cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) immunreaktivitást mutatott. Nem találtunk neuropeptid Y (NPY) immunaktív sejteket. In situ hybridizációval a trigeminalis neuronok nagy százalékában CGRP mRNS jelenlétét mutattuk ki. Az RT-PCR végtermék agaróz gél-elektroforézisével CGRP1, NPY Y1, NPY Y2 és vazóaktív intesztinális polipeptid 1 (VIP1) receptorokra utaló mRNS előfordulását bizonyítottuk.

Konklúzió: Eredményeink felvetik a szimpatikus és paraszimpatikus rendszer együttes befolyását, szabályzását a szenzoros trigeminalis ganglion aktivitására.

AZ L-KINURENIN NEUROPROTEKTÍV HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA IN VIVO KÍSÉRLETEKBEN

Robotka Hermina^{1,2}, Németh Hajnalka^{1,2}, Rózsa Éva¹, Sas Katalin^{1,2}, Toldi József¹ és Vécsei László^{1,3}

¹SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék, Szeged

²SZTE ÁOK Neurológiai Klinika, Szeged

³SZTE MTA Neurológiai Kutatócsoport, Szeged

A triptofán metabolizmus során 20%-ban szerotonin keletkezik, a maradék 80%-ot a kinurenin útvonal teszi ki. A kinurenin útvonal során létrejött L-kinurenin a kinurenin aminosztransferáz enzim segítségével képes átalakulni kinurénssavvá. A kinurénssav egy serkentő aminosav receptor antagonistája, amely védőanyagként szolgálhat különböző neurológiai rendellenességek esetén. Mindezek ellenére a kinurénssav neuroprotektív hatóanyagként történő alkalmazása meglehetősen korlátozott, mivel csak kis mértékben penetrál a vér-agy gáton. Ezzel szemben a kinurénssav előanyaga, az L-kinurenin nagyon könnyedén bejut az agyba. Terápiás lehetőségként tehát felmerülhet a kinureninek szintjének befolyásolása a neuroprotektív kinurénssav irányába való eltolás és a neurotoxikus quinolénssav szint csökkentése.

Kísérleteinkben megvizsgáltuk azt a hipotézisünket, miszerint ha az L-kinurenint szisztémásan együtt adjuk probeneciddel, amely meggátolja a kinurénssav kiválasztását a cerebrospinális folyadékból, akkor az egy megemelkedett kinurénssav szintet fog eredményezni az agyban, amely így elegendően magas lesz ahhoz, hogy védelmet nyújtson a pentylenetetrazol által kiváltott epilepsziás roham kifejlődésével szemben. Ebben a kísérletsorozatban, az elektrofiziológiai vizsgálatokkal párhuzamosan magatartási megfigyeléseket is végeztünk open-field arénában, valamint Morris-féle water-maze tesztben. Az elektrofiziológiai kísérletek során, a patkány hippocampus CA3-as régiójának stimulációja által kiváltott „population spike” aktivitást vezettünk el a kontralaterális CA1-es régió piramis sejtjeinek rétegéből.

A feltételezéseink beigazolódtak, miszerint az L-kinurenin nem fiziológias koncentrációban probeneciddel együtt alkalmazva megnöveli az agyi kinurénssav szintet, mely kivédi a pentylenetetrazol által okozott nagymértékű hippocampalis válasznövekedést altatott állaton, és teljes mértékben megvédi az éber állatokat a konvulziós anyag által generált epilepsziás klónusos-tónusos görcsöktől és az elpusztulástól.

Támogatás: OTKA TO46687; RET-08/04; ETT 10/2003

KÜLÖNBÖZŐ PEPTIDEK VIZSGÁLATA AZ 1-42 β -AMILOID PEPTID ÁLTAL OKOZOTT SZINAPTOTOXICITÁSBAN

Farkas Tamás¹, Juhász-Vedres Gabriella¹, Rózsa Éva¹, Soós Katalin², Datki Zsolt², Fülöp Livia², Kis Zsolt¹, Penke Botond² és Toldi József¹

¹ SZTE, TTK, Összehasonlító Élettani Tanszék

² SZTE, ÁOK, Orvosi Vegytani Intézet

A β -amiloid fehérjék ($A\beta$) döntő szerepet játszanak az Alzheimer-kór pathogenezésében. Az $A\beta$ neurotoxikus, mely jellemző jó korrelációt mutat a fehérje aggregációjának mértékével. Az aggregáció révén fibrillumok és szenilis plakkok alakulnak ki a kóros agyban. A folyamat hatékony gátlásával új terápiás út nyílhat meg az Alzheimer-kór kezelésében. Ismert az, hogy az 1-42 β -amiloid peptid rövid fragmentjei hatékonyan képesek gátolni a fibrillumok képződését. A legismertebb β -szerkezetromboló peptid a KLVFF azaz Lys-Leu-Val-Phe-Phe (Tjernberg és mtsai, 1996) valamint az LPFFD azaz Leu-Pro-Phe-Phe-Asp (Soto és mtsai, 1998). Kísérleteinkben a fent nevezett pentapeptidek és azok 1-1 aminosavval módosított változatainak protektív tulajdonságait hasonlítottuk össze MTT bioassay tesztben és motoros kérgi agyszeletek szinaptikus aktivitására *in vitro* elektrofiziológiai kísérletekben. Továbbá egy endogén tetrapeptid, az endomorfín-2 (END-2, YPFF) hatását is megvizsgáltuk. Az egyik új pentapeptid (LPYFD) erőteljes β -szerkezetromboló tulajdonságúnak bizonyult, míg az endomorfín-2 szintén protektív hatással bírt, jelenleg ismeretlen mechanizmus által. Mindezen vegyületek az Alzheimer-kór gyógyítását célzó gyógyszerkutatások ígéretes vezérmolekulái lehetnek.

A VASCULARIS ENDOTHELIALIS NÖVEKEDÉSI FAKTOR (VEGF) HATÁSA AZ ENDOTHEL SEJTEK PERMEABILITÁSÁRA

Bodor Csaba¹, Masszi András¹, Nagy János², Jenei Attila², Rosivall László¹

¹ SE, Kórélettani Intézet, MTA-SE Nephrológiai Kutatócsoport

² Debreceni Egyetem, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

Az afferens arteriola disztális részét borító endothelium permeabilitása befolyásolhatja a szekretált renin keringésbe jutását. Feltételezésünk szerint az endotheliális permeabilitás alakításában és ezen keresztül a renin szekréció szabályozásában a VEGF meghatározó szerepet játszik.

Kísérleteinkben primer, humán umbilicalis véna endothel sejtenyészetét 15 percig 100 ng/ml VEGF-fel kezeltük. A permeabilitást a reninnel megegyező molekulaméretű FITC-tal jelölt 40 kD-os dextrán diffúziójának követésével határoztuk meg. A p38 MAP kináz aktiválódását western blottal, az aktin citoszkeleton átrendeződését phalloidin festéssel, a sejt-sejt kapcsolatokat pedig VE-cadherinre és α -cateninre specifikus jelöléssel vizsgáltuk.

Kimutattuk, hogy a VEGF kezelés fokozza az endothel monolayer permeabilitását, citoszkeleton átrendeződést és aktin stressz rost megjelenést okoz, továbbá a p38 MAP kináz korai aktivációját idézi elő, valamint a sejt-sejt kontaktusok fellazulását eredményezi. Atomerő mikroszkópiás vizsgálattal a fenesztráció előfordulásának változását sikerült kimutatnunk 15 perc VEGF kezelést követően. A p38 MAP kinázt gátló SB203580 előkezelés ugyanakkor megakadályozta a VEGF indukálta permeabilitás növekedést, csökkentette a stressz rostok kialakulását és megelőzte a sejt-sejt kapcsolatok szétnyílását.

Eredményeink alapján a VEGF a p38 aktivációján és az azt követő citoszkeleton átrendeződésen keresztül szabályozza az endotheliális permeabilitást.

A RELAXIN ÉS A RECEPTORAINAK EXPRESSZIÓJA VESÉBEN

Gerő Domokos¹, Rosivall László², Mózes Miklós²

¹*Semmelweis Egyetem, ÁOK, Klinikai Kísérleti Kutató és Humán Élettani Intézet,* ²*Semmelweis Egyetem, ÁOK, Kórélettani Intézet*

A "terhességi hormon" relaxin, mint multifunkcionális hormon, a keringési rendszer fontos szabályozójaként vált ismertté az utóbbi években. Szerteágazó fiziológiás és farmakológiai hatásai közül kiemelendő antifibrotikus, vasodilatatív és öregedésgátló hatása. A relaxinnak egérben két (M1 és M3), emberben három izoformája (H1, H2 és H3) van. A H1 és H2 (illetve M1) relaxin egyrészt két sejtfelszíni G proteinhez kapcsolt receptoron, az LGR7-en és a relaxinnal rokon Insl-3 ("testicularis relaxin") receptorán, az LGR8-on keresztül fejti ki hatását, valamint képes a glukokortikoid receptor (GR)aktiválására is. A H3 és M3 relaxin két G proteinhez kapcsolt receptor aktiválására képes (SALPR és Gpr100).

Kutatásunk célja volt annak meghatározása, hogy a vese termel-e relaxint, és ha igen, melyik izoformákat, illetve melyik relaxin receptorok vannak jelen a vesében, és azokat melyik sejtek termelik. Egér veséből, illetve mezangiális és gyűjtőcsatorna sejtvonalból izolált RNS-t használva templátként RT-PCR-t végeztünk M1 és M3 relaxinra, illetve LGR7-re, LGR-8-ra, SALPR-ra, Gpr100-ra és GR-ra. A relaxin szöveti jelenlétét immunhisztokémiai vizsgálattal erősítettük meg.

A relaxin izoformák közül csak az M1-et termeli a vese, az M3 relaxin expressziója a vesében nem kimutatható, M1 relaxin termelés van a mezangiális sejtekben, de a belső medulláris gyűjtőcsatorna sejtekben ez nem jellemző. Az M1 relaxin receptorai közül mindegyik forma jelen van (LGR7 és LGR8) a vesében, ill. a mezangiális sejtekben, de nem expresszálják őket a gyűjtőcsatorna sejtek. Az M3 relaxin receptorainak (SALPR és Gpr100) expressziója viszont mindenütt vizsgált sejttypusban kimutatható. Hasonlóan minden sejtben kimutatható volt a GR expresszió. Immunhisztokémiai vizsgálattal a relaxin jelenléte kimutatható volt a vesében, vizsgálataink a hormon relatív diffúzió jelenléte mellett szólnak fiziológiás körülmények között.

Összefoglalva elmondható, hogy - korábbi közlésekkel ellentétben - a relaxin nemcsak a keringéssel kerül a vesébe, hanem helyben termelődik is. Így a keringési és antifibrotikus hatásában parakrin hatások is szerepet játszhatnak. A mindeddig tisztázatlan funkciójú H3, ill. M3 relaxin izoforma, bár nem termelődik a vesében, feltehetően itt is kifejti hatását, mert receptorainak széleskörű expressziója figyelhető meg; így felmerül a lehetőség, hogy ennek a hormonnak -a korábbi elképzelésektől eltérően- ne tisztán központi idegrendszeri funkciót tulajdonítsunk.

LESSON FROM EXPERIMENTAL KIDNEY TRANSPLANTATION

Hamar Péter, Lipták Péter, Kökény Gábor, Adamkó Sarolta,
Godó Mária, Heemann Uwe, Iványi Béla, Rosivall László

Chronic allograft nephropathy (CAN) is the leading cause of graft loss following kidney transplantation. CAN is a multietiological process ultimately leading to graft failure and therapeutic interventions are limited. The fischer-to-lewis (F344-to-LEW) orthotopic rat renal transplantation is the most established model of CAN.

One factor contributing to CAN is chronic alloimmune injury. We investigated transplant capillaropathy (circumferential multiplication of the peritubular capillary basement membrane) and transplant glomerulopathy (reduplication of the glomerular basement membrane) as ultrastructural indicators of chronic alloimmune injury. Accordingly, the model - in the late phase - is suitable to investigate alloantigen independent factors of CAN and lacks markers of alloantigen-dependent processes.

Despite the lack of ongoing alloantigen dependent injury, we have shown, that immunosuppressive protocols are able to slow progression of renal fibrosis in CAN as well as in a non-allogenic model.

However, as immunosuppression is not completely able to prevent progression, we investigated further mechanisms. One of the histologic hallmarks of CAN is interstitial fibrosis, influenced by matrix metalloproteinases (MMPs) that are controlling extracellular matrix (ECM) degradation. To analyze the role of MMPs in CAN, we investigated the effects of an early and a late application of BAY 12-9566, an inhibitor of MMP-2, -3, and -9 on the development and progression of CAN in the F344-to-LEW model. Inhibition of MMPs early after transplantation reduced the development and progression of CAN but promoted CAN if initiated at later stages.

Investigating other alloantigen independent mechanisms G Kökény, and Z Németh we will show recent data on combination therapies of the renin-angiotensin-aldosterone system + sympathetic nervous system inhibition in the progression of renal fibrosis in two adjacent presentations.

INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN PROTECTS AGAINST LUPUS-RELATED SKINDISEASE BUT NOT LUPUS NEPHRITIS IN A MOUSE MODEL: POSSIBLE REASONS FOR AN IMMUNE ENIGMA

Zsuzsa Racz¹, Peter Hamar¹, Milan Basta², **János Szebeni¹** and Laszlo Rosivall¹

¹*Nephrology Research Group, Hungarian Academy of Sciences and Semmelweis University, Institute of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Semmelweis University, Budapest and*

²*Neuronal Excitability Section, National Institute of Neurological Diseases and Stroke, Bethesda MD, USA*

Intravenous immune globulin (IVIG) is a complement activation suppressing blood product with known therapeutic benefit in some autoimmune diseases. The goal of the present study was to explore the potential benefits of its high-dose, long term application in MRL-*lpr/lpr* mice, an established mouse model of SLE. The animals were treated once-a-week with IVIG (1 g/kg into the tail vein, ~ double of maximal human dose) or physiological salt solution (0,2 ml/10 g) from 6 weeks of age until sacrifice at 5 months. We focused on two common manifestations of the disease, skin lesions and lupus nephritis, using macro-morphological, histological and (kidney) functional parameters as endpoints. Treatment with IVIG led to significant improvement of cutaneous lupus, as manifested in a significant reduction of macroscopic scores of skin (6 vs 13 in control mice) and ear (2 vs 8) lesions and scars, and histological evidence of reduced parakeratosis (0,3999 vs 0,659) and inflammatory cell infiltration (0,498 vs 0,753) in the skin. Likewise, thickening of the stratum spinosum was significantly reduced in IVIG treated mice vs. physiological salt treated control (0,264 vs 0,612). In contrast, parameters of glomerular (glomerular cellularity scores: 1,964 in IVIG treated mice vs 2,198 in control mice) and tubular functions, blood urea (103,2 vs 81,81 mg/dl in control mice) and kidney histology samples (total kidney scores: 4,358 in IVIG treated mice vs 4,761 in control mice) showed no beneficial effect of IVIG therapy, suggesting differential influence of IVIG, and, hence, complement inhibition, on skin and kidney manifestations of lupus. These data confirm similar observations in other SLE models and raise the possibility of a key pathogenic role of complement activation byproducts (anaphylatoxins, C3b and its derivatives) in cutaneous lupus. Our data also highlight the likely benefit of long-term, high-dose IVIG in ameliorating the dermal manifestation of SLE.

HEMODIALYSIS DECREASES INHIBITORY EFFECT OF PLASMA ULTRAFILTRATE ON LDL OXIDATION AND SUBSEQUENT ENDOTHELIAL CELL REACTIONS

László Újhelyi, György Balla, Viktória Jeney, Zsuzsa Varga, Emőke Nagy and József Balla

Departments of Medicine and Neonatology, University of Debrecen

Background. Oxidative modification of LDL and its deleterious effect on endothelium is implicated in the pathogenesis of atherosclerosis. Endothelium responds to such an insult by up-regulating the synthesis of heme oxygenase-1 (HO-1) and ferritin. Endothelial cell damage and dysfunction have been observed in patients with chronic kidney disease (CKD) on maintenance hemodialysis.

Methods. We studied the effect of low molecular weight components of uremic plasma on LDL oxidation and LDL oxidation provoked endothelial cell reactions such as the induction of cytotoxicity and the up-regulation of cell protective HO-1 and ferritin.

Results. Plasma ultrafiltrate (MW<5000 D) from CKD patients on hemodialysis or treated conservatively exhibited a pronounced inhibition on heme-mediated oxidative modification of LDL. Endothelial cell cytotoxicity provoked by LDL oxidation was also attenuated by plasma ultrafiltrate from CKD patients. During hemodialysis treatment a dramatic drop occurred in the retardation of oxidative reactions, and a loss of endothelial cytoprotection exerted by plasma ultrafiltrate was noted. The up-regulation of HO-1 and ferritin in response to oxidative stress of LDL was blunted by uremic plasma ultrafiltrate that was released by the end of hemodialysis. The decreased antioxidant capacity of ultrafiltrate after hemodialysis occurred as a consequence of the intradialytic removal of L-ascorbic acid, uric acid, bilirubin, 3-indoxyl sulfate, indoxyl-β-D-glucuronide, p-cresol, and phenol.

Conclusion. Intradialytic removal of L-ascorbic acid, uric acid, bilirubin, 3-indoxyl sulfate, indoxyl-β-D-glucuronide, p-cresol, and phenol increases the risk of LDL oxidation and subsequent endothelial cell damage; that underlines the importance of activation of cytoprotective HO-1 and ferritin in endothelium.

HYPERLEPTINEMIA IS NOT RESPONSIBLE FOR DECREASED PARAOXONASE ACTIVITY IN HEMODIALYSIS

Varga Zs, Paragh G, Seres I, Kakuk G, Karanyi Zs, Karpati I, Matyus J, Csongradi E, Juhasz A, Balla J, Bajnok L.

Department of Medicine, University of Debrecen

Background: Exogenous leptin markedly decreased plasma paraoxonase (PON1) activity in rats. Hyperleptinemia and decreased PON1 activity have previously been demonstrated in uremia. Therefore, we investigated the relationship between leptin level and PON1 activity in hemodialysis (HD) patients.

Methods: Leptin and PON1 were determined in 40 HD patients and 40 age-matched controls with similar body mass index (BMI).

Results: Leptin was higher ($p<0.001$) and PON1 activity was lower ($p<0.001$) in HD patients than in controls. PON1 and PON1/HDL ratio was higher in HD patients with $BMI>25 \text{ kg/m}^2$ than in HD patients with $BMI<25 \text{ kg/m}^2$. It was not due to a difference in frequency of high activity phenotype of PON1 among subgroups of HD patients. There was no similar difference in controls. Spearman analysis showed a significant correlation between leptin and PON1 activity ($p<0.02$), BMI ($p<0.001$), TG ($p<0.03$), and Kt/V (-0.323 , $p<0.03$), but multiparametric regression analysis did not reveal it. PON1 activity depended on BMI in both models. In controls leptin correlated with BMI ($p<0.001$) and TG ($p<0.002$) but not PON1 activity. A slight decrease in leptin concentration and PON1 activity during hemodialysis was observed.

Conclusion: Our results suggest the role of other pathophysiological conditions besides hyperleptinemia resulting in decreased PON1 activity in HD patients.

NICKEL AFFECTS METHIONINE CYCLE AND RESULTS IN DECREASED HOMOCYSTEINE AND S-ADENOSYLHOMOCYSTEINE (SAM) CONCENTRATION IN VITRO AND IN VIVO

Katko M, Karpati I, Kis N, Ignacz Zs, Biro S, Ujhelyi L, Matyus J, Balla G, Kakuk G, Paragh G, Balla J, Varga Zs

Departments of Medicine, Neonatology and Human Genetics, University of Debrecen

Background: Hyperhomocysteinemia is a risk factor of atherosclerosis and concomitant with hypomethylation due to accumulation of SAM. Nickel, as essential element in methionine-cycle, ameliorates hyperhomocysteinemia in animals. However, the role of nickel in humans is not known.

Methods: We determined concentration dependent effect of nickel on homocysteine, cysteine, SAM, and SAH production in human lymphocytes. The role of nickel in modification of methionine-cycle was revealed in vivo, by determination of total-homocysteine (t-Hcy), SAH, SAM, and nickel concentration in 55 HD patients supplemented with 3 mg/day folic acid.

Results: We found that nickel significantly reduced homocysteine (~40%), SAH (~30%), and cysteine (~20%) production in human lymphocytes at concentrations of 10-25 $\mu\text{g/L}$, without altering cell viability, Fas ligand and TRAIL production or apoptosis in un-stimulated and Con A-stimulated conditions. Nickel at those concentrations slightly enhanced DNA methylation in a consequence of reduction in SAH. Mechanism of action of nickel on methionine-cycle in human lymphocytes was similar to that of folic acid, which also reduced homocysteine, SAH and cysteine concentrations. The effect of nickel on methionine-cycle was confirmed in HD patients, in vivo. Significantly higher serum nickel concentrations was observed in those HD patients who had normal t-Hcy level ($t\text{-Hcy}<15 \mu\text{mol/L}$) independently of gender and polymorphism for C677T of MTHFR than in patients with elevated t-Hcy (16.4 ± 15.3 vs. $8.35\pm4.18 \mu\text{g/L}$, $p<0.02$). There were no significant differences in folic acid (29.1 ± 22.2 vs. $24.3\pm19.3 \mu\text{g/L}$) and vitamin-B₁₂ (861 ± 675 vs. $642\pm425 \text{ ng/L}$) concentrations among subgroups. In HD patients t-Hcy was associated with folic acid ($r=-0.585$, $p<0.001$) followed by nickel ($r=-0.243$, $p<0.03$) concentrations.

Conclusion: Results suggest that nickel might be involved in methionine-homocysteine-cycle by reducing SAH and t-Hcy concentrations in humans as well, therefore nickel supplementation might be a novel tool in the treatment of hyperhomocysteinemia especially in folic acid resistant cases.

Research is sponsored by OTKA T 48596.

SEX DIFFERENCES IN HEAT SHOCK PROTEIN 72 EXPRESSION AND LOCALIZATION IN RATS FOLLOWING RENAL ISCHAEMIA-REPERFUSION INJURY

^{1,4}Andrea Fekete, ²Ádám Vannay, ³Ágota Vér, ⁴Krisztina Rusai, ⁵Veronika Müller, ⁴György Reusz, ^{1,4}Tivadar Tulassay,

⁴**Attila J Szabó**

¹Research Group for Pediatrics and Nephrology of the Hungarian Academy of Sciences and of the Semmelweis University, Budapest, ²Szentágotthai Knowledge Center, Budapest, ³Institute of Medical Chemistry, Molecular Biology and Pathobiochemistry, ⁴1st Department of Pediatrics, ⁵Department of Pulmonology, Semmelweis University Budapest

Introduction: Previously we demonstrated gender differences in Na,K-ATPase (NKA) expression and function after renal ischaemia-reperfusion (I-R) injury. Postischaemic membrane destruction causes inhibition of NKA, while heat shock protein (HSP)72 helps to preserve it. We tested the sex differences in postischaemic expression of HSP72 and co-localization with NKA.

Methods: The left renal pedicle of uninephrectomized female (F) and male (M) Wistar rats was clamped for 55min followed by 2 (T2), 16 (T16) 24 hours (T24) of reperfusion. Uninephrectomized, sham-operated F and M rats served as controls. Postischaemic blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine and renal histology were analyzed. HSP72 mRNA expression was detected by RT-PCR, protein levels by Western blot. Fluorescent immunohistochemistry was performed to evaluate the localization of HSP72 and NKA alpha-1 subunit.

Results: Postischaemic BUN and creatinine were higher and renal histology showed more rapid progression in M versus F ($P<0.05$). HSP72 mRNA expression was higher in F versus M in control and in all I-R groups ($P<0.05$). Similar changes were observed in HSP72 protein levels (F versus M, $P<0.05$, controls, T2, T16 T24, respectively). Immunohistochemical localization of HSP72 and NKA alpha-1 was similar in control F and M. In postischaemic F kidneys the majority of NKA alpha-1 and HSP72 was co-localized on the basolateral membrane of tubular cells, while in M prominent staining was observed in the cytosol and apical domain.

Conclusion: This study indicates that in female kidneys the higher basal and postischaemic levels of HSP72 and different co-localization with NKA might contribute to the gender differences in renal I-R injury.

OTKA F-042563, ETT 184/2003, Bolyai Ösztöndíj

VIZELET FEHÉRJE GLIKOXIDÁCIÓS TERMÉKEK MEGHATÁROZÁSA DIABETESES BETEGEKBEN

Markó Lajos¹, Molnár Gergő Attila¹, Wagner Zoltán¹, Wagner László¹, Matus Zoltán², Kőszegi Tamás³, Laczy Boglárka¹, Tamaskó Mónika¹, Mohás Márton¹, Cseh Judit¹, Nagy Judit¹, Wittmann István¹

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvosi Kar, II. sz. Belgyógyászati Klinika és Nephrologiai Centrum¹, Orvosi Kémiai és Biokémiai Intézet², Laboratóriumi Medicina Intézet³

Bevezetés és célkitűzések: Diabeteses nephropathiában szenvedő betegekben magasabb a HbA_{1c} szint a nem nephropathiás diabeteses betegekhez képest, amely fokozott glikációt jelent. A glikáció és az oxidáció kapcsolt folyamatok diabetesben ezért a jelenséget glikoxidációnak is hívják. Célkitűzésünk volt diabeteses betegek vizeletéből az albumin és egy alacsony molekulású fehérje (AMF) mennyiségének és glikoxidációjának meghatározása.

Módszerek: Három betegcsoportot vizsgáltunk: nephelometriával és HPLC-vel is normalbuminuriások (NN, n=73); nephelometriával normalbuminuriások és HPLC-vel microalbuminuriások (NM, n=13) illetve mindkét módszerrel microalbuminuriások (MM, n=31). Az albumin és AMF mennyiségét és glikoxidációját ugyanabból a mintából egy UV-fluoreszcens rendszerű HPLC-vel vizsgáltuk; UV-detektorral 214 nm-en, fluoreszcens detektorral 370 nm-es excitációs és 440 nm-es emissziós értékeknél. A csoportok között nemben, életkorban, testsúlyban, plazma glükóz, Hb A_{1c}, fruktózamin, LDL-, HDL-, összkoleszterin, triglicerid és haemoglobin értékükben szignifikáns különbség nem volt.

Eredmények: UV-HPLC-vel meghatározott albumin és vizelet creatinin hányados: NN=0,73(0,04-3,14), NM=4,78(2,82-13,68), MM=16,55(3,29-362,78) mg/mmol. Albumin glikoxidációja (fluoreszcens-HPLC AUC/UV-HPLC AUC): NN=0,12(0,00-3,94), NM=0,15(0,00-0,58), MM=0,31(0,05-2,50) ($p=0,001$ K-W teszt; NN vs. NM $p=0,71$, NN vs. MM $p=0,019$, NM vs. MM $p<0,001$ M-W U teszt). AMF/albumin arány (UV-HPLC AUC/UV-HPLCx100) NN=523(62-3135)%, NM=194(33-802)%, MM=86(1-446)% ($p<0,001$ K-W teszt; NN vs. NM $p=0,001$, NN vs. MM $p=0,028$, NM vs. MM, $p<0,001$ M-W U teszt). Az AMF glikoxidációjában nem volt különbség a csoportok között. Az értékek medián (minimum-maximum) vannak megadva.

Konklúzió: Diabeteses betegekben az AMF ürítése fordítottan arányos az albumin ürítésével. Az albumin glikoxidációja fokozottabb az MM csoportokban az NN csoporthoz képest.

A MALNUTRICIÓS-INFLAMMATIÓS KOMPLEX SZINDRÓMA (MICS) LEHETSÉGES PATOFIZIOLÓGIAI SZEREPE A POSZTTTRANSZPLANTÁCIÓS VÉRSZEGÉNYSÉG KIALAKULÁSÁBAN

Molnár Miklós Zsolt^{1,2,3}, Vámos Eszter^{1,4}, Kovács Ágnes¹,
Szeifert Lilla¹, Szentkirályi András¹, Novák Márta¹, Mucsi
István^{1,2,3,4}

*SE Magatartástudományi Intézet¹, SE I. sz. Belklinika², SE-FMC
Dialízis Központ³, SE Kórélettani Intézet⁴*

Háttér: Számos vizsgálat foglalkozik a dializált betegek vérszegénységének patofiziológiájával, ugyanakkor a transzplantált betegek vérszegénységéről lényegesen kevesebbet tudunk. Krónikus veseelégtelen betegcsoportban gyakori a protein-energia malnutrició, valamint a krónikus gyulladás, melyek igen erős összefüggést mutatnak az oxidatív stresszel és a betegek életkilátásaival, morbiditásával. Az utóbbi évek klinikai kutatásának eredményeképpen igazolódott, hogy indokolt e két tényezőt együttesen, összevontan elemezni, s így alakult ki a malnutrició-inflammatós komplex szindróma (MICS). Korábbi adatok alapján ismert, hogy a krónikus allograft nephropathia miatt dialízisre visszakerülő betegek esetében a MICS az erythropoietin rezisztenciával szoros összefüggést mutat. **Betegek, módszerek:** Keresztmetszeti vizsgálatunkban 1067 sikeres vesetranszplantáción átesett beteg adatait vizsgáltuk. A tanulmányban az anaemia és a klinikai adatok, illetve a MICS kapcsolatát elemeztük. **Eredmények:** A betegek 32%-a volt vérszegény (az American Society of Transplantation definíciója alapján). A hemoglobin koncentráció szignifikáns összefüggést mutatott a kalkulált kreatinin clearance-szel (CrCl) ($r=0,274$; $p<0,001$), szérum transzferrin szinttel ($r=0,256$; $p<0,001$), és az albumin koncentrációval ($r=0,163$; $p<0,001$). Többváltozós elemzésben az életkor, a CrCl és a szérum transzferrin szint bizonyult a vérszegénység önálló rizikófaktorának. Vizsgálatunk egyik izgalmas eredménye az volt, hogy az igen szoros kapcsolat a szérum transzferrin szint és hemoglobin szint között a várttal ellentétes irányú. Adataink részletesebb elemzése (szoros összefüggések a szérum albumin, szérum C-reaktív protein és transzferrin között) arra utalnak, hogy a szérum transzferrin szint a vesetranszplantált betegekben a MICS markere. **Következtetés:** Az anaemia igen gyakori a transzplantált betegek körében, s kialakulásában a romló vesefunkció mellett a krónikus gyulladásos folyamatoknak is szerepük lehet. Eredményünk megerősítésre további pontosabb vizsgálatok szükségesek.

A MEZANGIALIS MATRIX IGA DEPOZITUMAINAK ULTRASTRUKTURÁLIS LOKALIZÁCIÓJA ÉS PATHOFIZIOLÓGIAI JELENTŐSÉGE IGA NEPHROPATHIÁBAN.

Degrell P¹, Molnár L², Pollák E², Tóth P¹, Molnár GA¹, Nagy J¹,
Wittmann I¹:

*PTE ÁOK II. sz. Belklinika és Nephrológiai Centrum¹, PTE TTK
Általános Állattani Tanszék²*

IgA nephropathiában (IgANP) IgA rakódik le dominálón a mezangiumban (M). Ez a betegség diagnosztikai kritériuma. A depozitumok strukturális károsodást okozhatnak, így fontos azok pontos lokalizálása. Irodalmi adatok szerint elektronmikroszkóposan (EM) a depozitum (D) a mezangiumban (M), a mezangiális mátrixban (MM) és a paramezangiális bazális membránban (PBM) látható.

A vesebiopsziás anyagot direkt immunfluoreszcens (IF) módszerrel vizsgáltuk. Konvencionális EM és ImEM anyagot aldehid-keverékkel és OsO₄-el rögzítettük. Az IgA subcellularis lokalizációját postembedding immunarany és intenzifikált immunarany jelöléssel mutattuk ki. EM felvételeken kijelöltük a mesangialis sejtet a mag nélkül (MES) és külön a MM-t a paramezangiális bazális membránnal (PBM) együtt (MM+PBM). Ezek területét az IgA NP-s betegcsoportban és a kontrollcsoportban (nem-IgA NP-s vesebetegek) Scion Image programmal mértük meg. Adataink statisztikai feldolgozásához Student t-próbát használtunk.

IF vizsgálattal 87 IgA NP-ás beteget észleltünk. ImEM vizsgálattal a D dominálón a mezangiális mátrixban volt kimutatható. A MM erősen kiszélesedett és egy hálózatos, egymással anasztomizáló csatornaszerű rendszert alkotott, és a mezangiális kontraktilis apparatus helyét részben elfoglalta. A MM-hoz a glomeruláris capilláristól egy csatornarendszer vezetett. A mezangium sejtekben depozitumot nem láttunk. A (MM+PBM)-MES aránya az IgA NP-s betegekben szignifikánsan magasabb volt, mint a kontroll csoportban ($p<0,001$).

Eredményeink szerint IgA NP-ben EM és ImEM vizsgálattal az IgA-D a MM-ben és PBM-ben lokalizálódik. Úgy gondoljuk, hogy az IgA-D a mesangiális csatornarendszeren keresztül és nem a mesangiális sejtek phagocytosisa révén rakódik le. Ezt követően a MM felszaporodik, és megbontja a MM-glomeruláris bazális membrán egységét. A MM felszaporodása jelenti a glomerulosclerosist. A mezangiális kontraktilis apparatus károsodása hatással van az intraglomeruláris nyomás szabályozására és ezért is jelentős pathofiziológiai szerepe van az IgA NP-ben.

A SZORBITOL LEHETSÉGES SZEREPE A HIPERGLIKÉMIA-INDUKÁLTA MIKROVASZKULÁRIS DISZFUNKCIÓ ÉS OXIDATÍV STRESSZ KIALAKULÁSÁBAN

Tóth Erika¹, Rácz Anita¹, Bagi Zsolt², Tóth János¹, Koller Ákos¹

¹Kórélettani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

²Kardiológiai Intézet, Debreceni Egyetem OEC, Debrecen

A diabetes mellitusban kialakuló hiperglikémia hatására fokozódik a glükóz belépése a polyol reakcióútba, mely az intracelluláris szorbitol koncentráció növekedését eredményezi. A polyol reakcióút gátlása nagy ereken végzett kísérletekben csökkentette a hiperglikémia által kiváltott oxidatív stressz mértékét. Korábbi kísérleteinkben szorbitol hatására endotheliális diszfunkciót mutattunk ki izolált arteriolákban. Jelen kísérleteinkben a szorbitol-indukálta arterioláris diszfunkció kialakulásához vezető mechanizmusokat terveztük tisztázni. Szorbitol-inkubáció (10^{-7} M) hatását vizsgáltuk hím Wistar patkányokból izolált vázizom arteriolák vazomotor működésére (d: ~ 160 μm , 80 Hgmm intraluminális nyomás jelenlétében). Szorbitol-inkubáció csökkentette az arteriolák áramlás-indukálta dilatációját (max.: 40 ± 1 μm vs. 19 ± 2 μm) és a nyíróerő-átmérőváltozás görbén szignifikáns jobbrtolódást okozott, melyet a nitrogén oxid (NO) szintézis gátlása nem befolyásolt. A csökkent áramlás-indukálta dilatációt szignifikánsan javította a proszttaglandin $\text{H}_2/\text{thromboxán A}_2$ ($\text{PGH}_2/\text{TXA}_2$) receptor blokkoló SQ29548 jelenléte (kontroll max.: 40 ± 1 μm , szorbitol max.: 19 ± 1 μm vs. 30 ± 2 μm). A NO donor nátrium-nitroprusszid (SNP, 10^{-9} - 10^{-6} M) által kiváltott dilatáció szignifikánsan kisebb mértékű volt a szorbitollal inkubált erekben (max.: 39 ± 2 μm vs. 21 ± 2 μm). A SNP-indukálta dilatáció csökkenését a szuperoxid dizmutáz (SOD, 80 U/mL) és kataláz (CAT, 120U/mL) együttes inkubálása megelőzte. Szorbitol jelenléte az adenzin (10^{-7} - 10^{-4} M) -indukálta dilatációt nem változtatta meg. A femorális artériák falában az ethidium-bromid festéssel detektálható szuperoxid termelés jelentősen fokozódott szorbitol-inkubáció hatására, melyet a SOD/CAT együttes inkubációja szignifikánsan gátolt.

Összefoglalva, magas szorbitol koncentráció jelenlétében az arteriolák vazomotor működése károsodik, részben a NO-mediáció csökkenése, részben a $\text{PGH}_2/\text{TXA}_2$ fokozott termelése révén. Feltehető, hogy e két pathomechanizmus hátterében a fokozott vaszkuláris oxidatív stressz áll. Az arteriolás diszfunkció és az azt létrehozó mechanizmusok hozzájárulhatnak a mikroangiopátia és a szöveti keringészavar kialakulásához diabetes mellitusban.

Támogatás: OTKA T-034779, 711-Dr. Koller/84289.

A HIDROGÉN PEROXID KONSRIKTOR PROSZTAGLANDINOK RÉVÉN KONSTRIKCIÓT OKOZ ISOLÁLT VÁZIZOM VENULÁKBAN

Debreczeni B.¹, Tóth J.², Rácz A.², Tamás R.¹, Koller Á.²

¹Égési és Plasztikai Sebészet, Központi Honvéd Kórház, 1122 Budapest

²Kórélettani Intézet, Semmelweis Egyetem, 1089 Budapest

A hidrogén peroxid (H_2O_2) vaszkuláris szintje számos kardiovaszkuláris betegségben (hypertonia, hiperhomocysteinémia, diabetes mellitus) megemelkedik. Tudott, hogy gyulladás során számos fehérvérsejt tapad a posztkapilláris venulák falához és aktivációjuk során jelentős mennyiségű oxigén szabadgyököket termelnek. Szintén, számos sebészeti beavatkozás során, H_2O_2 -t használnak a fertőtlenítésre, kitéve ezzel a mikrokeringést (és egyéb szöveteket) magas koncentrációjú H_2O_2 -nek. A H_2O_2 esetleges funkcionális hatásait a vénás keringést meghatározó erekre azonban nem ismerjük. Feltételeztük, hogy a H_2O_2 módosítja a vázizom venulák átmérőjét. Ezért kísérleteinkben kívülről adott H_2O_2 (10^{-7} - 10^{-5} M) hatását vizsgáltuk patkányból izolált vázizom venulák átmérőjére. Intraluminális nyomás jelenlétében (10 Hgmm) az izolált venulákban jelentős spontán tónus alakult ki (passzív átmérő: 163 ± 15.6 μm , aktív átmérő: 137 ± 7.8 μm ; $-16.1 \pm 4.2\%$; átlag $\pm$ SEM). A H_2O_2 (10^{-7} - 10^{-5} M) az izolált venulákban koncentráció-függő konstriktiót okozott (max.: 137 ± 7.8 μm -ről 61 ± 18 μm -re, $48.5 \pm 5.1\%$, 10^{-5} M koncentrációnál). Indometacin (2.5×10^{-5} M, 30 perc inkubálás) jelenléte meggátolta H_2O_2 -indukálta konstriktiót (max.: 134.6 ± 12.6 μm -ről 133.4 ± 13.3 μm -re). Eredményeinkből arra következtetünk, hogy a H_2O_2 fokozza a konstriktor proszttaglandinok (feltehetően a proszttaglandin $\text{H}_2/\text{thromboxán A}_2$) szintézisét az érfalban, ami a venulák konstriktióját okozza. Az a tény, hogy a H_2O_2 már alacsony koncentrációban is jelentős hatással van a venulák átmérőjére arra utal, hogy a H_2O_2 -nak fontos szerepe lehet normális és kóros körülmények között a vénás mikrocirkuláció szabályozásában.

Támogatás: OTKA T-48376.

A VÁZIZOM VENULÁK VAZOMOTOR FUNKCIÓINAK KÁROSODÁSA MAGAS HOMOCISZTEIN SZINT JELENLÉTÉBEN

Rácz A.¹, Tóth E.¹, Debreczeni B.^{1,2}, Garas A.¹, Tóth J.¹,
Koller Á.¹

¹ Kórélettani Intézet, Semmelweis Egyetem, 1089 Budapest

² Égési és Plasztikai Sebészet, Központi Honvéd Kórház, 1122 Budapest

A hiperhomociszteinémia (HHcy) a kardiovaszkuláris betegségek egy független kockázati tényezője. Korábbi kutatások igazolták, hogy HHcy károsítja az artériák és arteriolák funkcióját. Ugyanakkor, HHcy-ban a vénás rendszer betegségei és szövödményei is fokozott mértékben jelennek meg (varicositás, mélyvénás trombózis, embóliás betegségek). Ezért feltételezhető, hogy HHcy venulák diszfunkciót okoz, amit azonban eddig még nem vizsgáltak. Norepinefrinnel (10^{-6} M) prekonstrikált, 10 Hgmm-en inkubált, kontroll és HHcy (metionin itatás 4 hétig) patkány gracilis izmából izolált venulák (átmérő: 252 ± 30 μ m vs. 242 ± 30 μ m) áramlás- és agonisták-indukálta átmérőváltozásait vizsgáltuk. Az intraluminális áramlás emelése kontroll venulákban dilatációt (max.: $13,39 \pm 0,9\%$), míg HHcy venulákban konstriktiót hozott létre (max.: $-18,8 \pm 6\%$). Kontroll erekben az ACh kisebb dózisa (10^{-8} - 10^{-5} M) dilatációt (max.: $30,1 \pm 4,4\%$), míg magasabb dózisa (10^{-4} M) a maximum dilatációhoz képest konstriktiót okoztak ($16,8 \pm 4,89\%$). A HHcy-ás venulákban az ACh alacsonyabb dózisa (10^{-8} - 10^{-7} M) kisebb mértékű dilatációt okoztak (max.: $10,8 \pm 3,8\%$), míg magasabb koncentrációk (10^{-6} - 10^{-4} M) fokozottabb konstriktiót okoztak ($35,5 \pm 4,6\%$ az ACh-indukálta maximális átmérőhöz képest). Az NO-donor SNP (10^{-9} - 10^{-4} M) és adenzin (10^{-8} - 10^{-5} M) mind kontroll, mind HHcy venulákban dilatációt okoztak, mely válaszok a HHcy venulákban kisebb mértékűek voltak (SNP: max. $65,8 \pm 5,1\%$ vs. max. $50,9 \pm 3,7\%$) (Ado: max. $78,9 \pm 4,4\%$ vs. max. $58,5 \pm 5\%$). A prosztaglandin H_2 /tromboxán A_2 receptor blokkoló SQ 29,548 HHcy venulákban megszüntette az áramlás-indukálta konstriktiót, valamint az ACh-indukálta konstriktió helyett dilatáció jött létre. Összegezve, a magas plazma homocisztein szint patkány vázizom venulákban fokozott prosztaglandin H_2 /tromboxán A_2 szintézist eredményez, mely nem csak a vénás keringési rendszer funkcionális károsodásához de fokozott vénás thrombus képzéshez is hozzájárulhat.

Támogatás: OTKA T-048376, 711-Dr. Koller/84289.

A FOSZFATIDIL-ETANOLAMIN PREVENTÍV HATÁSA A MESENTERIALIS ISCHAEMIA KÖVETKEZMÉNYEIRE

Varga Gabriella, Váradi Rita, Kaszaki József, Ghyczy Miklós,
Boros Mihály

Szegedi Tudományegyetem, Sebészeti Műtéttani Intézet

A foszfatidilkolin gyulladáscsökkentő hatását számos kísérletben bizonyították, azonban endogén produktumának, a foszfatidil-etanolaminnak (PE) a hatása ismeretlen. Feltételezéseink szerint a PE preventív hatású lehet az ischemia-reperfúziós (IR) kórkép kialakulásában jelentős szerepet játszó leukocita aktivációban, ezért megvizsgáltuk a PE előkezelés két formájának, a táplálék kiegészítésnek, valamint az intravénás infúciónak a hatását a mesenterialis IR által kiváltott gyulladásos reakcióban.

Módszerek: Pentobarbitállal altatott hím Wistar patkányokon (250-300 gr) 30 perc mesenterialis ischaemia és 180 perc reperfúzió következményeit vizsgáltuk. Kísérleteinkhez az állatokat 4 csoportra osztottuk. Az álműtött (n=7), az IR csoport (n=7) és a PE infúzióval (50 mg/kg; 5% glükóz oldatban; n=8) előkezelt állatok normál tápot, míg a 4. csoport egyedei (n=8) 7 napon keresztül 2% PE tartalmú tápot kaptak. Vizsgálataink során monitoroztuk az artériás középnyomást és a mesenterialis véráramlást (Transonic T206), melyekből mesenterialis érellenállást (MVR) számoltunk. Artériás vérből vércukorszintet mértünk (Dcont Personal vércukorszintmérő). Vékonybél biopsziákból szuperoxid gyök ($O_2^{\cdot-}$) képződést (lucigenin kemilumineszcencia), xanthin oxidoreduktáz enzimaktivitást és leukocita akkumulációt (mieloperoxidáz aktivitás; MPO) határoztunk meg. Májbiopsziákból szöveti ATP tartalmat mértünk.

Eredmények: Az ischaemia, majd az azt követő reperfúzió MVR és vércukorszint növekedést, fokozott szuperoxid produkciót és leukocita akkumulációt, valamint súlyos ATP depleciót eredményezett. A PE előkezelés mindkét formája mérsékelte a MVR és a vércukorszint emelkedést, valamint csökkentette a $O_2^{\cdot-}$ képződést és a leukocita akkumulációt a vékonybélben. A hét napos PE előtetetés megakadályozta az IR-okozta ATP depleciót a májban.

Következtetések: A táplálék kiegészítőként, vagy iv. infúzióban alkalmazott PE előkezelés, a szuperoxid produkció csökkentése és a leukocita aktivációt gátló hatásai révén, preventív hatású lehet a vékonybél IR következményeivel szemben.

Kutatási támogatás: OTKA T 037392.

FOSZFATIDILKOLINBAN GAZDAG TÁPLÁLÉK HATÁSA A VÉKONYBÉL MAKRO- ÉS MIKRO-KERINGÉSÉRE ISCHAEMIA-REPERFÚZIÓT KÖVETŐEN

Czóbel Miklós, Lővei Péter, Kaszaki József, Szabó Andrea, Torday Csilla, Ghyczy Miklós, Boros Mihály
Sebészeti Műtéttani Intézet, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

Bevezetés: Az ischaemia-reperfúzió (I/R) mikrokeringési változásaiban a leukocita aktiváció jelentős szerepet játszik. Korábban igazoltuk, hogy a kórfolyamatot szuperoxid gyökök (O_2^-) képződése és ezzel összefüggésben a kilélegzett levegő metán tartalmának emelkedése jellemzi. Irodalmi adatok a foszfatidilkolin (PC) gyulladáscsökkentő hatását valószínűsítik a makrofágok aktivációjának csökkentése révén. Arra következtettünk, hogy a PC befolyásolhatja az I/R keringési reakcióit. Vizsgáltuk a PC-vel kiegészített táplálék hatását a metán exkrécióra és a mikrokeringésre mesenterialis I/R-t követően.

Módszerek: A kísérleteket zárt rendszerben lélegeztetett kutyákon végeztük. Az 1. csoport álműtött kontrollként szolgált. A 2. csoportban az a. mes. sup. (AMS) 60 perces leszorítását 180 perces reperfúzió követte (I/R; n=6). A kontroll és az I/R állatai a kísérletet megelőző 4 napban standard laboratóriumi tápon élt, míg a 3. csoport egyedei PC-vel dúsított tápot kaptak az I/R előtt 4 napon át (PC+I/R; n=5). Vizsgáltuk a szisztémás és mesenterialis keringés haemodinamikai paramétereit. A bélnyálkahártya mikrokeringését gasztronometrija segítségével monitoroztuk. A kilélegzett levegő metán tartalmát gázkromatográfiával határoztuk meg. Vékonybél biopsziákból mértük a szövet O_2^- produkcióját, és a leukocita akkumulációt jelző myeloperoxidáz (MPO) enzim aktivitását.

Eredmények: A mezenterialis I/R-t követően a makrokeringési paraméterek változásában nem tapasztaltunk eltérést a kezelt csoportok között. A standard táppal etetett állatokban az ischaemia jelentősen csökkentette az intramucosalis pH-t, a reperfúzió során szignifikánsan fokozódott a szöveti O_2^- képződés, az MPO aktivitás, valamint a kilélegzett levegő metán tartalma. A PC kezelést követően a reperfúzió alatt az intramucosalis pH_i és a pgCO₂ szignifikáns javulása volt tapasztalható, ugyanakkor alacsonyabb szöveti O_2^- képződést és MPO aktivitásnövekedést, valamint a kilélegzett levegő metán tartalmának mérséklődését mutattuk ki.

Következtetés: A táplálék-kiegészítőként alkalmazott PC kezelés mikroheminamikai és leukocita aktivációt gátló hatásai révén előnyösen befolyásolja az I/R hatására kialakuló mezenterialis nyálkahártya keringési zavart.

Kutatási támogatás: OTKA T 037392

HELYI KALCIUM/FOSZFÁT IONTOFORÉZIS HATÁSA A TIBIA CSONTHÁRTYA MIKROKERINGÉSÉRE OSZTEOPOROTIKUS PATKÁNYOKON

Varga Renáta¹, Szabó Andrea¹, Gomez Izabella², Kaszaki József¹, Jánvári Kristóf¹, Szalai Irén¹, Lendvai Zsanett¹, Pap Lajos², Boros Mihály¹

Sebészeti Műtéttani Intézet, Szegedi Tudományegyetem¹, Szervetlen és Analitikai Tanszék, Debreceni Tudományegyetem²

Bevezetés: A patológiás csonttörések gyakori következményei a csont demineralizációjának idősebb betegekben. Kísérleteinkben oszteoporózis kezelésére alkalmazott lokális kalcium/foszfát iontoforézis (kidolgozója: DTE, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék) mikrokeringési hatásait vizsgáltuk patkányban.

Módszerek: Kétoldali ovariektómiát, illetve ál-ovariektómiát végeztünk 3 hónapos patkányokon. 8 hónapos korban kalcium/foszfát iontoforetikus kezelést alkalmaztunk az állatok bal hátsó végtagján, melyet összesen öt alkalommal ismételtünk meg 3 héten belül, miközben a csontdenzitást detektáltuk. További 6 hónap elteltével vizsgáltuk a csontdenzitást és intravitális video mikroszkópiával az ischaemia-reperfúzió (I/R) (60/180 perc) által kiváltott gyulladásos válaszreakciókat a tibia csonthártyájában, melyeket fiatal állatok értékeivel hasonlítottunk össze.

Eredmények: Az ovariektómia után 21 héttel denzitometriával csontállomány csökkenés volt detektálható denzitometriával (AD-SOS 1674±33 vs álműtött: 1850±101 m/s), azonban az öt iontoforetikus kezelés hatására a kontroll szintre tért vissza és az emelkedés tartósan fennmaradt. Az álműtött állatokban szintén növelhető volt a csontdenzitás iontoforézissel (2019±35 m/s). A tibia alapállapotú mikrokeringési jellemzői nem változtak a kezelés hatására. Ischaemiát követően a csonthártya posztkapilláris venuláiban a neutrofil leukocita rolling enyhe, míg a kitapadás jelentős mértékben emelkedett a reperfúzió 120-180. percére (302±4 vs 697±7 és 709±10 1/mm²), mely hasonló mértékű volt az állatok mindegyik csoportjában.

Következtetések: A kalcium/foszfát iontoforézissel tartós csont remineralizáció váltható ki. A tibia csonthártya mikrokeringése hasonló gyulladásos reakciókat mutat fiatal felnőtt állatokban, ovariektómiát vagy iontoforézist követően I/R hatására. Az iontoforetikus kezelés tehát hatékonyan állítja helyre helyileg a csont szervetlen anyag állományát anélkül, hogy mikrokeringési komplikációkkal járna.

Támogatta: OTKA K 60752.

VEGF (VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR) LOKÁLIS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA A GINGIVALIS KISEREK ÁTMÉRŐJÉRE

Gyurkovics Milán¹, Györfi Adrienne¹, Iványi Iván¹, Fazekas Árpád¹, Rosivall László²

Semmelweis Egyetem, ¹Konzerváló Fogászati Klinika és ²Kórélettani Intézet, MTA-SE Nephrologiai Kutató Csoport, Budapest

CÉLKITŰZÉS: A VEGF érproliferációt, valamint érfal permeabilitás fokozódást kiváltó hatását már számos szerv gyulladásos folyamataiban kimutatták. Jelen kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy a VEGF-nek van-e közvetlen hatása a gingiva keringésére.

ANYAG ÉS MÓDSZER: 30 db Sprague Dawley hím patkányt ($n = 30$, 356 ± 37 g) két csoportba osztva vizsgáltuk: 1. VEGF ($n=15$), 2. kontroll (fiziológiás sóoldat $n=15$). A VEGF-t ($10 \mu\text{g/ml}$, $10 \mu\text{l}$) és a fiziológiás sóoldatot lokálisan alkalmaztuk az altatott állatok felső metszőfog melletti gingiva propriáján, majd ezt követően az érátmérőre gyakorolt hatást vitálmikroszkópos módszer segítségével vizsgáltuk. A steady-state állapot kialakulása után a választott ér kiindulási átmérőjét digitális fényképen rögzítettük, majd a VEGF felvitelét követő 1., 5., 15., 30., 60. percben újabb felvételeket készítettünk. Az érátmérő-változás mértékét a kiindulási értékhez viszonyított, azonos mérési időponthoz tartozó érátmérő értékek kontrolltól való eltérése adta. A statisztikai értékelést kétutas ANOVA alapján végeztük.

EREDMÉNYEK: VEGF lokális alkalmazását követően a gingiva propria ereiben az 1. és az 5. percekben szignifikáns vasodilatációt figyeltünk meg (12.35 ± 3.75 %; 12.66 ± 5.04 %; átlag $\pm$ SE; $p < 0.05$) a kontroll csoporthoz képest.

KÖVETKEZTETÉSEK: Eredményeink azt mutatják, hogy a gingiva propria ereiben kialakuló vasodilatációban a VEGF receptorok szerepet játszanak. Vizsgálatunkat az OTKA T-42584 és az ETT 541/2003 támogatta.

A MAGAS GLÜKÓZSZINT PERZISZTÁLÓ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA MIKROVASZKULÁRIS ENDOTÉL SEJTEKEN

Cselenyák Attila, Lacza Zsombor, Szabó Csaba

Több klinikai vizsgálat is kimutatta, hogy ha a kezdetben nem megfelelően kontrollált vércukorszintet normalizálták, akkor egyes diabetikus szövödmények a későbbiekben hosszú távon is fennmaradtak. A magas cukorszint közvetlenül a mitokondriumokon hatva növeli a szabadgyökök mennyiségét, az azonban nem ismert, hogy a cukorszint normalizálása után mi a felelős a szövetek további károsodásáért.

Humán mikrovaskuláris endotél sejteket (HMEC) három hétig normál (5 mM), vagy magas (30 mM) glükóz szint mellett tenyésztettünk. Egy harmadik csoport sejtet két hétig magas, majd egy hétig normál koncentrációjú glükózban tartottunk. A három hét elteltével fluoreszcens módszerekkel vizsgáltuk, megfigyelhető-e fokozott szabadgyök termelés a sejtek citoplazmájában vagy mitokondriumokban. A mitokondriális szabadgyök termelést redukált MitoTrackerRed festékkel, a perinukleáris szabadgyök termelést pedig hidroethidinnel vizsgáltuk. Képi megjelenítéshez konfokális lézerekkel mikroszkópot, az eredmények kvantifikálásához pedig áramlási citometriát alkalmaztunk.

A magas, 30 mM -os glükózban tenyésztett sejtekben jelentősen emelkedett szabadgyök termelést mutattunk ki az alacsony cukorban tartotthoz képest sejtmagban és a mitokondriumban egyaránt. A két hétig magas, majd egy hétig alacsony cukorban tartott sejtekben emelkedett volt a perinukleáris, de nem a mitokondriális szabadgyök termelés.

Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a magas glükózszt mind a mitokondriális, mind pedig az egyéb eredetű szabadgyök termelést megnöveli az endotélsejtekben. A cukorszint normalizálódása után a mitokondriális szabadgyök termelés helyreáll, de perinukleárisan továbbra is magas szabadgyök szint mutatható ki, amely vélhetően hozzájárul az endotélsejtek DNS-ének károsításához. Ez a megfigyelés arra utal, hogy az endotélsejtek károsodásának elkerülése érdekében a vércukorszintet folyamatosan alacsonyan kell tartani, hiszen az alkalmilag emelkedett cukorszint tartós szabadgyök képződést eredményez a glükózszt normalizálása után is.

RUPTÚRÁLT ÉS NEM RUPTÚRÁLT INTRAKRANIÁLIS ANEURIZMÁK BIOMECHANIKAI TULAJDONSÁGAI

Raffai Gábor, ¹Nyáry István, ¹Farkas István, Themistoklis Konstantinos, Seres-Sturm Lajos, Monos Emil

Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem, ¹Országos Idegsebészeti Tudományos Intézet, Budapest

Nem ismert, hogy mi az agyi aneurizmák kifejlődésének, növekedésének és az esetek 50%-ban halált okozó megrepedésének a valódi oka. E kórfolyamatok pontosabb megismerése érdekében összehasonlító kvantitatív „stress-strain”(σ - ϵ) vizsgálatokat végeztünk műtéti anyagból származó ép és előzőleg in vivo ruptúralt aneurizmák szövetmintáin.

Ötvenegy betegből származó aneurizma zsákokból 3 mm széles csíkokat (n=110) vágunk ki. A preparátumokat Krebs-Ringer oldatban 37 °C-on történt inkubációt követően egytengelyű biomechanikai berendezéssel lépcsőzetesen (2 percenként 200 μ m-el) a határterhelésig nyújtottuk. Az így kialakuló erőt (F) mértük és regisztráltuk, a fal feszülést (σ) és a relatív megnyúlást (ϵ) pedig számoltuk. A biomechanikai jellemzőket a klinikai és szövettani eredményekkel összevetve értékeltük.

Az inkrementális nyújtás hatására a preparátumok szabályos stressz-relaxációt mutattak a határterhelésig. A relatív megnyúlás maximuma ($\epsilon_{\max}$) és az átlagos kezdeti falvastagság (h) között lineáris összefüggést kaptunk regressziós analízissel ($\epsilon_{\max}=0,41+0,32h$, $r^2=0,32$). Az ép aneurizmákból származó csíkok azonos $\epsilon_{\max}$ és h mellett szignifikánsan magasabb fal feszülésnél (495 ± 54 kPa) szakadtak el, mint a már ruptúraltak (330 ± 44 kPa). Az ép aneurizmájú betegek között a magas vérnyomás aránya 69,2 %, míg ugyanez az érték a ruptúralt csoportban 80,8 % volt. A hipertenzív háttér esetén a ruptura előfordulási gyakorisága szignifikánsan nagyobb volt (53,8 %) a normotenzívhez képest (38,5 %). A minták szakítószilárdságának nagyságát nem befolyásolta a nem, az aneurizma lokalizációja, a dohányzás, sem pedig a szövettani képeken látható gyulladásos sejt infiltráció.

Eredményeink azt mutatják, hogy a ruptura nem fokális, hanem általános falgyengülés miatt következik be. A hipertónia növeli a ruptura valószínűségét, (ETT 240/03, ETT 553/04)

A KÜLÖNBÖZŐ ÖSZTROGÉN TELÍTETTSÉGI ÁLLAPOTOK HATÁSA A HEM-OXIGENÁZ IZOENZIMEK EXPRESSZIÓJÁRA ÉS AKTIVITÁSÁRA A PATKÁNYOK KARDIOVASZKULÁRIS RENDSZERÉBEN

¹Pécsi Ildikó, ¹**Pósa Anikó**, ¹Berkó Anikó, ¹Varga Csaba, ¹László A Ferenc, ²László Ferenc

¹SZTE, TTK, Összehasonlító Élettani Tanszék, ²SZTE, JGYTFK, Testnevelési és Sporttudományi Intézet

A szív és érrendszeri megbetegedések előfordulási gyakorisága nőknél alacsonyabb, mint férfiakban, viszont a szexuális dimorfizmus a menopauza beállta után kiegyenlítődik. A vérben lévő anyagok, vagy a véráramlással összefüggő nyíró stressz stimuláló hatására az endothélsejtek képesek mind vazokonstriktor, mind vazodilatátor anyagok kibocsátására. A fontosabb endotheliális vazodilatátorok közé tartozó anyagok a nitrogén-monoxid (NO), amelyet a nitrogénmonoxid-szintáz (NOS), és a szénmonoxid (CO), melyet az általunk vizsgált hem-oxigenáz (HO) enzimek termelnek.

Célkitűzés: a HO enzimrendszer expresszió és aktivitás szexuális dimorfizmusának vizsgálata, valamint az eltérő ösztrogén telítettségi ciklusokban az aortában és a kamrában a HO izoenzim rendszer expresszió analízise.

Módszer: **1./** a hím és ösztroszos nőstény Wistar patkányok aortájában és szívében összehasonlítottuk a HO enzimek aktivitását és expresszióját. **2./** az ösztroszos és diösztruzos nőstény patkányok HO expresszióját a bal szívkamrában és az aortában.

Eredmények: **1./** kimutattuk, hogy kontroll nőstény ösztroszos patkányok bal szívkamrájában a HO enzim aktivitása magasabb ($2,1\pm0,1$ nmol bilirubin/óra/mg protein, n=4-6, p<0,005), mint a hímeké ($0,8\pm0,2$ nmol bilirubin/óra/mg protein, n=4-6, p<0,05). Az ösztroszos nőstény csoport aortájában mért HO aktivitása ($7,5\pm0,3$ nmol bilirubin/óra/mg protein, p<0,05) szintén magasabb, mint amit a hímeknél tapasztaltunk ($4,0\pm0,4$ nmol bilirubin/óra/mg protein, n=4-6, p<0,05). A HO-2 expresszió a bal szívkamrában ($46\pm3\%$ -al n=6-7 p<0,05) és az aortában ($45\pm3\%$ -al n=6-7 p<0,05) az ösztroszos nőstényeknél magasabb, mint a hím patkányoknál. A HO-1 izoenzimnél is az aortában ($48\pm5\%$ -al, n=6-7 p<0,05) és a szívkamrában ($42\pm5\%$ -al, n=6-7 p<0,05) magasabb volt az expresszió az ösztroszos nőstényeknél, mint a hímek esetében. **2./** Diösztruzos nőstényekhez képest az ösztroszos patkányokban ($46\pm5\%$ -al, n=4 p<0,05) magasabb volt a HO-2 expresszió a bal szívkamrában. Viszont az aortában az ösztroszos nőstényekhez képest a diösztruzos patkányokban ($116\pm5\%$ -al, n=3, p<0,05) magasabb volt a HO-1 és a HO-2 enzim expresszió.

Következtetés: a hímek szívérrendszeri inzultusokkal szembeni csökkent ellenálló képessége összefügg az alacsonyabb HO enzim expresszióval, valamint az azonos ösztrogén telítettségben mért expresszió ellentétes változása az aorta és a szívkamra szöveti különbözőségében keresendő.

A CORM-3 HATÁSA ISZKÉMIA/REPERFUNDÁLT IZOLÁLT PATKÁNY SZÍVEN

Lekli István¹, Bak István¹, Juhász Béla¹, Roberta Foresti², Roberto Motterlini², Gesztelyi Rudolf¹, Tósaki Árpád¹

¹Debreceni Egyetem Gyógyszerésztudományi Kar, Debrecen

²Northwick Park Institute, Harrow, Middlesex, United Kingdom

A kardiovaszkuláris megbetegedések első helyen állnak az elhalálozási statisztikákban, s e betegcsoportban kitüntetett jelentősége van az iszkémiás megbetegedéseknek. A közelmúltban felfedezték, hogy a gáz halmazállapotú nitrogén-monoxid mellett egy másik gázmolekula a szén-monoxid (CO) is rendelkezik hasonló hatásokkal fiziológiás körülmények között. Így megindult az alapkutatás olyan molekulák kifejlesztésére, amelyek intracelluláris donorként szolgálhatnak a CO felszabadítására, ilyen molekula az általunk vizsgált tricarbonylchloro(glycinato)ruthenium(II) (CORM-3) is.

Kísérleteink során izolált patkányszíven vizsgáltuk a CORM-3 hatásait, az iszkémiát követő kardiovaszkuláris funkciók helyreállítására, és az arrhythmia kialakulásának megelőzésére. A szíveket három különböző dózisú CORM-3-al kezeltük 10 perccel az iszkémia bevezetése előtt, amelyet 30 perc teljes iszkémia majd 120 perc reperfüzió követett. A kísérletek során vizsgáltuk a szívfrekvencia, a koronária kiáramlás, az aorta kiáramlás, valamint a bal kamrai kifejlődő nyomás változását. Regisztráltuk a reperfüzió során kialakuló kamrai arrhythmia előfordulásának gyakoriságát, meghatároztuk az infarktusos területek nagyságát, mértük a szívizom Na^+ , Ca^{2+} , és K^+ szöveti koncentrációjának változását.

Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a CORM-3 $25\mu\text{M}$ és $50\mu\text{M}$ koncentrációkban szignifikánsan javította a posztiszkémiás szívfunkciót, csökkentette az infarktusos terület nagyságát, valamint a kamrai arrhythmia előfordulási arányát. A CORM-3 gátolta az iszkémia/reperfüzió indukálta celluláris Na^+ és Ca^{2+} akkumulációt és csökkentette a szöveti K^+ veszteséget. Összefoglalva elmondhatjuk, hogy a CORM-3 kardioprotektív tulajdonságát a CO szignáltranszdukciós mechanizmussal összefüggésben a szöveti Na^+ , Ca^{2+} , és K^+ háztartásra gyakorolt hatásán keresztül fejti ki.

A PRUNI CERASI SEMEN (MEGGY MAG) STANDARDIZÁLT KIVONATÁNAK PROTEKTÍV HATÁSA AZ ISZKÉMIA-REPERFÚZIÓ INDUKÁLTA SZÍVIZOMKÁROSODÁSRA

Juhász Béla, Bak István, Lekli István, Gesztelyi Rudolf, Tósaki Árpád

Gyógyszerhatástani Tanszék, Debreceni Egyetem, 4012 Debrecen Pf.8

A szívizom-iszkémiával foglalkozó intenzív kutatás ellenére a szív és érrendszeri megbetegedések továbbra is vezetnek a halálozási statisztikákat. A szívizom iszkémiás megbetegedéseiben és a szívsebészeti beavatkozások során az iszkémia/reperfüzió jelenségének központi szerepe van. Bár a reperfüzió nélkülözhetetlen az iszkémia által károsított szervek felépülésében, mégsem kockázatmentes, mivel maga a reperfüzió is súlyosbíthatja az iszkémia utáni állapotban lévő szövetek funkcióját.

Jelen munkánkban hím Sprague-Dawley patkányokat (250-300 g) 14 napon keresztül különböző koncentrációjú (1 mg/kg/nap, 5 mg/kg/nap, 10 mg/kg/nap és 30 mg/kg/nap), flavonoidban gazdag, standardizált meggy mag extraktummal kezeltünk per os, a kontroll állatok pedig vivőanyagot kaptak. A kezelés befejeztével a szíveket izoláltuk, 30 perc globál iszkémiát hajtottunk végre, melyet 120 perces reperfüziós periódus követett. A vizsgálat során meghatároztuk a szívfunkciós paramétereket (szívfrekvencia, koronária átáramlás, aorta kiáramlás, és bal kamrai nyomás), valamint az infarktusos terület nagyságát. Az apoptózis jellemzésére immunhisztokémiai vizsgálatokat, a hem-oxigenáz (HO-1) enzim expresszió követésére Western-blot analízist végeztünk.

Eredményeink szerint a 10 mg/kg és a 30 mg/kg meggy magkivonat javította a posztiszkémiás szívfunkciókat ill. szignifikánsan csökkentette a kamrai arrhythmia kialakulását, az infarktusos terület nagyságát és az apoptotikus cardiomyocyták számát a kontroll értékhez viszonyítva. Továbbá, e két dózis alkalmazása hatékonyan bizonyult az apoptózisban szerepet játszó caspase-3 aktivitás csökkentésében ill. a HO-1 enzim expressziójának fokozásában is. Kísérleteink alapján megállapíthatjuk, hogy a 10 mg/kg ill. a 30 mg/kg meggy mag kivonattal történő orális előkezelés kedvezően befolyásolja az iszkémia-reperfüzió során fellépő káros hatásokat. A kivonat hatásmechanizmusának tisztázása további vizsgálatokat igényel.

SZISZTÉMÁS GYULLADÁS HATÁSA A PATKÁNY PAROTISZ ACINUS SEJTEK AMILÁZ SZEKRÉCIÓJÁRA

Barta Adrienn, Tarján Ildikó, Varga Gábor, Zelles Tivadar,
László Ferenc

Bevezetés: Az amiláznak számos nyálfehérjével együtt (pl. mucin) antibakteriális hatása is ismert. Mucin-szekretáló sejtekben bakteriális endotoxin hatására a szekréció csökken és apoptózis jön létre. Ezek a jelenségek az induktív nitrogén-monoxid szintáz (iNOS) enzim expresszióján keresztül mennek végbe. Nem ismert azonban az LPS hatása az amiláztermelő acinus sejtekre.

Célkitűzés: Célunk a NO lehetséges szerepének in vitro vizsgálata, endotoxin által parotiszban in vivo kiváltott gyulladás során.

Módszerek: A gyulladás létrehozására hím Wistar patkányok 5 órával a kísérletek megkezdése előtt 3 mg/kg Escherichia coli LPS-t kaptak i.v. Az állatok egy része előzőleg L-NAME-et (N^G -nitro-L-arginin metil-észter, nem szelektív NOS-inhibitor) kapott az ivóvízben (0.1 mg/ml, 4 napon át). A parotiszban a NOS enzim aktivitást citrullin-esszével mértük. Az in vitro kísérletekhez a mirigyből kollagenázos emésztés útján acinusokat nyertünk, melyeket acetilkolinnal (Ach) 30 percig inkubáltunk, a minták amiláztartalmát pedig Bernfeld-módszerrel mértük. A kontroll és LPS-kezelt acinus sejtek NOS-tartalmát immunhisztokémia és Western-blot segítségével határoztuk meg.

Eredmények: Az LPS növelte az iNOS-aktivitást a teljes mirigyben. A Western-blot és az immunhisztokémia is iNOS-expressziót jelzett az izolált acinus sejtekben, az LPS alkalmazása után. In vitro kísérleteinkben LPS hatására csökkent mind a bazális, mind az Ach-nal stimulált amiláz szekréció az acinus sejtekben. Az L-NAME nem változtatta meg sem a bazális, sem a stimulált szekréciót, és az LPS gátló hatását sem befolyásolta.

Összefoglalás: A NO sem fiziológiás, sem patológias körülmények között nem rendelkezik direkt hatással a parotisz acinus sejt amiláz szekréciójára. Az LPS csökkenti a sejtek amiláz kiválasztását, s egyúttal aktiválja a NOS2 izoenzimet mind szöveti, mind sejt szinten. Az enzim révén termelt többlet NO azonban nem hat a parotisz acinus sejt amiláz szekréciójára.

AZ EXOGÉN PEROXINITRIT HATÁSA AZ OKKLÚZIÓS ÉS REPERFÚZIÓS ARRHYTHMIÁKRA ALTATOTT KUTYÁBAN

Kiss Attila, Juhász László, Hulik Ildikó*, Ferdinándy Péter*,
Végh Ágnes,

SZTE, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, *Biokémiai Intézet, Szeged

Korábbi kísérleteink alapján ismert, hogy a nitrogén oxid (NO), mint trigger és mint mediátor, szerepet játszik a prekondicionálás (PC) korai és késői antiarrhythmias hatásában. Az ischaemia/reperfúzió során keletkező NO és szuperoxid gyökök reakciója azonban citotoxikus peroxinitrit (PN) képződést eredményezhet, bár a legújabb vizsgálatok eredményei arra utalnak, hogy kis mennyiségű PN, a PC-hez hasonlóan, csökkentheti az ischaemiás károsodás mértékét.

Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy az exogén módon (intracoronariás infúzióban) 100 nM koncentrációban alkalmazott peroxinitrit milyen módon befolyásolja a bal koszorúér artéria descendens anterior ágának (LAD) 25 perces okklúziója illetve reperfúziója során megjelenő kamrai arrhythmákat, altatott kutyában. Kloralóz-uretán keverékével altatott kutyák három csoportjában a kísérletek elején 5 percen keresztül 8.4 pH-jú fiziológiás sóoldatot adtunk intracoronariás infúzióban. Ezt követően a kontroll (K, n = 10) állatokban a LAD-ot 25 percre elzártuk, amelyet gyors reperfúzió követett, míg a másik két csoportban ezt megelőzően kétszer 5 perces PC okklúziót végeztünk (PC, n = 10), illetve ugyanilyen időtartamú peroxinitrit infúziót (PN, n = 8) adtunk. Néhány kutyából az okklúzió végén szívszöveti mintát vettünk, amelyekben Western blot analízissel mértük a 3-nitrotirozin mennyiségét.

A kontroll csoporthoz képest, mind a PC, mind a PN szignifikánsan csökkentette az okklúzió alatti extrasystolék (ES, 289 ± 84 vs 83 ± 28 és 84 ± 34) és tachycardiás (VT) epizódok (9.6 ± 3.4 vs 1.9 ± 1.1 és 1.9 ± 1.7) számát, valamint a kamrafibrilláció (VF, 50% vs 0% és 13%) gyakoriságát, és növelte az okklúzió/reperfúziót követő túlélés arányát (0% vs 40% és 50%). A Western blot kvantitatív analízise arra utalt, hogy a PC és PN-nel kezelt állatokban a 25 perces okklúzió végén a PN képződésre utaló 3-nitrotirozin mennyisége a kontrollhoz képest jelentősen csökkent.

Kísérleteink alátámasztják azokat a megfigyeléseket, hogy az exogén módon bevitt kis dózisú peroxinitrit, a prekondicionáláshoz hasonlóan kardioprotektív hatást eredményez; alkalmazását követően csökkennek az okklúziós/reperfúziós arrhythmák és mérséklődik az ischaemia alatti preoxinitrit képződés.

A NITROGÉNMONOXID SZINTÁZ ÉS HEMOXIGENÁZ ENZIM INTERAKCIÓ SZEREPE A VASZKULÁRIS ENDOTÉLIUM INTEGRITÁSÁNAK SZEXUÁLIS DIMORFIZMUSÁBAN

László F., Pécsi I., Molnár Z., Priger P., Pósa A., Berkó A., Horváth K., Varga Cs., László F.

Összehasonlító Élettani Tanszék, TTK, SZTE, Szeged

A vaszkuláris endotélium integritása kulcsszerepet játszik a kardiovaszkuláris megbetegedések kialakulásában. A kardiovaszkuláris megbetegedések szexuális dimorfizmusa közismert. A konstitutív nitrogénmonoxid (NO) szintáz (cNOS) és hemoxigenáz (HO) enzimek által termelt NO és szénmonoxid (CO) védik a szívérrendszert. **Célkitűzés:** A cNOS és HO enzimrendszerek interakciójának vizsgálata a vaszkuláris endotélium integritása fenntartásában. **Módszer:** Hím és nőstény Wistar patkányok aortájában és szívében összehasonlítottuk a cNOS és HO enzimek aktivitását, illetve a vaszkuláris endotélium integritásának változását (albumin extravazációs technika, ileum) endotoxin (LPS, 3 mg/kg, i.v.) adagolását követően egy órával *in vivo*. **Eredmények:** Nőstényekben a cNOS és HO enzimaktivitás, illetve a HO-2 enzimexpresszió (Western Blot) nagyobb az aortában és szívbén, mint a hímekben (cNOS szív: 0.53 ± 0.07 vs. 0.22 ± 0.05 , cNOS aorta: 2.49 ± 0.27 vs. 1.24 ± 0.11 pmol/min/mg fehérje; HO szív: 1.17 ± 0.17 vs. 0.49 ± 0.14 , HO aorta: 7.48 ± 0.44 vs. 3.51 ± 0.28 nmol bilirubin/óra/mg fehérje; $P < 0.01$; $n = 8-10$). A cNOS és/vagy HO enzimek gátlása N^G -nitro-L-arginin metil észterrel (L-NAME, 5 mg/kg, s.c.) és/vagy ön-protoporfirinrel (SnPP, 30 mg/kg, s.c.) nem vezetett az albumin extravazáció növekedésére. Az LPS önmagában egyik nemből sem okozott albumin extravazációt. Az LPS+L-NAME vagy az LPS+SnPP csak hímekben alakított ki albumin extravazációt (158 ± 11 vagy 44 ± 5 μ l albumin/g szövet; $P < 0.05$; $n = 5-8$). Az LPS+L-NAME+SnPP együttes kezelés hatására az albumin extravazáció nőstényekben is létrejött (132 ± 16 ; $P < 0.005$; $n = 5$). **Következtetés:** Úgy a cNOS, mint a HO enzim aktivitás és expresszió szexuális dimorfizmust mutat. A nőstények vaszkuláris endotéliuma ellenállóbb, mint a hímeké, amelyben fontos tényező a megnövekedett cNOS és HO enzim expresszió. A cNOS és HO enzimrendszerek által termelt NO és CO pozitív interakciója szerepet játszik az érintettség fenntartásában. *A témát az OTKA F 42565 támogatta.*

A RALOXIFEN HEMOXIGENÁZ ENZIM SZINTÉZIS FOKOZÁSÁVAL VÉDI A KARDIOVASZKULÁRIS RENDSZERT KÍSÉRLETES MENOPAUZÁBAN

Pósa A., Pécsi I., Molnár Z., Priger P., Berkó A., Varga Cs., László F.A., *László F.

*Összehasonlító Élettani Tanszék, TTK, *Testnevelési és Sporttudományi Intézet, JGYTFK, SZTE, Szeged*

A nők vérnyomása és kardiovaszkuláris megbetegedésekre való hajlama a menopauza beálltakor, az endogén ösztrogén hiány miatt jelentősen emelkedik a hasonló korú férfiakhoz képest. A szelektív ösztrogén receptor modulátorok (SERM) az emlőre és az ivarszervekre vonatkozóan ösztrogén antagonistaként, a csontokban és a kardiovaszkuláris rendszerben agonistaként viselkednek. **HIPOTÉZIS:** A 17- β -ösztadiol és a SERM raloxifen fokozza a szívkamrában a hem-oxigenáz (HO) enzim aktivitását valamint a HO2 enzim expresszióját, továbbá csökkenti a vazopresszin okozta vérnyomás emelkedést és a szívperfúziót kísérletes menopauzában. **MÓDSZEREK:** Kísérleteinkben intakt ösztroszos, ovariectomizált (OVX), 17- β -ösztadiol (0,1 mg/kg/nap, p. o. 2 hét) és raloxifen (1,0 mg/kg/nap, p. o. 2 hét) szubsztituált nőstény Wistar patkányokat használtunk. A HO enzimrendszer blokkolását ön -protoporfirinrel (SnPP, 30 mg/kg, s. c.) végeztük. Valamennyi csoportban meghatároztuk 1./ a bal szívkamra HO aktivitását és HO2 enzim expresszióját, 2./ az ornitin-vazopresszin (0,5 E/kg, i.v.) okozta ST-szakasz depressziót (testfelszíni EKG, standard II elvezetés) *in vivo* 3./ az arginin-vazopresszinre (AVP) (0,02-0,18 μ g/kg) adott vérnyomás emelkedést *in vivo* és szív perfúziót *ex vivo* (1,0-10,0 μ g/ml AVP). **EREDMÉNYEK:** A nőstényekhez viszonyítva az OVX 1./ csökkenti a HO enzim aktivitását ($2,2 \pm 0,2$ és $0,9 \pm 0,15$ nmol bilirubin/óra/mg protein, $n = 6$, $p < 0,05$) valamint a HO2 enzim expresszióját ($47 \pm 5\%$, $n = 7$, $p < 0,05$) a szívkamrában, 2./ növeli a szívizomémiára való hajlamot (ST szegmens változás $-0,05 \pm 0,02$ mV- ról $-0,13 \pm 0,02$ mV-ra $n = 6-8$ $p < 0,05$) 3./ emeli az AVP-re adott vérnyomásválaszt ($25 \pm 5\%$, $n = 8-10$, $p < 0,05$) és szív perfúziót ($20 \pm 5\%$ $n = 6$ $p < 0,05$). A raloxifen és a 17- β -ösztadiol szubsztitúció az OVX kiváltotta eltéréseket nőstényekben észlelt szintre állítja vissza. Az SnPP kezelés minden csoportban súlyosbította az AVP-re adott vérnyomás választ (intakt nőstény $25 \pm 5\%$; OVX $12 \pm 2\%$; 17- β -ösztadiol $25 \pm 5\%$; raloxifen $28 \pm 3\%$ $n = 4-6$ $p < 0,05$) és a szív perfúziót (intakt nőstény $15 \pm 2\%$; OVX $5 \pm 1\%$; 17- β -ösztadiol $12 \pm 2\%$; $n = 4-6$; $p < 0,05$). **KÖVETKEZTETÉS:** A raloxifen valószínűleg a HO enzim szintézis fokozásával is csökkenti a menopauza okozta vérnyomás emelkedést. A raloxifen ösztrogén agonistaként viselkedik az általunk alkalmazott rendszerekben

A kísérletek az OTKA F 42565 támogatásával jöttek létre.

AZ 5-AMINO-SZALICILSAV ÁLTAL KIVÁLTOTT GLUTATION SZINT CSÖKKENÉS SZEREPE PATKÁNYOKBAN, A HEM-OXIGENÁZ-1 ENZIM EXPRESSZIÓJÁRA KÍSÉRLETES COLITIS MODELLBEN.

^a**Horváth K.**, ^bLászló F, ^cB.J.R. Whittle, ^aPósa A., ^aMolnár A.,
^aBerkó A., ^aVarga Cs.

^aÖsszehasonlító Élettani Tanszék, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

^bTestnevelési és Sporttudományi Intézet, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

^cWilliam Harvey Research Institute, Barts and the London, Queen Mary's School of Medicine, London, U.K.

Az 5-amino-szalicilsavat (5-ASA), már hosszú ideje sikeresen alkalmazzák a különböző gyulladásos bélbetegségek kezelésében, pontos hatásmechanizmusa azonban még nem ismert. A szervezet védekezésében az antioxidáns rendszerek fontos szerepet töltenek be, mint például a hem-oxigenáz-1 enzim (HO-1), valamint a glutation (GSH).

Munkánk során az 5-ASA hatását vizsgáltuk a GSH, illetve a HO-1 enzim szintek változására gyulladásos bélbetegség modellben.

Kísérleteinkben hím Wistar patkányokat alkalmaztunk. A gyulladást a 2,4,6-trinitro-benzén-szulfonsav (TNBS; 10 mg, intracolónálisan – i.c.) segítségével idéztük elő az állatok vastagbélében. Az 5-ASA kezelést (75 mg/kg; i.c.) az állatok 24, illetve 3 órával a TNBS kezelést megelőzően kapták. A gyulladások kiterjedését planimetriás módszerrel vizsgáltuk. Mértük a teljes GSH tartalmat, a HO enzim aktivitását és expresszióját.

Az 5-ASA kezelés szignifikánsan csökkentette a gyulladások kiterjedését. Ezzel párhuzamosan szignifikánsan csökkentette a GSH szintet, s így fokozta a HO aktivitást és expressziót.

Következtetések: A HO-1 enzim fokozott expressziója védelmi szerepet tölt be a TNBS kiváltotta gyulladásokban. Ebben a modellben a GSH szint csökkenése idézte elő a HO-1 aktivációt.

Köszönetnyilvánítás: Ezen munka a következő források támogatásával készült: GVOP-3.2.1.-2004-04-0086/3.0; OTKA F42565.

A Rho ÁLTAL MEDIÁLT MAL TRANSZKRIPCIÓS KOFAKTOR SZEREPE A SEJT-SEJT KONTAKTUS DEPENDENS EPITHELIALIS-MESENCHYMALIS TRANSZFORMÁCIÓ SZABÁLYOZÁSÁBAN TUBULÁRIS EPITHELIALIS SEJTEKBEN.

Sebe Attila^{1,2}, Fan Lingzhi¹, Péterfi Zsolt¹, Masszi András²,
Mucsi István^{2,3}, Kapus András¹.

¹ Dept. of Surgery, St. Michael's Hospital, University of Toronto, Toronto, ON, Kanada

² Nephrologiai Kutató Központ, MTA-SE, Budapest, Magyarország

³ I. sz. Belklinika, SE, Budapest, Magyarország.

A tubulo-interstitialis fibrosis pathogenesisének központi mechanizmusa a tubuláris sejtek epithelialis-mesenchymalis transzformációja α -SMA-t expresszáló myofibroblastokká. Korábban kimutattuk, hogy a sejt-sejt kontaktusok állapota kulcsfontosságú szerepet tölt be a TGF- β indukálta EMT során. Így az adherens junkció egyik komponense, a β -catenin felszabadulása a széteső sejt-sejt kontaktusokból permisszív hatású az EMT-re. Jelen munkánk további sejt-sejt kontaktus-függő direkt mechanizmusok hozzájárulását vizsgálta LLC PK tubuláris epithél sejtekben.

Kimutattuk, hogy a cadherin-alapú kontaktusok szétesése Rho aktivációt és ROK-mediálta MLC foszforilációt okoz. Mivel ismert, hogy a Rho szabályozza a MAL fehérjét (más néven MRTF= Myocardin-Related Transcription Factor), ami az SRF (Serum Response Factor) kofaktora, vizsgáltuk a MAL szerepét az EMT-ben. A TGF- β kezelés, Rho sejtbe való transzfekciója, valamint a sejt-sejt kontaktusok Ca^{2+} megvonás vagy sebzés általi felszakadása a MAL nuclearis transzlokációjához vezet. A MAL overexpressziója az SMA promotor (a MAL A 110-szeres, a MAL B 41,7-szeres) aktiválását és SMA protein képződését indukálta. DN MAL konstruktunkkal sikerült kivédeni a TGF- β , valamint a Ca^{2+} megvonás által indukált SMA promotor aktivációt. Ezen vizsgálatok alapján kijelenthető, hogy a Rho-ROK-pMLC-MAL-SRF úton történő jelátvitel kiemelt fontosságú a SMA expresszió és az EMT szabályozásában vese epithél sejtekben.

FESZÜLTSG FÜGGŐ ANION CSATORNA (VDAC) MINT AZ ATP-PERMEÁBILIS PLAZMAMEMBRÁN MAXI-ANION CSATORNÁJA

Fintha Attila^{1,2}, Komlósi Péter^{1,2}, Rosivall László², Phillip Darwin Bell¹

¹ *Medicine and Physiology & Biophysics, University of Alabama at Birmingham, USA*

² *Semmelweis Egyetem, Kórélettani Intézet, MTA-SE Nephrológiai Kutatócsoport, Budapest*

Ismert, hogy a macula densa sejtek bazolaterális oldalán ATP kiáramlás történik. Ez a ~380 pS konduktanciájú gadolinium szenzitív csatorna basolaterálisan anionokat és ATP-t is átenged.

A csatorna elektromos és farmakológiai jellemzői olyan nagy permeabilitású anion-csatornának a tulajdonságaira hasonlítanak, amely más sejteken is megtalálhatóak, mint például egy egér emlőtumor sejtvonalban (C127). Ezért a csatorna molekuláris megismerésének céljára ezt a sejtvonalat használtuk.

Korábbi kísérleti eredményeink alapján feltételeztük, hogy ez a kiáramlás az újonnan leírt feszültség függő anion csatorna (voltage dependent anion channel = VDAC = porin) plazmamembránban található izoformáján keresztül történik. Ennek igazolására a sejtekből kiáramló ATP mennyiségét mértük üveglapon növesztett egér emlő tumor sejtvonalon (C127) luciferáz/luciferin reakcióval. Az ozmolalitás csökkentése 200 mOsm-ról 100 mOsm-ra a kiáramló ATP mennyiségét 5x-re növelte meg. Ezt a kiáramlást 50 μ M gadolinium gátolta. A VDAC fehérje termelődését siRNS tranziens transzfekciója 48 óra elteltével több mint 50%-kal csökkentette, a hipozmolalitás által indukált ATP kiáramlás szignifikánsan, 67%-kal csökkent a kontrollhoz képest.

Ezen eredményeink arra utalnak, hogy a plazmamembrán VDAC az ATP permeábilis maxi-anion csatornával azonos lehet.

POZITRON EMISSZIÓS TOMOGRÁF (PET) VIZSGÁLAT A VESE ANGIOTENZIN II 1-ES ALTÍPUSÚ RECEPTORÁNAK (AT1R) UPREGULÁCIÓJÁT MUTATJA KISÉRLETES RENOVASCULÁRIS HYPERTÓNIABAN (RVH)

Zóber Tamás Gábor^{1,2}, Phillip R. Brown², Kathryn Sandberg², John Hilton², David A. Bluemke², Maria A Sy², Paige Rauseo², William B. Mathews², Hayden T. Ravert², Robert F. Dannals², Zsolt Szabo²

¹ *Semmelweis Egyetem Kórélettani Intézet, MTA-SE Nephrológiai Kutatócsoport, Budapest*; ² *Departments of Radiology and Surgery, The Johns Hopkins Medical Institutions, Baltimore, MD*

Célkitűzés: A Goldblatt-féle „két vese-egy klip” (2K, 1C) modellt gyakran használják a renovascularis hypertónia modellezésére, melyben a renin-angiotenzin rendszer (RAS) aktiválódását láthatjuk. A jelen kísérlet célja az volt, hogy PET vizsgálat során igazoljuk azt a hipotézist, hogy RVH-ban AT1R upregulált a stenotizált vesében.

Módszerek: Kilenc beagle kutyából hatnak, -nedvességre fokozatosan táguló- ameroid tartalmú konstriktort (gyűrűt) helyeztünk a bal artéria renalis köré, várva a renalis artéria stenotizálódásának fokozatos kialakulását. Kb. egy-három héttel a műtétet követően négy állatban MR angiográfiával és H₂O¹⁵ PET-el igazolt, haemodinamikailag szignifikáns artéria renalis szűkületet találtunk. Három további állatot, ill. a két -konstriktort kapott, de az arteria renalist be nem szűkítő kutyákat- kontrollnak használtuk. A stenosis kialakulása után az állatokon az AT1R antagonistá [¹¹C] L-159,884 radiofarmakkal dinamikus PET vizsgálatokat végeztünk. Az AT1 receptorokhoz kötődő radiofarmakonok kvantifikálása a „retenciós index” (85 perces és maximális szöveti aktivitás hányadosa) és a Logan féle grafikus eljárással meghatározott „teljes radioligand megoszlási térfogat” (DV) számításával történt. Student-féle t próbát használtunk a statisztikai szignifikancia kiszámításához.

Eredmények: A jobb vese retenciós indexe 32 $\pm$ 3 %- volt a kontroll állatoknál és 33 $\pm$ 5 % az RVH csoportban (p=0,937, N.S.). A bal vese retenciós indexe 32 $\pm$ 5% (bal-jobb arány 0,97), míg a RVH kutyáknál 50 $\pm$ 5% (p=0,01; bal-jobb arány 1.55). A DV 2.23 $\pm$ 0.72 volt a kontroll állatok bal veséjében, míg 6.42 $\pm$ 2.89 az RVH csoportnál. Az eredmények konzisztensen mutatják, hogy haemodinamikailag beszűkült vese artéria esetén az azonos oldalú vesében magasabb radioligand kötés figyelhető meg.

Következtetés: Az AT1R upregulálódik renalis ischémiában, mely a RAS upregulációjával közösen, egy pozitív feedback mechanizmus révén hozzájárulhat a RVH pathogeneziséhez.

A GENETIKAI HÁTTÉR MEGHATÁROZZA A TGF-BETA1 TRANZGENIKUS EGEREK BEN KIALAKULÓ VESEFIBRÓZIS PROGRESSZIÓJÁT.

Mózes Miklós¹, Gerő Domokos¹, Rosivall László^{1,2}

¹Semmelweis Egyetem, Kórélettani Intézet, ²MTA-SE Nephrologiai Kutatócsoport

Korábbi munkánk során megfigyeltük és leírtuk, hogy az Alb/TGF- β transzgenikus egerekben a megemelkedett plazma TGF- β 1 szint miatt progresszív vesefibrózis, és veseelégtelenség alakul ki, melynek következtében az állatok 25%-a elpusztul 15 hetes korukra. A transzgenikus törzs létrehozásakor a transzgén konstruktot B6CBA (C57BL6 x CBA F1 egerek) zigótába injektálták és a transzgenikus vonalakat ugyanezen hibrid háttéren tartották fenn. A transzgenikus egerekben öt hetes korukra két élesen elkülönülő fenotípus alakult ki. A transzgenikus állatok "súlyos" fenotípusú részében rapidan progrediáló vesefibrózis alakult ki, míg az állatok másik "enyhe" fenotípusú csoportjában ödéma nem jelentkezett, szövettanilag a glomeruloszklerózis enyhe formája volt megfigyelhető. A kettős fenotípust egy alomból származó állatokban is megfigyeltük. Mindkét fenotípusú csoportban azonos mértékben, a fiziológiai érték 4-5-szörösére emelkedett a plazma TGF- β szintje. Az elmúlt több mint két év során visszakereszteltük (10 generáción keresztül) a TGF- β transzgenikus egértörzset a C57BL6 beltenyészett egértörzsre, ezáltal homogén (99.9%-ig C57BL6) háttérű populációt értünk el. Ezen a genetikai háttéren az állatok túlélése meghaladja az egy évet, a vesefibrózis progressziója lelassult, vesefunkciójuk megtartott, extrarenálisan nem észlelhető fibrózis és megszűnt a korábban megfigyelt kettős fenotípus annak ellenére, hogy a TGF- β transzgén hepatikus expressziója miatt változatlanul magas a plazma TGF- β szintje. Ezt követően hibrid egereket hoztunk létre úgy, hogy a BalbC nőstény egereket kereszteztünk a TGF-beta1 transzgenikus hímekkel. Ezekben a hibrid egerekben a vesefibrózis progressziója felgyorsult, az állatok túlélése lerövidült 15 hetes korukra 100% mortalitás alakul ki végállapotú veseelégtelenség miatt. A hibrid egerekben is 4-5-szöröse a keringő TGF-beta1 szintje a fiziológiásnak. Ezek az eredmények bizonyítják, hogy a genetikai háttérnek meghatározó szerepe van a vesefibrózis progressziójában.

HALOLAJ TERÁPIA HATÁSA VÉGSTÁDIUMÚ VESEBETEG BEN. KEZDET

Kádár A., Kárpáti I, Katko M, Mátyus J, Újhelyi L, Trinn Cs, Balla J, Varga Zs.

I.sz Belgyógyászati Klinika, Orvos és Egészségtudományi Centrum, Debreceni Egyetem

Előzmények: A végstádiumú vesebetegek fő halálozási oka is a szív és érrendszer megbetegedése. A kutatási adatok szerint ebben az alultápláltságnak, a fokozott oxidatív stressznek, a hypertóniának és a hypelipidémiának együttesen szerepe van. Elsődleges és másodlagos prevencióban a halolaj kedvező hatásának bizonyult a hirtelen szívhalál, a lipideltérések és a vérnyomás csökkentése szempontjából. Vesebetegekben, elsősorban IgA nephropatiában, a halolaj csökkentette a vesefunkciók romlását, a proteinuria mértékét. Hemodialízis programban kezelt vesebetegekben csak rövid-idejű, különböző dózisban adott halolaj kezelés hatásairól vannak irodalmi adatok.

Módszerek: 65, HD programban kezelt betegben kezdtünk napi 3 g/nap dózisú halolaj kezelést. Vizsgáljuk a laboratóriumi paraméterek alakulását, meghatározzuk a PGE2, TXB, PDGF, ICAM, VCAM, IL-6 szinteket és a plazma lipidek zsírsav összetételét. A kezelést 6-12 hónapon át folytatjuk.

Eredmények: Jelenleg a halolaj kezelés harmadik hónapjánál tartunk. Az összes beteg közül 2 transzplantációra került, öt betegnek emésztési problémákat okozott a halolaj, közülük egy kisebb dózisban kapja a készítményt, a többiek abbahagyták szedését. Két beteget elvesztettünk, egy betegnél stroke alakult ki, további négy beteg rendszertelenül szedte, így ezek eredményeit értékelésénél kihagyjuk. Egy betegnek olyan mértékben javult az étvágya, hogy ez gondot jelentett, így a vizsgálatban a továbbiakban nem vesz részt. Már a második hónap végére a triglicerid szintek szignifikáns mértékben csökkentek (1.55 vs. 2.1, $p < 0.001$), emelkedett a szérum totál protein (70.2 vs. 68.8 g/L, $p < 0.01$) és albumin szint (39.7 vs. 39.9 g/L, $p < 0.04$), és csökkent a szérum foszfát (1.91 vs. 2.11, $p < 0.02$) és húgysav (355 vs. 369, $p < 0.01$) szint. A többi labor paraméterben szignifikáns eltérést nem találtunk. A betegek étvágya javult, amit a szárazsúly növekedésük is igazolt. A zsírsav összetételt tekintve a vizsgálat indításakor azt láttuk, hogy az n-3 többszörösen telítetlen zsírsavak közül alfa-linoleinsav (ALA) még nyomokban sem volt kimutatható a betegekben.

Következtetés: Már a rövid-távú halolaj kezelésnek is számos előnyös hatása van a HD betegek esetében.

Research is sponsored by OTKA T 48596.

TÖBB PODOCYTA ÁLLHAT A VESEFIBRÓZISSAL SZEMBENI REZISZTENCIA HÁTTÉRÉBEN ROWETT PATKÁNYOKBAN

Kökény Gábor, Németh Zalán, Godó Mária, Ritz Eberhard,
Gross Marie-Luise, Rosivall László, Hamar Péter

Háttér: A vese ablatio a vese fibrózis széles körben használt modellje. Érlekötést használva (ablatio/infarktus, A/I) korán emelkedik a plazma renin szint és a vese TGF- β expressziója, és progresszív vesefibrozis alakul ki. **Metodika:** Nyolc hetes hím Rowett (RO, n=5) és Sprague-Dawley (SD, n=5) patkányokon A/I műtét után só és protein terheléssel veseelégtelenséget idéztünk elő. **Eredmények:** RO állatokban az SD-khez képest enyhébb proteinuriát (mg/24h) és csökkent GS indexet (GSI) figyeltünk meg, amit csökkent fibronectin és TGF- β expresszió kísért. Az RO csoportot magasabb nNOS expresszió ellenére gyengébb nitrotirozin festődés és jellemezte az SD-hez képest. Intakt RO és SD vesék (n=6/csoport) morfológiai vizsgálatával az RO vesékben több podocitát (N_{pod} : RO: 206 ± 27 vs SD: 142 ± 6 , $p < 0.01$) és nagyobb glomerulus sűrűséget (N_v : RO: 54 ± 8 vs SD: 85 ± 26 , $p < 0.05$) találtunk, de sem a podociták térfogata sem a glomerulusok száma és térfogata nem különbözött a csoportokban. A plazma aldosteron szint nem különbözött a csoportok között.

	Proteinuria	GSI	TGF- β	Fibronectin	Nitrotirozin
O	33 ± 19	1.5 ± 0.1	0.9 ± 0.3	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1
D	144 ± 84	2.1 ± 0.1	1.5 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.1
	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.05$

Következtetés: Eredményeink alátámasztják a podocita szám és a teljes glomerulus filtrációs felszín meghatározó szerepét a vesefibrózis progressziójában.

SPIRONOLAKTON ÉS ACE-GÁTLÓ EGYÜTT ADÁSA CSÖKKENTI A PODOCITÁK KÁROSODÁSÁT PATKÁNY VESEFIBRÓZIS MODELLBEN

Németh Zalán, Kökény Gábor, Ritz Eberhard, Gross Marie-Luise, Adamkó Sarolta, Hamar Péter

Hipotézis: Maximális ACE gátlás mellett fennálló proteinuria csökkenthető spironolactonnal (S). Ezért vizsgáltuk ezen kezelések glomerulus-morfometriára és funkcióra kifejtett hatását.

Metodika: SD patkányokat (n=12/csoport) 5 csoportra osztottunk: 1) ál-operált (sham), 2) SNX kezelés nélkül (SNX), 3) SNX+Quinapril (Q: 50 mg/kg), 4) SNX+S (10 mg/kg), 5) SNX+Q+S (Q+S). A műtét után 3 hónappal a veséket szövettani, immunhisztokémiai és sztereológiai módszerekkel vizsgáltuk.

Eredmények: Mindegyik kezelés, de leginkább a Q+S csökkentette az albuminuriát (SNX: 34.4 ± 13.6 , Q: 11.4 ± 12.5 , S: 19.6 ± 5.5 , Q+S: 4.4 ± 4.9 mg/24h) és a glomeruloszklerózis indexet (SNX: 1.76 ± 0.61 , Q: 0.91 ± 0.48 , S: 1.41 ± 0.3 , Q+S: 0.69 ± 0.17). A glomerulusok hipertrófiáját (SNX: $3.4 \pm 0.6 \times 10^{-6} \mu m$ vs sham: 1.0 ± 0.2) gátolta a Q és Q+S, de a S kezelés nem (Q: 2.3 ± 0.3 ; Q+S: 2.2 ± 0.2 ; S: 2.5 ± 1.0). A glomeruloszklerózis elleni védelem háttérben a podocita hipertrófia és a podociták károsodására utaló dezmin expresszió csökkenését találtuk. A kevesebb podocita károsodás és proteinuria mellett a tubuluskárosodás is enyhébb volt.

Következtetés: A monoterápiához képest, az aldosteron receptor gátlás együttesen a RAS maximális gátlásával tovább csökkentette a podociták károsodását és hipertrófiáját, az albuminuriát és lassította a fibrózis progresszióját.

A VÉRCUKORSZINT-OSZCILLÁCIÓ SZABÁLYOZÁSÁNAK VIZSGÁLATA. A VESE ESETLEGES SZEREPE

Tamaskó M.¹, Kalmár Nagy K.², Pótó L.³, Boros A. G.¹, Molnár G. A.¹, Laczy B.¹, Markó L.¹, Wagner L.¹, Wagner Z.¹, Nagy J.¹, Wittmann I.¹

*PTE, ÁOK, II. Belgyógyászati Klinika és Nephrológiai Centrum¹,
Sebészeti Klinika², Bioanalitikai Intézet³*

Bevezetés: A vércukorszint-ingadozások és a háttérben álló szabályozás közötti kapcsolat még nem ismert. Nem ismert, hogy a vese milyen mértékben vesz részt a szénhidrát-anyagcsere szabályozásában. A pancreas-vese transzplantáció (PVTX) után a betegek vesefunkciója és szénhidrát-anyagcseréje is javul.

Célkitűzések: Célunk egy olyan módszer bevezetése, amellyel a ciklikus vércukorszint-ingadozásokat következtetni tudjuk. Eltérő veseműködésű betegekben vizsgáljuk a veseműködés hatását a szénhidrát-anyagcserére. Emellett vizsgáljuk, hogy a pancreas-vese transzplantáció milyen mértékben rendezi a szénhidrát-háztartást.

Betegek és módszerek: Öt egészséges személynél, öt urémiás nem dializált, öt urémiás dializált, öt vesetranszplantált betegnél, valamint öt 1-es és öt 2-es típusú diabéteszes (DM) és öt PVTX-n átesett betegnél került sor 4 napos folyamatos intersticiális cukormonitorozásra (CGMS). A betegek CGMS regisztrátumait fast Fourier transzformációval analizáltuk. Az így kapott spektrumok az intersticiális cukorszint ingadozásainak abszolút amplitúdóját mutatják.

Eredmények: A kontroll személyek, a dializált és nem dializált urémiás, valamint a vesetranszplantált betegek cukorszint-ingadozásai között nem találtunk szignifikáns eltérést. A cukorszint ingadozások átlagos amplitúdója a PVTX-n átesett betegeknél szignifikánsan magasabb a kontroll személyek átlagánál ($p < 0,05$), és szignifikánsan alacsonyabb az 1-es típusú DM-s betegek eredményeinél ($p < 0,05$). A CGMS monitorozással kapott intersticiális cukorszintek átlaga a kontroll és a PVTX csoportban nem különbözött szignifikánsan, míg a PVTX csoportban az átlag szignifikánsan alacsonyabb volt mint a DM1 csoportban ($p < 0,05$).

Konklúzió: Eredményeink alapján a vese feltehetőleg nem játszik jelentős szerepet a vércukor-háztartás szabályozásában. Bár a PVTX a vércukorszintet normalizálja, továbbra is észlelhető a cukorszint-ingadozások zavara. Ennek hátterében szabályozási zavar, talán a pancreas innerváció hiánya állhat.

ELTÉRŐ PATHOMECHANIZMUS A SERDÜLŐKORI ESSZENCIÁLIS ÉS OBESITAS- INDUKÁLTA HIPERTÓNIABAN

Túri Sándor, Baráth Ákos, Németh Ilona Haszon Ibolya,
Bereczki Csaba, Monostori Péter

SZTE Gyermekgyógyászati Klinika, Szeged

Az esszenciális hipertónia juvenilis formája a felnőttkori esszenciális magasvérnyomás betegség korai állomása, ami már fiatal felnőttekben cardiovascularis szövődményeket okozhat. Vizsgálatainkat obes és hipertóniás gyermekeken végeztük. A betegcsoportjaink közötti biokémiai eltéréseket tanulmányoztuk angiotenzin konvertáló enzim gátló kezelés előtt és után, és ezek alapján próbáltunk a különbségekre rávilágítani. Eredményeink alapján elégtelen antioxidáns állapotot, endothel diszfunkciót találtunk mindhárom, az obes, hipertóniás és obes-hipertóniás csoportunkban. A hipertóniás csoportban angiotenzin konvertáló enzim gátló kezelés előtt az angiotenzin konvertáló enzim aktivitás, a plazma malondialdehid koncentráció és a malondialdehid/nitrogén-monoxid oxidációs végtermékeinek hányadosa magasabb volt a kontrollhoz viszonyítva. Az endotelin-1 koncentráció, a plazma leptin és leptin receptor koncentráció normális volt, míg a xantin-oxidáz aktivitás és a plazma nitrogén-monoxid oxidációs végtermékeinek koncentrációja alacsonyabb volt a kontroll csoporthoz képest. A kezelés hatására az angiotenzin konvertáló enzim aktivitás csökkent ebben a csoportban.

Az obes-hipertóniás csoportban kezelés előtt a plazma endotelin-1, és leptin koncentráció, a xantin-oxidáz aktivitás, a plazma malondialdehid koncentráció és a malondialdehid/nitrogén-monoxid oxidációs végtermékeinek hányadosa emelkedést mutatott, míg az angiotenzin konvertáló enzim aktivitás ebben a csoportban normális volt. Csökkenés volt tapasztalható a plazma leptin receptor és nitrogén-monoxid oxidációs végtermékeinek koncentrációjában. Kezelés hatására a nitrogén-monoxid oxidációs végtermékeinek szintje, malondialdehid/nitrogén-monoxid oxidációs végtermékeinek hányadosa és az xantin-oxidáz aktivitás normális lett, míg az angiotenzin konvertáló enzim aktivitás csökkent a kezelés előtti állapothoz képest. Az obes-hipertóniában a leptin és a nitrogén-monoxid mellett az endotelin-1 és a xantin-oxidáz aktivitás, az esszenciális hipertóniában az nitrogén-monoxid mellett az angiotenzin konvertáló enzim aktivitás szerepe kiemelendő a pathomechanizmusban.

AZ URAEMIA SZEREPE A NYUGTALAN LÁBAK SZINDRÓMA KIALAKULÁSÁBAN KRÓNIKUS VESEELÉGTELEN BETEGEK KÖRÉBEN

Molnár Miklós Zsolt^{1,2,3}, Vámos Eszter^{1,4}, Kovács Ágnes¹, Szeifert Lilla¹, Szentkirályi András¹, Novák Márta¹, Mucsi István^{1,2,3,4}

SE Magatartástudományi Intézet¹, SE I. sz. Belklinika², SE-FMC Dialízis Központ³, SE Kórélettani Intézet⁴

Háttér: A dializált betegek körében gyakori alvászavar, a nyugtalan lábak szindróma (restless legs syndrome, RLS) patofiziológiai háttérként felmerül az uraemia lehetséges szerepe. Korábbi esettanulmányok alapján feltételezhető továbbá, hogy a nyugtalan lábak szindróma előfordulása lényegesen csökken sikeres vesetranszplantációt követően megerősítve ezt a feltételezést. **Betegek, módszerek:** Keresztmetszeti vizsgálatban 176 várólistán szereplő dializált, illetve 816 sikeres vesetranszplantáción átesett beteg (Tx) adatait elemeztük. A klinikai-, transzplantációval összefüggő adatokat és laboratóriumi paramétereket rögzítettük. Az RLS gyakoriságát az RLS Diagnostic Questionnaire kérdéseire adott válaszok alapján állapítottuk meg. A transzplantált betegek vesefunkcióját az „Modification Diet in Renal Diseases” (MDRD) képlet segítségével határoztuk meg. **Eredmények:** az RLS szindróma prevalenciája a dializált betegek körében 11.4%, míg a Tx betegek körében csak 4.8%-os volt ($p < 0,001$). Az RLS prevalenciája a különböző vesefunkciójú transzplantált betegcsoportban szignifikáns eltérést mutatott, jelezvén a romló vesefunkció patofiziológiai szerepét (GFR > 60 ml/perc: 1.8%; GFR: 30-59 ml/perc: 5.1%; GFR: 15-30 ml/perc: 6.5%; GFR < 15 ml/perc: 23.5%; $p < 0.001$). Ez az összefüggés a több klinikai társváltozóra (kor, nem, szteroid használat, szérumban hemoglobin, komorbiditás) történt korrekció után is megmaradt. Logisztikus regressziós modellben a GFR > 60 ml/perc-hez viszonyítva az RLS megjelenésének esélyhányadosa 2.77 (KI: 0.934-8.22); 3.73 (KI: 1.01-13.77); 16.38 (KI: 3.05-87.97) volt a 30-59 ml/perc; a 15-30 ml/perc és a 15 ml/percnél kisebb GFR rendelkező csoportban. **Következtetés:** A sikeres vesetranszplantáció után nagymértékben csökken az RLS gyakorisága. Ez a tény valamint a vesefunkcióval mutatott szoros korreláció arra utal, hogy az RLS patofiziológiájában lényeges szerepet tölthetnek be az uraemiás toxinok. Támogatás: ETT: 240/2000; OTKA T038409; TS040889. M.I. Békesy posztdoktori ösztöndíjas.

AZ ULTRIFILTRÁCIÓ, AZ EFFEKTÍV VÉRVOLEMEN ÉS A HAEMODINAMIKAI VÁLTOZÁSOK ÖSSZEFÜGGÉSÉNEK VIZSGÁLATA HAEMODIALÍZIS SORÁN

Rikker Csaba¹, Juhász Edina¹, Lamboy Beáta¹, Czuczor Szabolcs², Rosivall László³

FMC Dialízis Központ Péterfy S. u. Kórház, Budapest¹, PTE ÁOK Szívgyógy. Klinika², MTA SE Nephrol. Labor., Budapest³

A vizsgálat célja a művese kezelés során létrehozott ultrafiltráció (UF) következtében kialakult effektív vérvolumen csökkenésre (delta EBV) adott haemodinamikai válaszreakciók tanulmányozása, ezeket befolyásoló prediktív tényezők keresése.

24 krónikusan haemodializált betegen (életkor átl. $\pm$ SD: 63 ± 15 év, diabeteses 13) mértük HD kezelés alatt az EBV változásait Fresenius BVM 4008 monitorral. Az artériás középnyomás (MAP), szívfrekvencia (HR), verővolumen (SV), perctérfogat (CO), szisztémás vasculáris rezisztencia (SVR), alapimpedancia (Z0) változását (delta) impedancia cardiograph segítségével vizsgáltuk. Valamennyi betegnél értékeltük a rutin echocardiographiás szűrés adatait: bal pitvar átmérő (LAD), bal kamrai végdiasztolés átmérő (LVDD), E/A, átlagos falvastagság (FV), ejekciós frakció (EF).

Főbb eredmények: szignifikáns (S) pozitív korrelációt találtunk a következő paraméterek között: UF és delta EBV ($p = ,000$, $r = ,78$), E/A és delta HR ($p = ,005$, $r = ,60$), E/A és delta CO ($p = ,034$, $r = ,48$). S negatív korrelációt a következők között: FV és delta CO, ($p = ,004$, $r = -,56$), diabetes és delta HR ($p < 0,05$, Spearman $r = -,46$). 15 betegnél a HR, 3-nál az SV, 9-nél a CO S emelkedését észleltük, míg S SVR növekedést csak 1 betegnél.

Következtetések: legfőbb kompenzációs mechanizmus a HR emelkedése és ez által a CO emelése vagy szinten tartása. E válaszreakciót rontja a bal kamra hypertrophia, a diasztolés funkció romlása (E/A csökkenés), és a diabetes.

TÁPLÁLKOZÁS ÉS ARTERIOSCLEROSIS

Szollár L.

Semmelweis Egyetem ÁOK Kórleletani Intézet, Budapest

A száz éve született Sós József munkássága tiszteletére

Epidemiológiai vizsgálatok szerint a cardiovascularis mortalitás adatai jelentős geográfiai különbséget mutatnak. Számos kockázati tényező - köztük a táplálkozási szokások - szerepét felvetik a jelenség magyarázataként. E tanulmányban néhány táplálkozási összetevő bevétele (teljes zsírfogyasztás; állati eredetű zsiradék; telített, egyszerűen és többszörösen telítetlen zsírsavak, koleszterin, gyümölcs- ill. zöldségfogyasztás; E-vitamin; alkoholtartalmú italok: bor, sör, égetett szesz; és az ischaemiás szívbetegségek mortalitása közötti összefüggést vizsgáltuk néhány európai és tengerentúli ország, valamint Magyarország adatai alapján. Szoros, statisztikailag szignifikáns korrelációt (pozitív: telített és egyszerűen telítetlen zsírsav, koleszterin, teljes- és állati zsiradék, sörfogyasztás; negatív: borfogyasztás, E-vitamin, zöldség és gyümölcs) találtunk a bevitel és a halálozás között. A regressziós egyenesek 95 %-os konfidencia intervallumból több ország "kilóg", a mediterrán területek országai "jobb" helyzetben vannak, míg Magyarország és néhány skandináv ország pontjainak elhelyezkedése "rosszabb", mint ami pusztán a változóktól várható lenne, azaz a különbségek okának keresése továbbra is feladat. A többváltozós regressziós analízis adatai szerint a zsírfogyasztás csökkentése, valamint a gyümölcs- és zöldségfogyasztás növelése elméletileg csökkentheti a magyarországi halálozási mutatókat.

A TXA₂/PGI₂ ARÁNY MÉRSÉKLÉSE CSÖKKENTI A THROMBOCYTA (THR) REAKTIVITÁST A PATKÁNY PRAEECLAMPSIA MODELLBEN

Kriston T., Dankó T., Zerginé Varga J., Horváth K., Molnár M.

Semmelweis Egyetem, Kórleletani Intézet

A praeclampsia (PE) a magzati és anyai halálozás egyik vezető oka. Legfontosabb tünetei a hypertonia, proteinuria, fetalis retardatio, fokozott pressorérzékenység, thrombocytopaenia, a thrombocyta reaktivitás fokozódása. A betegség humánspecifikus, laboratóriumi állatfajokban nem fordul elő. Korábban már beszámoltunk róla, hogy Hhcy-ás patkányokban a humán PE több vezető tünete reprodukálható, azonban nem vizsgáltuk még a thrombocytákra gyakorolt hatást.

L-methionin (2 g/ttkg/nap) és succinil-sulphathiazol (0,5 g/ttkg/nap) adásával Hhcy-át idéztünk elő vemhes (V) és nem vemhes (NV) patkányokban. Kontroll (K) állataink tiszta csapvizet kaptak ezen időszak alatt. A Hhcy-V, Hhcy-NV, K-V és K-NV állatok egy csoportja aspirin (ASP) kezelésben is részesült (1 mg/ttkg/nap). A thr-szám meghatározása a vemhesség 7., 14., és 21. napján történt. A 21. napon vért vettünk az aortából és optikai aggregométerrel vizsgáltuk az ADP (0,1-2 µM) hatására kialakuló thr-aggregációt. Az adatok statisztikai kiértékelése ANOVA-val és Student t-teszttel történt.

K-V patkányokban a vemhesség 21. napján a thr-szám szignifikánsan alacsonyabb volt, mint K-NV patkányokban a fiziológiás terhességben is tapasztalható haemodilutio következtében (550 000±40 000/µl vs. 700 000±20 000; p<0.05). A Hhcy-V patkányok thr-száma a harmadik trimeszter végén szignifikánsan alacsonyabb volt (210 000±46 000/µl), mint a K-V patkányoké (550 000±40 000/µl), p<0.01. A thr-szám ebben a csoportban volt a legalacsonyabb. Az ADP hatására kialakuló thr-aggregáció fokozódását tapasztaltuk Hhcy-V patkányokban (84±7% vs. K-V: 70±6%; p<0.05; 2 µM ADP). Kis dózisú ASP mérsékelte a Hhcy-V patkányokban a thr-aggregációt, ebben a csoportban a thr-aggregáció (69±8%; 2 µM ADP) hasonló volt, mint a K-V patkányokban.

Véleményünk szerint a Hhcy-ás patkánymodellből származó thr-ák rendelkeznek a praeclampsias terhességből származó thr-ák tulajdonságaival. A kis dózisú ASP kezelés visszaállította a normális thr-számot és normális thr-reaktivitást, feltehetőleg a TXA₂/PGI₂ arány mérséklésével. Ezek alapján feltételezzük, hogy kis dózisú ASP adása hatásos lehet Hhcy-ás terhességben a vérárvadási zavarok megelőzésében.

HYPERHOMOCYSTEINAEMIÁBAN (HHCY) MEGVÁLTOZIK A VÖRÖSVÉRTESTEK (VVT) ÉS A THROMBOCYTÁK (THR) MEMBRÁNJÁNAK LIPIDÖSSZETÉTELE VEMHES PATKÁNYOKBAN

Horváth K., Dankó T, Kömíves Cs, Keszthelyi M, Molnár M

Semmelweis Egyetem, AOK, Kórleletani Intézet, Budapest

A praeeclampsia (PE) a koraszülés és a perinatális halálozás egyik vezető oka. A betegség pontos háttere a mai napig nem ismert, kialakulásával kapcsolatban számos elmélet létezik. Újabban a homocysteint, a metionin (esszenciális aminosav) egyik metabolitját teszik felelőssé a PE-re is jellemző oxidatív stressz és endotheldysfunctio kialakulásáért. Klinikai adatok szerint a Hhcy összefüggésbe hozható számos terhességi komplikációval: PE, thromboembolia, intrauterin fetalis retardatio. Korábbi kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy vemhes patkányokban előidézett Hhcy a humán PE-ben megfigyelt patológias elváltozásokat indukál.

Jelen tanulmányban azt vizsgáltuk, hogy a Hhcy állatok véralkotóinak (VVT és THR) lipidösszetétele a humán PE-ban tapasztaltakhoz hasonlóan változik-e. Megnéztük továbbá, hogy alacsony dózisú aspirin adása, -ami klinikai adatok alapján súlyos PE-ben lehetséges terápiaként alkalmazható-befolyásolja-e a membránok lipidparamétereit.

A Hhcy-t metionin (2 g/kg/nap) és szukcinil-szulfatiazol (0,5 g/kg/nap) itatásával idéztük elő. A kontroll állatok csapvizet kaptak. Az aspirint 0,75 mg/kg/nap dózisban kapták az állatok. A membrán-lipidösszetételt vékonyréteg- és kapilláris gázkromatográfiával vizsgáltuk.

Eredményeink azt mutatták, hogy a Hhcy patkányok VVT és THR membránjaiban a kontrollhoz képest szignifikánsan nagyobb volt a telített zsírsavak aránya (VVT: $58.26 \pm 1.94\%$ ill. $52.69 \pm 1.39\%$, $p < 0.025$; THR: $57.09 \pm 2.02\%$ ill. $50.39 \pm 2.11\%$, $p < 0.01$), míg a kontroll állatokban a VVT és a THR membránok jelentősen több többszörösen telítetlen (PUFA) zsírsavat tartalmaztak (VVT: $28.25 \pm 0.77\%$ ill. 35.44 ± 1.58 , $p < 0.01$; THR: 25.21 ± 2.09 ill. $32.01 \pm 1.89\%$, $p < 0.01$). Aspirin adása szignifikánsan ($p < 0.01$) javította a Hhcy állatokban a VVT és THR membránok PUFA-tartalmát.

Eredményeink alapján nyilvánvaló, hogy a kísérletesen előidézett Hhcy-ban megváltozik a VVT-k és a THR-ek membránjának lipidösszetétele. A változás fokozott atherogenitást eredményez a humán PE-hoz hasonlóan. Kísérleteink alapján úgy tűnik, hogy az alacsony dózisú aspirin adása kedvezően befolyásolja ezt a változást. Feltételezhető, hogy az alacsony dózisú aspirin adásával meggátolható, vagy legalábbis enyhíthető a PE kialakulása a magas homocystein szinttel rendelkező betegek esetében.

TERHES PATKÁNY UTERUS MIKROKERINGÉSÉNEK VIZSGÁLATA IN VIVO

Resch Béla Endre, Tóth András, Falkay György

Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Bevezetés: Az uterus jó minőségű mikrokeringése elengedhetetlen a magzat megfelelő fejlődéséhez és a szövődménymentes szüléshez. Napjainkban a terhesek többsége terhessége alatt legalább egyszer részesül gyógyszeres kezelésben.

Célkitűzés: Célul tűztük ki a terhes patkány méhizomzat mikrokeringés in vivo mérésére alkalmas modell kifejlesztését, és farmakológiai tesztelését.

Anyag és Módszer: 20-22. napos terhes patkányok uterusából 60 mg/kg thiopental ip. altatásban kb. 20x25 mm méretű nyeles myometrium lebenyt hajtottunk ki Krebs-Henseleit pufferrel feltöltött szervfürdőbe. A mikrocirkulációt fluoreszcens mikroszkóppal csatlakoztatott videokamerával személyi számítógép merevlemezére rögzítettük.

Eredmények és Megbeszélés: A CapiScope szoftver beállításával az intravitalis mikroszkópia módszerét alkalmaztuk a terhes patkány uterus mikrokeringésének mérésére. Módszerünk farmakológiai alkalmasságának tesztelését terbutalinnal kezdtük el, melyet lokálisan juttattunk a szervfürdőbe kumulatív módon. A terbutalin (10-10 és 10-5 M) a terhes patkány uterus venuláiban a vörösvértestek átlagos áramlási sebességét dózisfüggően csökkentette in vivo. Módszerünk farmakológiai alkalmasságának tesztelését további farmakonok vizsgálatával is tervezzük folytatni.

A TRESK KÁLIUM CSATORNA SZABÁLYOZÁSA

Enyedi Péter és Czirják Gábor

Semmelweis Egyetem Élettani Intézet

A két pórusdoménnel rendelkező K^+ csatornák háttér áramot hoznak létre: aktivitásukat a membránpotenciál nem (vagy csak kevésbé) befolyásolja. Környezeti tényezők, ill. intracelluláris jelátviteli folyamatok azonban nagymértékben befolyásolják működésüket. Ennek megfelelően alapvető szerepet játszhatnak a sejt nyugalmi potenciáljának beállítása mellett a sejt ingerlékenységének változásában is. E csatornacsalád utolsóként megismert tagját, a TRESK-et egér kisagyból megklónoztuk, és jellemeztük heterolog expressziós rendszerben, *Xenopus* oocytában általa létrehozott áramot. Kimutattuk, hogy a TRESK áram jelentősen, (8-10-szeresére) fokozódik kalcium mobilizáló agonisták hatására. Az aktiváció az intracelluláris kalcium ionomycinnel, vagy telített Ca^{2+} -EGTA puffer injektálásával történő megemeléssel is létrehozható. A Ca^{2+} azonban nem közvetlenül befolyásolja a csatornát, hatását a protein foszfatáz kalcineurin közvetíti. A TRESK aktivációt a kalcineurin gátlószereivel, ciklosporinnal, ill. FK506-tal ki lehet védeni. Másik oldalról, konstitutívan aktív kalcineurin koexpressziója a nyugalmi TRESK aktivitást többszörösiére fokozza.

A csatorna intracelluláris szakaszán pásztázó alanin mutagenézissel egyenként (vagy csoportonként) lecseréltük az összes szerin és treonin aminosavat. Azonosítottuk a 276-os pozíciójú szerint, mely feltételezésünk szerint a kalcineurin szubsztrátja lehet. A defoszforilált formának megfelelő S276A mutáns magas alapaktivitással rendelkezik, kalcium szignállal azonban csak kismértékben aktiválható tovább.

A kalcineurin egyik legismertebb szubsztrátja az NFAT, e transzkripciós faktor defoszforilációja a T sejtek aktivációjában alapvető fontosságú. Az NFAT defoszforilációjának különlegessége, hogy szükséges hozzá a két fehérje egymáshoz kötődése a katalitikus doméntól (ill. a szubsztrát motívumtól) eltérő felületen is. E kötés konszenzus szekvenciája az NFAT fehérjén a PXIXIT motívum. Ehhez hasonló peptidszakaszt (PQIVID) azonosítottunk a TRESK intracelluláris hurok szakaszán. Kimutattuk, a csatorna intracelluláris hurok régiójához kötődik a kalcineurin konstitutívan aktív formája, valamint a vad típusú kalcineurin is, az utóbbi azonban csak Ca^{2+} és calmodulin jelenlétében. Mutációs kísérleteinkkel igazoltuk, hogy a kötéshez szükséges a PQIVID motívum jelenléte, ami a kötésen túlmenően a csatorna aktivációjához is elengedhetetlen.

OTKA T046954

A NUCLEUS RETICULARIS THALAMI CALYCIFORM SYNOPSISAINAK FUNKCIONÁLIS STRUKTURÁJA

Csillik Bertalan¹, Chadaide Zoltán², Fenyő Róbert¹, Mihály András¹, Vécsei László², Beat Schwaller³, Knyihár Erzsébet²

Szegedi Tudományegyetem ¹Anatómiai Intézete és ²Neurológiai Klinikája; ³Institut für Histologie, Universität Fribourg, Svájc

Barthó és mtsai (2002) szerint azok a thalamocorticalis pályák, amelyek a corticalis ritmust szabályozzák, a nucleus reticularis thalami (RTN) GABAerg idegsejtjeiből származnak. Ismeretes, hogy az RTN idegsejtjeinek túlnyomó többsége parvalbumin (PV) immunreaktivitást (IR) mutat (Celio, 1990); ezek egy részéről azonban korábbi vizsgálataink kimutatták, hogy valójában PV IR praesynaptikus termináloknak felelnek meg. Célunk az volt, hogy kiderítsük a PV IR terminálok eredetét, továbbá, hogy a PV ezekben együtt fordul-e elő más Ca^{2+} -kötő fehérjékkel, valamint GABA-val. Evégből kombinált PV-GABA kimutatást végeztünk fény- és elektronmikroszkópos és fluoreszcens mikroszkópos immunocytokémiaili módszerekkel és megvizsgáltuk további Ca^{2+} -kötő fehérjék (calretinin, calmodulin, calbindin, calcineurin) jelenlétét a calyciform terminálokban. Az RTN afferens és efferens összeköttetéseit a retrosplenialis kéreggel stereotaxiás elektromos ingerlést követő *c-fos* IR segítségével lokalizáltuk. PV-knockout egerek vizsgálata alapján megállapítottuk: míg a PV IR eltűnik, a calyciform terminálok GABA-IR változatlanul megmarad.

A GABAerg calyciform synapsisok szerepet játszhatnak az RTN "spindle pacemaker" funkciójában, az attentio és distractio szabályozásában (Kilmer, 2001), a koincidencia-detekcióban, valamint a nocicepciónak fájdalommal való konvertálásában. Vizsgálataink alapján úgy tűnik, hogy a kalcium-szignalizációs rendszereknek a neurotransmissziós folyamatokban játszott verzatilis és univerzális szerepétől (Berridge és mtsai, 2003) független az érintett synapsisok GABAerg működése.

Barthó P, Freund TF, Acsády L: *Eur J Neurosci* **16**: 999-1014. 2002.

Berridge MJ, Bootman MD, Roderick HL: *Nature Rev Mol Cell Biol* **4**: 517-529. 2003.

Celio MR: *Neuroscience* **35**: 375-475. 1990

Kilmer W: *Biol Cybern* **84**: 279-289.

CHEMICAL AND ELECTRICAL CONNECTIONS BETWEEN IDENTIFIED NEURONS IN THE HUMAN CEREBRAL CORTEX

Gergely Komlósi*, Gábor Molnár*, Szabolcs Oláh*, Anna Simon*, János Szabadics*, Csaba Varga*, Pál Barzó†, Gábor Tamás*

* *Department of Comparative Physiology, University of Szeged*

† *Department of Neurosurgery, University of Szeged*
e-mail: komlosi.gergely@stud.u-szeged.hu

The organization and operation of cortical microcircuits is intensely studied in several mammalian species, but functional analysis of the human cortical networks is lacking. We adapted our *in vitro* method developed for studying the rat neocortex to examine unitary connections in the human cerebral cortex.

We performed simultaneous whole cell patch clamp recordings from up to four neurons in layers 1-4 of acute slices derived from association cortices of patients aged 18-73 years. Unitary excitatory and inhibitory postsynaptic potentials were elicited by pyramidal cells and various types of interneuron, respectively. Human neurogliaform cells elicited slow inhibition in postsynaptic cells. Three dimensional light microscopic reconstructions combined with electron microscopic analysis of physiologically characterized connections verified multiple synaptic junctions between the coupled cells. We also verified the existence of several autapses formed by an interneuron. Furthermore, human inhibitory neurons belonging to the same or different class were electrically coupled.

Our results provide the first examples of unitary signals in the human cerebral cortex.

This work was supported by the Wellcome Trust, National Institutes of Health Grant NS35915, Howard Hughes Medical Institute, Nemzeti Kutatási és Technológiai Hivatal (RET008/2004), Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok (T049535) and Boehringer Ingelheim Fonds.

AZ ANANDAMIDE ÉS A CAPSAZEPINE INTERAKCIÓJA GERINCVELŐI SZINTEN.

Horvath Gy**, Kekesi G*., Benedek Gy*.

*SZTE, ÁOK. Élettani Intézet, **SZTE, EFK, Fizioterápiás Tanszék

Bár az jól ismert, elsősorban *in vitro* adatokból, hogy az endogén cannabinoid ligand anandamide aktiválja a capsaicin szenzitív TRPV1 receptorokat is, nincs *in vivo* adat arra vonatkozóan, hogyan befolyásolja az anandamide fájdalomcsillapító hatását a TRPV1 receptorok gátlása gerincvelői szinten.

Hím Wistar patkányokba krónikus intrathecalis kanült ültettünk be. A gyógyulási periódust követően intraplantarisan adott carrageenannal (1,5 mg) gyulladást váltottunk ki az egyik hátsó végtagban. Lábelrántási teszten (PWD) vizsgáltuk a dózis-függő hatását az intrathecalisan adott anandamide-nak (1-100 µg) önmagában illetve capsazepine (10 és 20 µg) előkezelés után.

Az anandamide az ép oldalon kis mértékben emelte a fájdalomküszöböt, de dózis-függően csökkentette a thermalis hyperalgiát. Ugyanakkor a legnagyobb dózis átmeneti excitációt, fájdalmas magatartást is kiváltott. A capsazepine önmagában adva nem befolyásolta fájdalomküszöböt, de csökkentette a nagy dózisú anandamide fájdalomcsillapító hatását.

Eredményeink arra irányítják rá a figyelmet, hogy az anandamide antihyperalgesias hatásában szerepet játszanak a TRPV1 receptorok aktivációja is gerincvelői szinten. Feltételezzük, hogy a capsaicin szenzitív receptorok ingerlése az anandamide révén kiválthatja az endogén antinociceptív ligandok felszabadulását, melyet a capsazepine gátolhat.

A kísérleteket a Déalföldi Neurobiológiai Tudásközpont támogatásával végeztük (OMFB-0066/2005/DNT).

GABAERGIC RECRUITMENT OF EXCITATION BY CORTICAL AXO-AXONIC CELLS

Gábor Tamás¹, Csaba Varga¹, Gábor Molnár¹, Szabolcs Oláh¹, Pál Barzó² and János Szabadics¹

¹ University of Szeged, Department of Comparative Physiology, Közép fasor 52, Szeged, H-6726, Hungary; ² University of Szeged, Department of Neurosurgery, Semmelweis u. 6. Szeged, H-6725, Hungary

The axon has the lowest threshold for action potential generation of the various subcellular compartments in cortical neurons. Axons in the cerebral cortex receive synaptic input only at the axon initial segment almost exclusively from chandelier or axo-axonic cells, which use the dominant inhibitory neurotransmitter, gamma-aminobutyric acid (GABA). Thus, axo-axonic cells are considered as strategically placed inhibitory neurons controlling action potential generation and cortical information flow. We applied multiple patch clamp recordings in slices of rat and human neocortex and found that single spikes in axo-axonic cells can trigger action potentials in pyramidal cells and initiate stereotyped series of multiple synaptic events in the cortical network. The reliability of GABAergic, axo-axonal spike triggering in pyramidal cells can be similar to that of unitary monosynaptic transmission. The excitatory action of axo-axonic cells is based on a depolarized reversal potential for axonal relative to perisomatic GABAergic inputs as determined in paired perforated patch recordings. Powerful axo-axonic depolarization from the resting membrane potential is supported by a ~44 fold decrease in the potassium-chloride co-transporter 2 (KCC2) expression from somatic to axon initial segment membranes detected by quantitative immunogold labeling. Powerful spike transmission from axo-axonic to pyramidal cells provides a novel mechanism for reliable signal propagation and grouping in cortical networks.

A CAPSAICIN-SZENZITÍV ÉRZŐ NEURONOK INZULIN-ÉRZÉKENYSÉGÉNEK SZEREPE A NOCICEPTOR FUNKCIÓ SZABÁLYOZÁSÁBAN

Sántha Péter^{1,2}, Jancsó Gábor¹, Nagy István²

¹Szegedi Tudományegyetem, Élettani Intézet, Szeged és ²Department of Surgery Anaesthetics and Intensive Care Medicine, Imperial College London, London

Az elsődleges érző neuronok egy jól definiált populációja expresszája a tranziens receptor potenciál vanilloid 1-es típusú (TRPV1) receptort, amelyet szelektíven aktivál a capsaicin, fájdalmas hőingerek, a szöveti acidózis és alapvető szerepet játszik a gyulladásos hő-hiperalgéria kialakulásában. Korábban kimutattuk a TRPV1 és az inzulin receptor (IR) ko-lokalizációját, ezért feltételeztük, hogy más tirozin kináz receptorokhoz hasonlóan az IR aktivációja is befolyásolja a TRPV1 működését.

Kísérleteinket patkány és egér spinális ganglionjaiból készített primer neuron kultúrákon whole cell patch clamp technikával végeztük. Kimutattuk, hogy a capsaicin-érzékeny (TRPV1-pozitív) szenzoros neuronok közel 30%-ában az inzulin és az inzulin-szerű növekedési faktor (IGF-I) dózisfüggően befelé rektifikáló áramot indukál. Az inzulin hatása kivédhető a nem szelektív antagonisták ruthénium vörös adásával de a kompetitív TRPV1 antagonisták hatástalanok voltak. TRPV1 knock out egerekben az inzulinnal aktiválható neuronok aránya és az áram amplitúdója csökkent, de a TRPV1 csatorna deléciója nem szüntette meg teljesen az inzulin hatását. Az inzulin válasz hőmérséklet függésének vizsgálatából arra következtettünk, hogy az inzulin a hő aktivált TRPV1 receptoron kívül hideg érzékeny, valószínűleg TRPM8 (mentol) receptorok funkcióit is befolyásolhatja. Retrográd pályakövetéses vizsgálataink kimutatták, hogy a bőr és az izom afferensekkel ellentétben a vizcerális (húgyhólyag) afferensek különösen nagy arányban mutatnak IR immun-pozitivitást.

Eredményeink arra utalnak, hogy az inzulin és az IGF-I jelentősen befolyásolja a capsaicin-érzékeny elsődleges érző neuronok, ezen belül is feltehetően elsősorban a vizcerális nociceptorok működését a termoszenzitív TRP csatornák modulációja által.

Marie Curie (MEIF-CT-2003-500960) és OTKA T 046469 támogatásával.

DIABETES MELLITUS HATÁSA A HUMÁN KORONÁRIA ARTERIOLÁK ENDOTHEL-FÜGGŐ DILATÁCIÓJÁRA. A CIKLOOXIGENÁZ-2 AKTIVÁCIÓ SZEREPE.

Bagi Zsolt

Debreceni Egyetem, Kardiológiai Intézet, Klinikai Fiziológia Tanszék, Debrecen

Kísérletekben humán koronária mikroerekben vizsgáltuk a proszttaglandinok agonista-kiváltotta érdilatációban betöltött szerepét. Diabetes mellitusban (DM+) és ezen betegségben nem szenvedő (DM-) betegek szívsebészeti beavatkozása során eltávolított fülcséiből koronária ereket izoláltunk (átmérő: $85 \pm 15 \mu\text{m}$), és az érátmérváltozásokat videomikroszkópos rendszerben mértük. A spontán miogén tónus kialakulása után a DM(-) egyének koronária arterioláiban az acetilkolin (ACh) dilatációt okozott ($1 \mu\text{M}$: $82 \pm 5\%$), míg a DM(+) betegek ereiben konstriktó alakult ki ($1 \mu\text{M}$: $-29 \pm 7\%$). A bradikinin hatására kialakuló dilatáció mértéke azonban szignifikánsan ($P < 0,05$) nagyobb volt a DM(+) arteriolákban (10 nM : $77 \pm 10\%$), mint DM(-) ereiben (10 nM : $38 \pm 14\%$). A nátrium-nitroprusszidra adott érválasz nem különbözött a két csoportban. Az ACh-kiváltotta érválaszokra a nem-szelektív ciklooxigenáz (COX) gátló, indometacin nem volt hatással DM(+) és DM(-) csoportban. Azonban a bradikinin-kiváltotta dilatáció csökkent indometacin (10 nM : $20 \pm 4\%$), vagy a szelektív COX-2 gátló, NS-398 jelenlétében (10 nM : $16 \pm 5\%$). Immunhisztokémiai vizsgálatok fokozott COX-2 festődést mutattak a DM(+) betegek koronária arterioláiban a DM(-) betegekhez viszonyítva. Összefoglalva, a diabetes mellitusban szenvedő betegek koronária arterioláiban a bradikinin fokozott COX-2-függő proszttaglandin-mediálta dilatációt okoz. Feltételezzük, hogy diabetes mellitusban a koronária mikroerek fokozott COX-2 expressziója és dilatátor proszttaglanin termelése szerepet játszik a szív mikrokeringésének megváltozott szabályozásában.

A KOLLOID FOLYADÉK RESZUSZCITÁCIÓ MIKROKERINGÉSI HATÁSAI

Kaszaki József, Varga Renáta, Kovács Flóra, Kucska Katalin, Nagy Róbert, Kovács Lajos, Havasi Zsolt, Varga Gabriella, Boros Mihály

Szegedi Tudományegyetem, Sebészeti Műtéttani Intézet

Az akut keringési kórképek, mint a haemorrhagiás shock (HS) és az ischaemia/reperfúzió (IR) következményeinek közös vonása az oxigén szállítás elégtelensége, a nem megfelelő szöveti perfúzió, az elégtelen mikrokeringés. A mikrokeringési zavarok oka, egyrészt a vazoaktivitás változása, másrészt a leukocytá-endothel sejt interakció fokozódása lehet. A makrokeringés hatékonyan javítható kolloid volumen expanderekkel, azonban ennek mikrokeringési vonatkozásai kevésbé ismertek. Vizsgálatunk célja volt, hogy összehasonlítsuk különböző mesterséges kolloid oldatok, a zselatin (GEL), a hidroxietil-keményítő (HES 130/0.4) és a dextránok (DX) hatékonyságát a mikrokeringés paramétereire HS és IR modellünkben.

Altatott kutyák 60 perces véreztetése és 3 órás kolloid reszuszcitációja során, a vékonybél mucosa mikrokeringését (vvt áramlási sebesség; RBCV) intravitális videomikroszkóppal, orthogonális polarizációs spektrális képalkotás módszerével vizsgáltuk. Altatott Wistar patkányokon 60 perces végtag ischaemiát követő 3 órás reperfúzió során a tibia periosteumának mikrokeringését intravitális fluoreszcens videomikroszkópiával monitoroztuk. A RBCV-t és a funkcionális kapilláris denzitást (FCD) fluoreszcein isothiocyanáttal jelölt erythrocytákkal mértük, míg a leukocytá-endothel sejt interakciót rhodamine 6G jelölést alkalmazva a gördülő és a kitapadt leukocyták számával jellemeztük.

Eredmények: A vérvesztés jelentősen csökkentette a vvt áramlási sebességet a villusokban, melyet a DX és GEL infúzió tranzienst módon, míg a HES kezelés tartósan normalizált. A HS a plazma endothelin (ET) szignifikáns növekedésével járt, amelyet a HES és GEL oldatok mérsékeltek, azonban a DX további, szignifikáns emelkedést okozott. Az IR a FCD szignifikáns csökkenését és a gördülő/kitapadt leukocyták számának emelkedését okozta. HES kezelés hatására normalizálódott a FCD és a leukocytá-endothel sejt interakció, míg a GEL és a DX csak kismértékű, tranzienst FCD javulást és leukocytá aktiváció csökkenést eredményezett.

Konklúzió: A kolloidok közül a HES javította leghatékonyabban a mikrokeringés paramétereit, az ET felszabadulás és a leukocytá aktiváció csökkentése révén.

A PACAP ÁLTAL ELŐIDÉZETT AGYI VAZODILATÁCIÓ JELLEMZÉSE ÚJSZÜLÖTT MALACBAN

Lenti Laura¹, Domoki Ferenc¹, Tóth Gábor² Bari Ferenc¹

SZTE ÁOK Élettani Intézet (1), SZTE ÁOK Vegytani Intézet (2)

A pituiter adenilcikláz aktiváló peptid (PACAP) egy, a humán szervezetben is megtalálható polipeptid. Két biológiailag aktív formája létezik; egy 27 illetve egy 38 aminosavból álló forma. A PACAP a központi idegrendszerben neurotransmitterként, neuromodulátorként illetve neurotrofikus faktorként ismert. Neuroprotektív tulajdonsága bizonyított, kísérletes állatmodellekben képes csökkenteni a hipoxiás/isztkémiás stresszel létrehozott agyi infarktus nagyságát. Ebben ismert antiapoptotikus, antiinflammatorikus hatása mellett vazodilatátor hatása is szerepet játszhat.

Kísérleteinkben a zárt koponyaablak/intravitális mikroszkópia módszerével egyrészt jellemeztük a PACAP-pal kiváltott pia arteriola reakciókat, másrészt megvizsgáltuk, hogy az érreakciókban szerepet játszik-e a ciklooxygenáz (COX) vagy a nitrogén-oxid szintáz (NOS) rendszer aktivitása. Altatott, lélegeztetett, instrumentált újszülött malacokban (n=25) a lokálisan alkalmazott PACAP (1-38 illetve 1-27) dóziszfüggő (10^{-8} - 10^{-6} M) vazodilatációt (4 ± 2 - $36\pm 5\%$) hoz létre, míg az általunk használt rövidebb PACAP (6-27, 6-38, 6-15, 20-31) fragmentumok hatástalanok voltak. A COX-gátló indometacin (5 mg/kg, iv.) kivédte PACAP által előidézett vazodilatációt, míg a NOS inhibitor L-NAME (15 mg/kg, iv.) nem befolyásolta azt.

Kísérleteink alapján arra következtetünk, hogy a PACAP által kiváltott vazodilatációban döntően a COX enzim által termelt prosztanoidok vehetnek részt, míg az NO szerepe alárendeltnek tűnik. Eredményeink hozzájárulhatnak az agyi vérkeringés újszülöttkori szabályozásának és a PACAP neuroprotektív hatásának pontosabb megértéséhez.

A munka az OTKA (T-046531) támogatásával készült.

KÁROSODOTT MENINGEÁLIS CAPSAICIN- SZENZITÍV NEUROGÉN VAZODILATÁCIÓ KÍSÉRLETES DIABETES MELLITUSBAN

Dux Mária, Rosta Judit, Jancsó Gábor

Szegedi Tudományegyetem, Élettani Intézet, Szeged

A keményagyhártya vaszkuláris reakcióinak laser Doppler áramlásméréssel mérhető változásainak vizsgálata a fejfájás elfogadott kísérleti modellje. Korábban morfológiai és farmakológiai módszerekkel igazoltuk a capsaicin-szenzitív idegek jelenlétét a keményagyhártyában és kimutattuk, hogy ezek aktiválása calcitonin gén-relációs peptid (CGRP) által mediált vazodilatátoros választ közvetít. Jelen munkánkban a meningeális capsaicin-szenzitív afferens vazomotor idegek funkcióját vizsgáltuk patkányban streptozotocinnal előidézett kísérletes cukorbetegségben. A dura mater érreakcióit az a. meningeal media ágában laser Doppler módszerrel mért vérátáramlás-változásokkal jellemeztük. A szöveti CGRP tartalmat ELISA módszerrel határoztuk meg. Kontroll állatokban a dura mater felszínére applikált capsaicin (10^{-7} M) jelentős vérátáramlás-fokozódást váltott ki, amelyet a szisztémás és/vagy lokális capsaicin-előkezelés, a vanilloid receptor antagonist capsaicin és a CGRP antagonist CGRP₈₋₃₇ szignifikánsan gátolt. Hat héttel a streptozotocin kezelést követően a capsaicinnal kiváltható vazodilatáció a diabeteses állatokban elmaradt. Diabeteses állatokban a keményagyhártyából capsaicinnal kiváltható CGRP-felszabadulás ugyancsak szignifikánsan csökkent a kontrollhoz viszonyítva. A magasabb koncentrációban alkalmazott capsaicinnal (10^{-5} M) kiváltható vazokonstriktor válasz azonban változatlanul kimutathatónak bizonyult. A streptozotocin előkezelés ugyancsak nem befolyásolta a CGRP és a hisztamin által kiváltott meningeális vazodilatációt. Eredményeink arra utalnak, hogy kísérletes diabetesben károsodik a capsaicin-szenzitív vazomotor afferens funkciója, amely az elégtelen CGRP felszabadulás következtében a meningeális vazodilatáció részleges vagy teljes elmaradásához vezet. Az anti-inflammatorikus szöveti protektív mechanizmusnak tekintett szenzoros neurogén vazodilatációs folyamatok zavara szerepet játszhat a fejfájások lefolyásának diabetesben megfigyelt jellegzetességeinek kialakulásában. *Készült az OTKA T046469 és az ETT 569/2003 támogatásával.*

AZ ASSZIMETRIKUS DIMETILARGININ (ADMA) LEHETSÉGES SZEREPE AZ ARTERIOLÁK VAZOMOTOR FUNKCIÓJÁNAK SZABÁLYOZÁSÁBAN

Koller Á.^{1,2}, Rácz A.¹, Tóth E.¹, Jámbrík Zs.¹, Tóth J.^{1,2}

¹ Kórélettani Intézet, Semmelweis Egyetem, 1089 Budapest

² Dept. of Physiology New York Medical College, 10595 Valhalla, NY, USA

A nitrogén-monoxid szintáz (NOS) L-arginin-t használ szubsztrátként a vazodilatátor molekula NO termeléséhez, ezért az L-arginin szintetikus előállított metilszármazékai gátolják működését. Újabb kutatások kiderítették, hogy a szervezetben is termelődik metilált L-arginin, pl. az asszimetrikus dimetil-L-arginin (ADMA), aminek szintje kóros körülmények között megemelkedik. Feltételeztük, hogy exogén ADMA gátolja a NOS működését, ami az arteriolák NO által közvetített áramlás-indukálta dilatáció csökkenésében nyilvánul meg. Ezért vizsgáltuk az ADMA hatását izolált vázizom arteriolák vazomotor működésére (átmérő: ~150 µm, 80 Hgmm). Indomethacin ($2,5 \times 10^{-5}$ M) jelenlétében az ADMA (10^{-4} M) megszüntette az áramlás-indukálta (0-30 µL/min) érátmérő növekedést (kontroll: $164 \pm 5,4$ -ről $188 \pm 3,8$ µm-re vs. ADMA: $171 \pm 6,1$ -ről $173 \pm 6,3$ µm-re 20 µL/min áramlásnál). Az ADMA inkubációja után az NO donor SNP (10^{-7} M)-indukálta dilatáció szignifikánsan csökkent (kontroll: $79,2 \pm 3,1$ %, ADMA: $18,5 \pm 4,2$ %), míg az 8-brcGMP- (kontroll: $129,2 \pm 9,7$ µm-ről $139,8 \pm 10$ µm-re vs ADMA: $109,6 \pm 8,8$ µm-ről $133,3 \pm 9,6$ µm-re) és nifedipin-indukálta dilatációkban nem volt különbség. Az ADMA inkubálás során az alapátmérő csökkent ($-19,2 \pm 3,8$ %), amit szuperoxid-diszmutáz (SOD 200 U/ml) jelenléte blokkolt. ADMA jelenléte növelte a lucigenin kemilumineszcenciával és a dihydroethidinnel mérhető vaszkuláris szuperoxid termelést, amit SOD jelenléte blokkolt. Eredményeink azt mutatják, hogy az ADMA nem csak az NO szintézisét csökkenti, hanem szuperoxid termelést is indukál és mindkét mechanizmus jelentősen módosítja a rezisztencia erek vazomotor működését. Mivel az endogén ADMA intracelluláris szintje enzimatikusan szabályozott (ellentétben az L-NNA-vel és L-NAME-el), feltehető, hogy az endogén ADMA fontos szerepet játszik a NOS aktivitásának, ezáltal az arteriolák ellenállásának szabályozásában. *Támogatás: OTKA T-48376; AHA NE Aff. 0555897T.*

A BŐR MIKROKERINGÉSÉBEN TAPASZTALHATÓ VAZOMÓCIÓ RÉGIÓ SPECIFIKUS ELTÉRÉSEINEK JELLEMZÉSE LÉZER DOPPLERES VÉRÁRAMLÁS MÉRÉSEL

Bari Ferenc, Bere Zsófia; Tóth-Szüki Valéria

SZTE ÁOK Élettani Intézet

A mikrokeringés vizsgálata során egyes érszakaszokban az érátmérő periodikus - vazomóciónak is nevezett-változása figyelhető meg. Ennek a jelenségnek nem tisztázott a fiziológiai jelentősége és a létrejöttében szerepet játszó mechanizmusok is csak részben ismertek. Vizsgálatunk célja az volt, hogy egészséges fiatal önkénteseken (7 férfi és 6 nő, 20-21 éves) lézer Doppleres véráramlás mérés (Perimed 4000 kétsatornás áramlásmérő) segítségével meghatározzuk a spontán vazomóció regionális jellegzetességeit a testfelszín 14 pontján. Arra vonatkozóan is gyűjtöttünk adatokat, hogy vannak-e az egyes bőrterületek között karakterisztikus eltérések. Emellett megvizsgáltuk, hogy a mérési eredmények időben mennyire reprodukálhatók, ill. milyen jellegzetességei vannak az alkaron a 1, 2 és 3 perces leszorítást követően a kialakuló reaktív hiperémiának. Eredményeink szerint vazomóció ($5,7$ - $8,6$ min⁻¹) a test közép vonalához közeli régiók (homlok, halánték, reg. infraclav) mikrocirkulációjára jellemző, míg az alkaron és a tibian nem fordul elő. A domináns frekvencia a közép vonaltól távolodva csökken. A homlokra jellemző vazomóció 4 egymás követő héten ugyanolyan jellegzetességeket mutatott. A reaktív hiperémiára jellemző paraméterek (a leszorítás utáni áramlás csúcs latenciája, annak nagysága stb.) nagy variabilitást mutattak, azok tipizálása körülményes. A vazomóció regionális változásait egyaránt előidézhetik neurális és hemodinamikai eltérések.

A munka az OTKA (T-046531) támogatásával készült.

A POSTOCCLUSIV HIPERÉMIA MÉRÉSE AZ UJJ-BEGY MŐMÉRŐKLETE ALAPJÁN

Tarján Jenő, Kovács Imre

Veszprémi Akadémiai Bizottság Endothel Munkabizottság, Veszprém

A postocclusiv reaktív hiperémia (PORH) főleg a késői fázisban a NO képződéstől függ. Azt vizsgálták, hogy a felkar véráramlásának változása PORH-ban, vizsgálható-e az ujj-begy hőmérsékletének (UBH) mérésével. A szerzők ezek alapján új módszert dolgoztak ki a vascularis funkció vizsgálatára.

Módszer: A vizsgálat előtt a vizsgált személy 10 percig feküdt szobahőmérsékleten (20-25°C).

A PORH kiváltása a felkar 4.5 perces leszorításával történt vérnyomásmérő madzsettával suprasystoles nyomással. A UBH-t a mutatóujjon mérték FTM-101 infravörös bőrhőmérővel a leszorítás előtt (T₀) majd folyamatosan a leszorítás alatt és után. Meghatározták a leszorítás következtében kialakult legalacsonyabb (T_{min}) és az occlusio megszűnése utáni maximális hőmérsékletet (T_{max}). A PORH-ot a T₀ feletti hőmérséklettel jellemezték (T_{max}-T₀). Akkor tekintették a PORH-ot kiválthatónak, ha a T_{max} meghaladta a T₀-t. A PORH hiányát kórosnak fogadták el.

50 egészséges és 147 magas cardiovascularis rizikójú beteget vizsgáltak. Közülük 30 hypertoniás beteg esetében az UBH mérésével egy időben a Celermajer féle FMD vizsgálatot is elvégezték és ezt akkor tekintették kórosnak, ha az FMD nem haladta meg az 5%-ot.

Eredmények: Egészségesekben a T_{max} átlaga nagyobb volt, mint a T₀: 31.6±1.7 vs. 30.3±2.6°C, p<0.001. Betegekben a T_{max} átlaga hiperémiában nem haladta meg a T₀-t: 30.7±2.7 vs. 30.8±2.6°C, p=ns. A felmelegedés meredeksége is különbözött a két csoport között. Egészségesekben a T_{max}-T_{min}/t_{max}-t_{min}: 2.1±1.0 a betegekben 0.9±0.6, p<0.001. A kóros/normál arány mindkét módszerrel hasonló volt: $\chi^2=0.63$, 0.5>p>0.3.

Megállapítás: A PORH megállapítható az UBH mérésével. Magas cardiovascularis rizikójú betegek többségében a PORH nem váltható ki, valószínű endothel dysfunctio miatt.

A LASER DOPPLER TECHNOLÓGIA KLINIKAI ALKALMAZÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI

Kolossváry Endre, Farkas Katalin,

Szent Imre Kórház, Belgyógyászati Mátrix Intézet, Angiológiai Profil, Budapest

A Laser Doppler áramlásmérés noninvazív, dinamikus képalkotó eljárás, amely a Doppler elv alapján a monokromatikus Laser fény penetrációs tulajdonságnak megfelelően felszíni struktúrák mikrokeringésének vizsgálatára alkalmas vizsgáló módszer. A vizsgálat során mért mikrokeringés kifejezője a perfúziós egység, amely a keringés relatív mérőszáma. A klinikai gyakorlatban legelterjedtebb alkalmazási terület a bőr mikrokeringésének vizsgálata. A bőr mikrocirkuláció kettős funkciójának megfelelően (nutritív és hőszabályozó) rendkívül összetett rendszer. A szabályozó elemek (autonom idegrendszer, lokális metabolikus tényezők, endothel mediálta mechanizmusok, szenzoros C rostok mediálta vazoaktív peptid rendszer) egymástól nehezen elválasztható neurovaszkuláris rendszert alkotnak. A bőr különböző területein mért perfúzió nagyfokú változékonyságot mutat, ami miatt az alapáramlás helyett provokációs tesztvizsgálatok (lokális hőhatás, venoarterialis reflex, cold teszt, posztokklúzív hiperémia) terjedtek el. Ezek mellett a technológia lehetővé teszi iontoforezis útján farmakológiai vazokativ anyagok bőrbe juttatását és hatásuk vizsgálatát.

A klinikai gyakorlatban való alkalmazhatóságnak számos feltétele van. Szükséges, hogy az eljárással különbséget lehessen detektálni különböző tulajdonsággal jellemzett csoportok között. Fontos lenne a más mikrokeringési vizsgáló eljárásokkal való összehasonlíthatóság. Ezentúl bizonyítani kell, hogy a kimutatott különbségeknek prognosztikai jelentőségük van, a mért eltérések különböző terápiás megoldással módosíthatók, valamint a terápiás beavatkozással kiváltott változások kimutatható prognosztikai jelentőséget mutatnak. A Laser Doppler áramlásmérést alkalmazó tudományos vizsgálatok többsége szerkezetét tekintve az első csoportba tartozik, azaz különböző kórállapotokban (hipertónia, diabetes mellitus, veseelégtelenség) a mért paraméterek különbségét hangsúlyozzák kontroll csoporthoz képest. A más eljárással való összehasonlításra, prognosztikai jelentőségre, terápiás beavatkozás vizsgálatára vonatkozólag kevesebb adat ismeretes.

Összefoglalva a Laser Doppler áramlásmérés ígéretes mikrokeringési vizsgáló eljárás, amely klinikai alkalmazhatóságának több részlete további vizsgálatot igényel.

V₂ VAZOPRESSZIN ANTAGONISTA (OPC-31260) HATÁSA A GLOBÁLIS AGYI ISCHÉMIA INDUKÁLTA KÍSÉRLETES AGYÖDÉMÁRA PATKÁNYBAN

¹Molnár, A., ¹Varga, Cs., ¹Berkó, A., ¹Rojik, I., ²Párducz, Á.,
³László, F., ¹László, F.A.

¹SZTE TTK, Összehasonlító Élettani Tanszék, Szeged; ²MTA SZBK,
Biofizika Intézet, Szeged; ³SZTE JGYTFK, Testnevelési és
Sporttudományi Intézet, Szeged

Ismeretes, hogy CFY (Sprague-Dowley törzs) patkányokban mindkét oldali artéria carotis communis egyidejű lekötése globális agyi ischémiát, agyödémát idéz elő. Más szerzők leírták az orálisan effektív, V₂ vazopresszin receptor antagonistá OPC-31260 diuretikus hatását.

Kísérleteink során a vazopresszin (VP) jelentőségét vizsgáltuk az agyödéma pathomechanizmusában.

A nem-peptid OPC-31260 hatását tanulmányoztuk az agyi hypoxia által előidézett agyödémára.

Vizsgálatainkhoz CFY (Sprague-Dowley törzs) patkányokat használtunk. Agyi hypoxiát az artéria carotis communis kétoldali lekötésével idéztük elő. Az orális OPC-31260 30 mg/kg dózisban adagoltuk. Az agy víztartalmát súlyállandóságig történő szárítással, az elektrolyt-tartalmat spektrofotometriásan állapítottuk meg. A plazma vazopresszin szintet radioimmunoassay módszerrel mértük. Morfológiai változások tanulmányozásához elektronmikroszkópos felvételeket készítettünk.

4 vagy 6 óra elteltével az állatok nagyjából fele pusztult el. OPC-31260 kezelés után a túlélés aránya nagyobb volt. Elektronmikroszkópos vizsgálatok alapján a carotis lekötés után tipikus ischémiás elváltozásokat detektáltunk, és az OPC-31260 kezelés sem redukálta jelentősen a hypoxiás jeleket az agykéregben. Mindössze a perikapilláris ödéma csökkenését tapasztaltuk. A carotis lekötés növelte az agy víz- és Na⁺-tartalmát, valamint fokozta a plazma VP szintet. OPC-31260 adagolása meggátolta a víz és a Na⁺ mennyiségének emelkedését az agyban. Ellenben a plazma VP koncentrációját tovább emelte az OPC-31260 kezelés.

Eredményeink arra utalnak, hogy az agyi hypoxia okozta víz- és elektrolyt-egyensúly megbomlásában a VP fontos szerepet játszik. A carotis lekötés okozta agyödéma szignifikánsan csökkent orális OPC-31260 kezelés után. Eredményeink elősegíthetik a humán globális hypoxia okozta agyödéma kezelésének hatékony megközelítését.

ASPIRIN (ASP) KEZELÉS JAVÍTJA A HYPERHOMOCYSTEINAEMIA (HHCY) OKOZTA VÁLTOZÁSOKAT VEMHES PATKÁNYOKBAN

Dankó T., Kriston T, Zerginé Varga J, Horváth K, Molnár M

Semmelweis Egyetem, Kórélettani Intézet

A Hhcy az atherothrombotikus betegségek ismert rizikófaktor. Hatását közvetlenül a vascularis endothelsejteken fejti ki. A praeeclampsia (PE) fokozza mind az anyai, mind a magzati halálozás kockázatát. A PE főbb tünetei közé tartozik a hypertensio; fokozott presszorérzékenység a különböző vazopresszor ágensekkel, így angiotensin II (AngII)-vel szemben; proteinuria; vese- és májkárosodás, melyek az intrauterin növekedés visszamaradásához vezetnek. PE-ban a plazma homocystein szintje általában emelkedett. Jelenleg a PE-t endothelsejt-betegségnek tartják.

Vizsgálatainkban arra voltunk kíváncsiak, hogy Hhcy hatására kialakulnak-e a humán PE-ra jellemző tünetek vemhes patkányokban, és hogy ezek a Hhcy-indukálta változások befolyásolhatóak-e alacsony dózisu aspirin (ASP) adásával.

A Hhcy-t csapvízhez adott L-methionin (2g/ttkg/nap) és szukcinil-szulfatiázol (0.5 g/ttkg/nap) itatásával értük el. A terhesség első napján az állatok jobb a. és v. femoralisába krónikus katétereket helyeztünk. Az artériás középnyomás (MAP), illetve az AngII növekvő dózisaira adott presszorválasz mérése a gesztáció 7, 14 és 21. napján történt. 24 órás vizeletgyűjtés történt a proteinuria meghatározásra. A szülést követően azonnal megszámloltuk az újszülötteket és megmértük azok súlyát.

Hhcy hatására a MAP nem változott, hasonló volt a Hhcy-ás és a kontroll csoportban (103,0±10,76 Hgmm, ill. 97,4±3,0 Hgmm). Ugyanakkor az AngII iránti presszorérzékenység szignifikánsan fokozódott a Hhcy-ás csoportban (ΔMAP: 58±8 Hgmm vs control: 39±7 Hgmm, p<0,025). Alacsony dózisu ASP (1 mg/kg/nap) kezelés normalizálta a presszorérzékenységet. A proteinuria mértéke Hhcy-ás vemhes patkányokban megkétszereződött, ASP kezeléssel ez is kivédhető volt. Az újszülöttek súlyát tekintve nem volt szignifikáns különbség a Hhcy és a Hhcy+ASP csoportok között (3,93 g, ill. 3,96g).

Eredményeink azt mutatják, hogy a kísérletesen indukált Hhcy a humán PE-nak megfelelő tüneteket utánozza vemhes patkányban. Alacsony dózisu ASP kezelés javított a vizsgált hemodinamikai paramétereken. Úgy véljük, hogy az alacsony dózisu ASP kezelés jótékony hatású lehet a magasabb homocystein szinttel rendelkező PE-ás anyák esetében.

ORTHOSZTÁZIS ÉS INVERZ ORTHOSZTÁZIS EGYARÁNT TARTÓS VÉRNYOMÁSEMELKEDÉST OKOZ ÉBER PATKÁNYBAN

Dézi László*, Raffai Gábor, Monos Emil

Richter Gedeon Rt. Farmakológia és Semmelweis Egyetem Humán
Élettani Intézet, Budapest*

A szervezetet érő különféle orthosztatikus hatások akut és krónikus adaptív válaszreakciókat válthatnak ki. A jelen vizsgálatban rövid- és közepes távú 45°-os „fej-fel” billentés (HUT), valamint „fej-le” (HDT) billentés általi orthosztatikus és inverz orthosztatikus terhelés hatásait vizsgáltuk normotenzív (NT) és hipertenzív (HT) patkányokon. Az artériás vérnyomást (BP) és a szívfrekvenciát (HR) telemetriás módszerrel mértük. A hipertenziót az NO-szintézis gátlásával hoztuk létre. A testhelyzet megváltoztatását 3x5 percig ismételve (R), vagy 120 percig folyamatosan fenntartva (S) hoztuk létre, ami a mérés helyén ± 3.8 Hgmm-es (HUT/HDT) hidrosztatikus nyomásváltozással járt. NT patkányokban a horizontális kontroll BP 115.4 ± 1.4 /S 113.7 ± 1.6 Hgmm, a HR 386.4 ± 7.0 /S 377.9 ± 8.8 BPM volt. HUT a BP-t 4.5 /S 8.4 Hgmm-rel, míg HDT 5.9 /S 10.6 Hgmm-rel növelte. NO blokkolást követően a HT patkányokban a horizontális kontroll BP 138.4 ± 2.6 /S 140.3 ± 2.7 Hgmm, a HR 342.1 ± 12.0 /S 346.0 ± 8.3 BPM volt. HUT a BP-t 4.2 /S 9.4 Hgmm-rel, míg HDT 5.1 /S 10.5 Hgmm-rel tovább növelte. A szívfrekvencia alig, vagy nem változott. Eredményeink arra utalnak, hogy normotenzív és hipertenzív éber patkányokban a gravitációs és antigravitációs hatások egyaránt kis- vagy közepes mértékű fenntartott BP emelkedést okoznak. A hatás feltehetően reflexes szimpatikus aktivitásfokozódás következménye.

Kutatási támogatás: OTKA T-042670/2003, ETT 240, és TP-163/2004.

A MYOFIBRILLÁRIS KONTRAKTILIS FUNKCIÓ VÁLTOZÁSA A SZÍVELEGTELENSÉG TG(ALPHA)Q*44 EGÉR MODELLJÉBEN

Édes István Ferenc

*Klinikai Fiziológiai Tanszék, Kardiológiai Intézet, Debreceni Egyetem,
Magyarország;*

A G(alpha)q fehérje aktivációja szerepet kap a krónikus humán szívelegtelenység kialakulásában. Az aktivált G(alpha)q fehérjét szívspecifikus módon overexpresszáló egértörzset szintén lassan kialakuló szívelegtelenység jellemzi. A Tg(alpha)q*44 egértörzs ezért a szív hypertrophia és szívelegtelenység állatmodelljének tekinthető. Ebben a tanulmányban a myofibrilláris rendszer azon mechanikai változásait kívántuk meghatározni, melyek a Tg(alpha)q*44 egerek születését követő 20 hónapos periódus alatt hozzájárulnak a kompenzált szívelegteleniségből dekompenzált szívelegteleniségbe történő átmenethez. Triton-X 100-permeabilizált izolált szívizomsejteket használva 1,9 és 2,3 mikrométer szarkomerhosszaknál mértük a maximális Ca^{2+} -aktivált erőt (pCa 4.75), a Ca^{2+} -független passzív erőt (pCa 9), az izometriás erő Ca^{2+} -érzékenységét (pCa50) és az aktin-miozin ciklus sebességét (ktr) ($T=15^\circ\text{C}$). A maximális Ca^{2+} -aktivált erő (pCa: 4,75) és a passzív erő komponens (pCa: 9) nem különbözött a transzgenikus és kontroll állatokban a teljes követési periódus alatt. Továbbá, 14 hónapos korig (még a Tg(alpha)q*44-specifikus kardiális dekompenzáció kialakulása előtt) a Tg(alpha)q*44 állatokban mért pCa50 és ktrmax (pCa:4,75) értékek sem különböztek a korban megfelelő kontroll állatok identikus paramétereitől. A 18 hónapos kor után (a Tg(alpha)q*44-specifikus kardiális dekompenzációt követően) végzett vizsgálatok arra utaltak, hogy a Tg(alpha)q*44 egerekben 2,3 mikrométer szarkomerhossznál mért Ca^{2+} -érzékenység nagyobb, a ktrmax pedig kisebb ($P<0,05$), mint a kontroll állatokban (pCa50: $6,41 \pm 0,05$ vs. $6,26 \pm 0,02$, ktrmax: $5,38 \pm 0,39$ sec⁻¹ vs. $6,73 \pm 0,37$ sec⁻¹; $n=6-6$ szívizomsejt; átlag $\pm$ SEM).

Eredményeink szerint a G(alpha)q fehérje aktiváció dacára a myofibrilláris erőgenerálás és annak hossz-függő szabályozása csak idős állatokban változik, de fiatal állatokban nem. Ezek az adatok azt sugallják, hogy a G(alpha)q fehérje aktivációja közvetlenül nem érinti a myofibrilláris funkciót, de olyan változásokat indukál, melyek a szívelegtelenység késői fázisában hatást gyakorolnak a kontraktilis fehérjék foszforilációs/expressziós mintázatára.

A KONTRAKTILIS FEHÉRJE OXIDÁCIÓ ÉS MECHANIKAI KÖVETKEZMÉNYEI A HUMÁN MYOCARDIUMBAN

Hertelendi Zita, Tóth Attila, Borbély Attila, Galajda Zoltán, Vaszily Miklós, Édes István, Papp Zoltán

A myofibrilláris fehérjék szulfhidril-csoportjain (SH) bekövetkező oxidáció kontraktilitásra gyakorolt hatásait vizsgáltuk SH-specifikus oxidáló és redukáló szerek segítségével permeabilizált, izolált humán szívizomsejteken. Az oxidálószerként használt 2,2'-ditiopiridin (DTDP) dózis függő módon megszüntette az izometriásan mért maximális Ca^{2+} -aktivált erőt (P_o) ($EC_{50}=2,82\pm0,2$ mM; $\text{átlag}\pm\text{SEM}$; $n=6$). 2,5 mM DTDP kezelés ($n=28$) csökkentette a P_o -t ($\Delta P_o=34\pm2\%$), a Ca^{2+} -érzékenységet ($\Delta PCa_{50}=0,2\pm0,02$), és az aktin-miozin ciklus kinetikáját jellemző k_{tr} paramétert ($\Delta k_{tr}=0,262\pm0,03$ sec^{-1}). Ezek a DTDP hatásra kialakuló mechanikai változások teljes mértékben visszafordíthatóak voltak a két tiol csoporttal rendelkező ditiotreitolal (10 mM DTT; $n=14$). Ellman-reagenssel végzett vizsgálatok szerint a fehérjék SH csoportjai 10 mM DTDP hatására csaknem teljesen eloxidálódtak. Továbbá, 3 mM DTDP hatására a szabad SH csoportok számában bekövetkező csökkenés (100%-ról $15,1\pm1,8\%$ -ra) DTT-vel teljesen ($96,7\pm14,1\%$ -ig) visszafordítható volt. A különböző myofibrilláris fehérjék SH-oxidációra mutatott érzékenységét (+)-biotinil-jodoacetamidil-3,6-dioxaoktanediamin alkalmazásával határoztuk meg. Utóbbi vizsgálatok szerint az SH-csoportok modifikációja számos kontraktilis fehérjében, de eltérő DTDP koncentráció tartományban következik be. A DTDP EC_{50} -nek megfelelő koncentrációknál elsősorban az aktin és egy 23 kDa molekulásúlyú fehérje SH-csoportjainak az oxidációja jött létre.

Összegezve eredményeinket elmondható, hogy a myofibrilláris fehérjék oxidációja következtében csökken a Ca^{2+} -aktivált erő maximuma és a kontraktilis rendszer Ca^{2+} -érzékenysége, továbbá lassul az aktin miozin ciklus sebessége. Ezen változások hátterében a kontraktilis fehérjék eltérő mértékű SH-oxidációja áll. Mindezen folyamatok hozzájárulhatnak a szív csökkent pumpafunkciójához a fokozott oxidatív stresszel járó kórállapotokban.

A LEVOSIMENDAN CSÖKKENTI AZ ENDOTHELIN-1 ÁLTAL KIVÁLTOTT KORONÁRIA SPAZMUST ÉS KAMRAI RITMUSZAVART: VIZSGÁLATOK *IN SITU* KUTYASZÍVEN

Kékesi Violetta, Szilágyi Szabolcs, Soós Pál, Túri Katalin, Szűcs Gábor, Juhász-Nagy Sándor, Merkely Béla

Semmelweis Egyetem Ér-és Szívsebészeti Klinikája, Budapest

A kalcium-érzékenyítő levosimendán új típusú, pozitív inotróp és vazodilatátor hatású vegyület, amely szívelégtelenségben illetve miokardiális ischaemiában javítja a szívfunkciót.

Kísérleteinkben intrakoronáriásan (ic.) adott endotelinnel (ET-1) előidézett koronária spazmusban vizsgáltuk a levosimendán hatását. A vizsgálatokat 3 kísérleti csoportban, 15 kutyán, *in situ* szíven végeztük. Az első csoport i.c. ET-1-et kapott 30 percen át 60 pmol/perc dózisban. A második csoportban i.v. levosimendant (LEV) adtunk (24 $\mu\text{g/kg}$ bolus, majd 0.4 $\mu\text{g/kg/perc}$, iv. 90 percig). A harmadik csoportban a LEV infúzió 30-60. perce között i.c. ET-1-et (60 pmol/perc) alkalmaztunk.

Regisztráltuk a végtagi EKG-t, a koronária áramlást, a szisztémás vérnyomást. A kamrai kontraktilitást a végszisztolés nyomás-térfogat változást leíró ESPVR értékkel jellemeztük.

Az ET-1 30 perces infúziója a koronária konduktancia (C) alapértékét $61\pm1,5\%$ -kal csökkentette, minden állatban gyors non-sustained kamrai tachycardiát és az esetek 60%-ában kamrafibrillációt váltott ki. A második csoportban a LEV karakterisztikus inotróp (ESPVR: $+84\pm5\%$, $p<0.02$) és vazodilatátor (C: $+48\pm3.5\%$, $p<0.05$) hatást fejtett ki. A LEV pozitív inotróp hatása ET-1 indukált ischaemiában is fennmaradt (ESPVR: $+69\pm7\%$, $p<0.05$). Az ET-1 vazokonstriktor effektusát a LEV párhuzamos infúziója kompenzálta ($C_{\text{bazális}}$: 0.22 ± 0.01 vs. $C_{\text{LEV+ET-1}}$: 0.21 ± 0.01 mL/min•Hgmm, ns.). A LEV és a LEV+ET-1 csoportban malignus kamrai tachyaritmia nem jelentkezett.

Következtetésünk szerint a levosimendan pozitív inotróp hatása mellett a koronária tónus csökkentésével endotelin-spazmusban antiischaemiás effektust is kifejt, amit a súlyos kamrai ritmuszavarok csökkenése és a kamrafibrilláció elmaradása is jelez.

A KARDIÁLIS RYR2 ÉS SERCA2A FUNKCIÓJA KORAI DIABÉTESZBEN SÉRÜL

Miklós Zsuzsanna, Szenczi Orsolya, Ivanics Tamás, Ligeti László

Semmelweis Egyetem, Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet

Diabéteszben romlik a szívfunkció, mellyel a betegség előrehaladott stádiumában együtt jár a kardiomiociták szabad Ca^{2+} -szintjét ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) szabályozó folyamatok zavara. Kísérleteink célja a $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -homeosztázis elváltozások kóroki szerepének felderítése volt a kardiális zavarok kialakulásának korai és átmeneti stádiumában.

Streptozotocin-kezelt (STZ) patkányok izolált perfundált szíveinek hemodinamikai teljesítményét, és $[\text{Ca}^{2+}]_i$ változásait követtük nyomon 4 és 6 héttel a diabétesz-indukciót követően nyugalmi, és izoproterenol-stimulált (5 nM) körülmények között. A $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -t Indo-1 felszíni fluorometriás technikával mértük. Vizsgáltuk továbbá a $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -háztartás kulcsenzimeinek kinetikai jellemzőit matematikai modell alkalmazásával, illetve expressziós változásait mRNS-szintjük meghatározásával.

4 héttel az STZ alkalmazását követően izoproterenol infúzió alatt csökkent inotróp és luzitrop válasz volt megfigyelhető a diabéteszes állatok szíveiben ($+dP/dt_{\max}$: K: 2610 ± 280 vs. D: 2170 ± 210 ; $-dP/dt_{\max}$: K: 2190 ± 240 vs. D: 1590 ± 180 Hgmm/s), 6 hetes diabéteszben a zavar már nyugalmi körülmények között is kimutatható volt ($+dP/dt_{\max}$: K: 2869 ± 115 vs. D: 2091 ± 84 ; $-dP/dt_{\max}$: K: 1833 ± 156 vs. D: 1318 ± 85 Hgmm/s). Ezzel párhuzamosan csökkent a $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -felszabadulás és -szekvesztráció sebessége. Ennek megfelelően csökkent RyR2 konduktancia (4 hét - izoproterenol: K: $4.1 \pm 1.2 \times 10^6$ vs. D: $2.2 \pm 0.8 \times 10^6$; 6 hét - nyugalom: K: $4.5 \pm 0.3 \times 10^6$ vs. D: $3.0 \pm 0.5 \times 10^6$ nM/s), és SERCA2a transzportaktivitás volt megfigyelhető (4 hét - nyugalom: K: $0.5 \pm 0.06 \times 10^6$ vs. D: $0.26 \pm 0.06 \times 10^6$; 6 hét - nyugalom: K: $0.71 \pm 0.15 \times 10^6$ vs. D: $0.31 \pm 0.03 \times 10^6$ nM/s). A $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -szabályozó fehérjék mRNS szintjében nem volt eltérés.

I. típusú diabétesz korai és átmeneti stádiumában a szív relaxációs és kontrakciós teljesítményének progresszív romlását a szívizomsejt RyR2 és SERCA2a funkcionális károsodása okozza.

A BAROREFLEX-ÉRZÉKENYSÉG ÉS ARTERIA CAROTIS RUGALMASSÁG NAGYÉRTRANSZPOZÍCIÓVAL OPERÁLT BETEGEKBEN

László A., Pintér A., Dombi T., Mersich B., Kollai M.

SE, Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet

Előzmény: Korábban megállapítottuk, hogy a nagyartériák transzpozíciója (TGA) esetén az a. carotis falának rugalmassága csökkent. Egészséges alanyokban a baroszenzoros érfal rugalmassága és a baroreflex érzékenysége között egyenes arányosság áll fenn. Ezen tanulmány során megvizsgáltuk, hogy TGA betegekben a carotis rugalmasságának csökkenése együtt jár-e a cardiovagal baroreflex-érzékenység csökkenésével (BRS).

Módszerek és eredmények: Harminckét 9-19 éves TGA beteget vizsgáltunk 12 ± 3 évvel a korrekciós műtét után, és 32 életkorban egyeztetett kontroll alanyt. Az a. carotis diasztolés átmérőjét és pulzatilis disztenzióját falmozgást követő ultrahangos készülékkel, a carotis vérnyomását lokálisan tonométerrel határoztuk meg. A BRS-t spontán (BRS_{seq} , LF_{gain}) és phenylephrines módszerrel (BRS_{phe}) mértük. Az a. carotis disztenzibilitása jelentős csökkenést mutatott a betegekben a kontrollokhoz képest ($5,6 \pm 1,9$ és $8,7 \pm 2,7 \times 10^{-3}$ Hgmm, $p < 0.05$ – páratlan t-próbával). Ugyanakkor a TGA betegek és a kontroll alanyok között BRS-ben különbség nem volt kimutatható ($20,3 \pm 14,7$ és $21,7 \pm 12,7$ BRS_{seq} -re; és $13,1 \pm 9,2$ és $10,6 \pm 4,5$ LF_{gain} -re; $19,1 \pm 8,6$ és $24,7 \pm 7,1$ BRS_{phe} -re vonatkozóan).

Következtetés: Az a. carotis rugalmassága jelentősen károsodott a TGA betegekben, de a baroszenzoros érfal merevsége nem jár a BRS csökkenésével. Feltehetőleg a fejlődési rendellenesség fennállása során centrális neurális mechanizmusok adaptálódnak a csökkent baroreceptor aktivitáshoz.

STRESSZ INDUKÁLTA HIPERGLIKÉMIA HATÁSA A POLI(ADP-RIBÓZ) POLIMERÁZ AKTIVITÁSRA KERINGŐ LEUKOCITÁKBAN

Benkő Rita, Horváth Eszter Mária, Kiss Levente,
Lacza Zsombor, Szabó Csaba

A poli(ADP-ribóz) polimeráz (PARP) intranukleárisan elhelyezkedő enzim, amelyet a DNS sérülései aktiválnak. Működése során NAD^+ -t hasít nikotinamidra és ADP-ribózra, utóbbiból a környező fehérjékre (főleg hisztionokra és önmagára) épít poli(ADP-ribóz) polimereket (PAR). Ezen polimerek egyrészt megváltoztatják a makromolekulák térbeli elrendeződését és ezzel megkönnyítik a javító enzimek kapcsolódását a sérült DNS-hez, másrészt szignálként szolgálhatnak apoptotikus folyamatok elindításához, illetve a NAD^+ és következményes ATP deplécio nekrozishoz vezethet. Az irodalomból jól ismert, hogy a stressz a vérplazma glukózsintjének emelkedését okozza.

1.A stressz indukálta hiperglikémia fokozza-e a keringő leukocitákban a PARP aktivitást?

2.A vércukorszint normális, vagy alacsony szinten tartása rövid hatású inzulinnal befolyásolja-e a PARP aktivációt a limfocitákban?

Hím patkányokban endotoxin sokkot indukáltunk 15 mg/ttkg lipopoliszaccharid (LPS) intravénás adásával, az állatok egy része ezzel egyidőben 30, 50 illetve 100 μl Novorapid inzulint kapott szubkután. A vércukorszintet ezután három órán keresztül mértük, majd az állatokat feláldoztuk és 6 ml vért vettünk le a v. cava caudalisból. A levett vérből a leukocitákat izoláltuk, majd immunhisztokémiai módszerekkel jelöltük a PAR-t a sejtekben. A PAR mennyiségét a limfocita populációban áramlási citometriával határoztuk meg.

A vércukorszint az első 120 percben az LPS-sel kezelt állatokban megemelkedett, az inzulin hatására ez az emelkedés elmaradt, és a plazma glukóz szint a kontroll szint alá csökkent. A 120. és 180. perc között mindegyik sokkos állatban a vércukorszint 4 mmol/l alá esett. A vércukorszint nem különbözött a három inzulinnal kezelt csoportban. Áramlási citometriával vizsgálva a limfocitákat, azt tapasztaltuk, hogy az LPS a PAR mennyiségét jelentősen megnövelte, (a fluoreszcencia maximuma 10-ről 130-ra tolódik el), amit az inzulin adása meggátolt, dóziszfüggő mértékben. 100 μl inzulin szubkután adása teljes mértékben meggátolta a PARP aktiválását, a kontroll szinten maradt a PAR mennyisége.

Kísérleteinkből arra következtettünk, hogy az inzulin nemcsak a vércukorszint csökkentésén keresztül gátolja a PARP aktivációt, hanem egy új, eddig ismeretlen reakcióúton keresztül is hat a PARP-ra.

A VANILLOID RECEPTOR-1 (TRPV1) ÉS CANNABINOID RECEPTOR-1 (CB1) VIZSGÁLATA A PROSTATA HIPERPROLIFERATÍV MEGBETEGEDÉSEIBEN

Czifra Gabriella¹, Nyeste Katalin¹, Marincsák Rita¹, Vasas Krisztina¹, Varga Attila², Bíró Tamás¹

Debreceni Egyetem, OEC, ¹Élettani Intézet és ²Urológiai Klinika

A vanilloid receptor-1 (TRPV1) és cannabinoid receptor-1 (CB1) kifejeződését eredetileg főként idegi struktúrában jellemezték. A legújabb kutatások ugyanakkor számos nem-neuronális sejtfeleségen is leírták funkcionális (azaz pl. sejproliferációt szabályozó) jelenlétüket. Kísérleteinkben ezért a receptorok expresszióját és szabályozó szerepét vizsgáltuk egészséges és urológiai műtétek során eltávolított kóros humán prostata mintákon, valamint sejtvonalakon.

Immunhisztokémiával sikerrel azonosítottuk a két receptort humán prostatában (n = 13). Sejttypus-specifikus kettős immunfestést alkalmazva a legintenzívebb TRPV1 és CB1 expressziót a glanduláris mirigyhámsejtekben, a myoepithelialis sejtekben, valamint a simaizomelemekben találtuk. Western blot és kvantitatív Q-PCR technikákkal kimutattuk továbbá, hogy benignus prostata hyperplasiában (n = 10) jelentősen fokozódott a CB1 kifejeződése, míg a TRPV1 expressziója nem változott az egészséges minták értékeihez képest. Megállapítottuk azt is, hogy mintkét receptor expressziója jelentősen megnövekedett prostata carcinomából (PCC, n = 14) származó mintákon. Különbségnek adódott ugyanakkor, hogy míg a TRPV1 kifejeződésének mértéke jól korrelált a minták gradusának (azaz a PCC malignitásának) növekvő mértékével, addig a CB1 PCC-ban tapasztalt megnövekedett expressziójában ilyen törvényszerűséget nem tudtunk kimutatni. A receptorok funkcionálisát tanulmányozva végül kimutattuk, hogy a TRPV1 agonista kapszaicin és a CB1 endogén agonista anandamid dóziszfüggően csökkentette PCC sejtvonalak (PC-3, DU-145) proliferációját és életképességét.

Eredményeink arra utalhatnak, hogy a TRPV1 és CB1 receptorok új, potenciális terápiás célpontként szerepelhetnek a PCC jövőbeli terápiájában. A TRPV1 kifejeződésének gradus-függő növekedése emellett felveti a receptor prognosztikai faktorként való alkalmazásának lehetőségét is PCC-ban.

A FOSZFOLIPÁZ C $\gamma 2$ ELENEDHETETLEN AZ F_C RECEPTOROK ÉS AZ INTEGRINEK JELÁTVITELÉHEZ NEUTROFIL GRANULOCITÁKBAN

Jakus Zoltán, Németh Tamás és Mócsai Attila

Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Budapest

A neutrofil granulociták fontos szerepet játszanak a kórokozók elpusztításában, valamint számos autoimmun betegségek patogenezisében. Ezen neutrofil funkciók során a sejtek aktivációja több receptor irányából kialakulhat. Irodalmi adatok alapján felmerült a foszfolipáz C $\gamma 2$ (PLC $\gamma 2$) esetleges részvétele a neutrofilek effektor válaszainak kiváltásában. Kísérleteinkben a PLC $\gamma 2$ szerepét vizsgáltuk az integrinek, Fc receptorok és G-fehérje-kapcsolt receptorok jelátvitelében.

Méréseinkben PLC $\gamma 2$, Src-típusú tirozin-kináz és Syk tirozin-kináz hiányos (knockout) neutrofileket aktiváltunk felülethez kötött immunkomplexekkel, TNF-fel integrin-ligand felszínen, illetve G-fehérje-kapcsolt receptor agonistákkal (fMLP-vel) szuszpenzióban. A neutrofilek funkcionális válaszait (szuperoxid-termelés, degranuláció, szétterülés), valamint az intracelluláris jelátviteli folyamatait detektáltuk kísérleteinkben.

Méréseinkben PLC $\gamma 2^{-/-}$ neutrofilekben az effektor funkciók teljesen károsodottak voltak mind felszínhez rögzített immunkomplexekkel, mind TNF-fel stimulálva; viszont nem tapasztaltunk különbséget a válaszokban, ha fMLP-vel aktiváltuk. Kimutattuk, hogy az immunkomplex, illetve integrin-ligand felszínen a TNF stimulus hatására Src-kináz- és Syk-kináz-függő módon jön létre a PLC $\gamma 2$ foszforilációja.

Eredményeink arra utalnak, hogy a PLC $\gamma 2$ elengedhetetlen az Fc-receptorok és az integrinek jelátviteléhez neutrofilekben. A PLC $\gamma 2$ aktivációja Src-kináz- és Syk-kináz-függő módon alakul ki. Adataink azt is alátámasztják, hogy a PLC $\gamma 2$ nem szükséges a G-fehérje-kapcsolt receptorok jelátviteléhez.

A REAKTÍV OXIGÉN SZABADGYÖKÖK HATÁSA AZ INTRACELLULÁRIS Ca²⁺ ANYAGCSERÉRE

Koncz P., Szanda G., Rajki A., Spät A.

Irodalmi adatok szerint a reaktív oxigén szabadgyökök (ROS) által okozott oxidatív stressz citoplazma [Ca²⁺] növekedést okoz. Vizsgálatainkban xantin-xantin oxidáz (X/XO) rendszerrel olyan mértékű szabadgyök termelést idéztünk elő, hogy az ne befolyásolja a bazális intracelluláris Ca²⁺ koncentrációt. Ez az alacsonyabb szabadgyök koncentráció csökkentette az IP₃ függő Ca²⁺ felszabadulást.

Korábbi munkáinkban kiderült, hogy a fluorimetriás mérésekben általánosan alkalmazott intenzitású UV fény csökkenti a sejtek NAD(P)H szintjét. Azóta tisztáztuk, hogy a hatás az UV megvilágításra bekövetkező ROS keletkezéssel függ össze. Ezt bizonyítja, hogy az UV megvilágítás alatti NAD(P)H és szabadgyökfogók (TEMPO, C-vitamin, kataláz) alkalmazásával mérsékelhető. Vizsgáltuk, hogy az UV fény milyen hatással van a Ca²⁺ homeosztázisra. Az UV fény csökkentette az 1 nM angiotenzin indukálta citoplazma Ca²⁺ emelkedés első csúcsának nagyságát, hasonlóan a X/XO rendszer által képzett szabadgyökökhöz. Az UV fény csökkentette a citoplazma [Ca²⁺] emelkedés mitokondriális mátrixba való átvándorlását is, miközben a mitokondriális membrán potenciál változatlan maradt. Ezzel ellentétben a Ca²⁺ anyagcsere más komponenseire, a depolarizációt követő citoplazma [Ca²⁺] emelkedésre, illetve a thapsigarginnal előidézhető kapacitív Ca²⁺ beáramlásra nem volt hatással. Nem befolyásolta az angiotenzin indukált IP₃ keletkezést sem. Mindezek alapján arra következtettünk, hogy az UV hatására bekövetkező citoplazma Ca²⁺ jel csökkenés a csökkent IP₃ függő Ca²⁺ felszabadulás következménye. A citoplazma Ca²⁺ jel mitokondriális mátrixba történő átvándorlásának hatékonyságának romlása a magas Ca²⁺ koncentrációjú mikrodomének szerkezetének megváltozásával függhet össze.

A vizsgálatainkhoz mikrofluorimetriás technikákat használtunk. A citoplazma [Ca²⁺] változásait Fluo-4, a mitokondriális [Ca²⁺] változásait Rhod-FF fluoreszcens festékekkel, laser konfokális mikroszkóp segítségével követtük.

A TRIADIN FEHÉRJE FUNKCIÓJÁNAK VIZSGÁLATA IN VITRO IZOMTENYÉSZETEK BEN

Fodor János, Csernoch László

DEOEC Élettani Intézet

A triadin többféle izoformában expresszáldó fehérje a harántcsíkolt izomban, különféle izoformáit nyúlban, patkányban, kutyában és emberben is igazolták. Patkány vázizmában a 95, 51, 49 és 32 kDa tömegű változatok ismertek, melyek ugyanazon gén alternatív splicing révén keletkező fehérjetermékei. A triadin a vázizom sarcoplasmaticus reticulumban lokalizálódó egyszeres transzmembrán fehérje, melynek rövidebb N-terminálisa a citoplazma felé néz, C-terminálisa az SR lumenében lokalizálódik. Az egyes triadin izoformák a C-terminálisaik hosszában különböznek. A fehérje a ryanodin receptorhoz ill. a lumenen belül a calsequestrinhez kötődik. Ezen trimolekuláris kölcsönhatásnak fontos szerepe lehet a triad szerkezetének fenntartásában, a RyR és ezáltal a kalcium release szabályozásában valamint az izom differenciálódásában. Az egyes triadin izoformák funkciója még nagyrészt ismeretlen, a mi kísérleteink a 95kDa tömegű triadin szerepének felderítésére irányultak. A funkciót a fehérje túltermelése révén vizsgáltuk. C2C12 egér vázizom sejteket transzfektáltunk expressziós plazmidba klónozott TRISK95 cDNS-el. Az overexpresszált fehérje jelenlétét anti TRISK95 antitest felhasználásával immuncitokémiával ellenőriztük. A túltermelés hatását a C2C12 sejtekből differenciáltatott myotube-okon vizsgáltuk i.e. kalcium méréssel és konfokális mikroszkópiával. A fehérje várható túltermelését eredményezi patkány szatellita sejtekből differenciáltatott myotube-ok fertőzése TRISK95 cDNS-el rekombinánt adenovírus vektorral. A vizsgált myotube-okban mind a koffein indukált, mind a kálium-depolarizáció által kiváltott kalcium-felszabadulás nagymértékben különbözött a kontroll és a triadint túltermelő sejtek esetében és a kalcium felszabadulás időbelisége is eltérő volt. A vázizomban eddigi eredményeink alapján a triadin túltermelése gátolja a ryanodin receptort s ezáltal jelentős szerepet játszik a vázizom kalcium-homeosztázisában.

KERINGŐ LEUKOCITÁK OXIDATÍV STRESSZ OKOZTA POLI-(ADP-RIBÓZ)-POLIMERÁZ (PARP) AKTIVÁCIÓJA DIABÉTESZ MELLITUSZBAN

**¹Horváth Eszter M., ¹Benő Rita, ^{1,2}Pék Tamás, ^{1,2}Fekete Katalin,
^{1,2}Bárány Tamás, ²Nieszner Éva, ²Tóth-Zsámboki Emese ¹**

Kollai Márk, ¹Szabó Csaba

¹Semmelweis Egyetem, Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani
Intézet,

²MTA-SE Kardiovaszkuláris Kutató Csoport, Budapest

Diabétesz mellituszban az intermittálóan magas vércukorszint következtében keletkező szabadgyökök DNS-károsodást okoznak. Ennek hatására a sejtekben a PARP aktiválódik, melynek ATP és NAD⁺ igényes működése energia deficithez, a sejt nekrozisához vezethet. Kísérletünkben diabéteszes patkányok keringő leukocitáiban és csontvelősejtjeiben vizsgáltuk a nitrozatív stressz és a PARP aktiváció mértékét, és ennek változásait inzulinkezeléssel létrehozott normoglikémia, illetve változó vércukorszint esetén.

Hím Wistar patkányokat streptozotocin intravénás adásával diabetizáltuk, a kontroll csoport vehikulumot kapott. Két hét elteltével a diabéteszes állatok egy csoportjának vércukorszintjét lente inzulin 24 óránkénti i.p. adásával a normális tartományban tartottuk. A cukorbeteg patkányok másik csoportjának vércukorszintjében 48 óráig, átlagban 35mmol/l-es vércukorszint ingadozásokat hoztunk létre ultralente inzulin 48 óránkénti i.p. adásával. Újabb két hét elteltével vér és csontvelő mintát vettünk. A vérből izolált leukocitákat poli-(ADP-ribóz) (PAR : PARP terméke) ellenes antitesttel jelöltük. A festődés mértékét áramlós citometria segítségével határoztuk meg. A csontvelőket PAR illetve nitritirozin (NT: a nitrozatív stressz markere) elleni antitesttel festettük.

Eredmények:	Kontroll	DM	Lente	Ultralente
PAR: keringő leukociták, áramlós citometria (Fuoresszens egysegek)	8,37±0,87	11,71±0,69 *	7,7±1,73 #	6,37±0,51 ##
NT: csontvelő immunhisztokémia pozitív sejtek (%)	3,72±0,9	8,95±0,6,3 **	5,22±0,5	8,43±1,11 **
PAR: csontvelő immunhisztokémia Szubjektív skála (1-10)	4±0,44	7,2±0,37 *	4±0,55 #	6±0,76

*: p<0,05 vs. Kontroll, **: p<0,01 vs. Kontroll, ##: p<0,01 vs. DM

Eredményeink azt mutatják, hogy diabétesz mellitusz során a keringő leukocitákban és csontvelősejtjeiben kialakuló fokozott nitrozatív stressz és PARP aktiváció a vércukorszint normalizálásával csökkenthető. Az átlagosan alacsonyabb, de kifejezetten ingadozó vércukorszint azonban a csontvelő sejtjeiben a kezeletlen csoporthoz hasonló mértékű nitrozatív stresszhez és PARP aktivációhoz vezet.

AZ AT_{1A} ANGIOTENZINRECEPTOR G-FEHÉRJÉTŐL FÜGGETLEN JELÁTVITELÉNEK VIZSGÁLATA C9 SEJTEKBEN

Szidonya László, Süpeki Katinka, Karip Eszter, Turu Gábor, Hunyady László

Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest

Az angiotenzin II (AngII) hatásait legtöbb célszövetében az AT₁-es angiotenzinreceptor (AT₁-R) közvetíti. Az AT₁-R számos jelátviteli utat képes aktiválni, a hagyományos, G-fehérje-függő folyamatok mellett az utóbbi években egyre több G-fehérje-független útvonalat is megismertünk. Az AngII hosszú távú hatásaiban lényeges szerepet játszik a különböző MAP-kinázok, így az ERK1/2, SAPK/JNK, és p38MAPK-ok aktiválása, mind élettani, mind pedig kóros folyamatokban. Számos sejtben, pl. a patkány C9-es hepatocitákban az AngII hatására bekövetkező ERK1/2-aktiváció az epidermális növekedési faktor receptorának (EGF-R) transzaktiválásával történik. Egy újabban megismert mechanizmus szerint az ERK-aktiváció bekövetkezhet a G-fehérje-aktiválástól függetlenül is, a receptor deszenzitizációjában és internalizációjában már korábban megismert β -arresztin fehérjék által szervezett jelátviteli komplexeken keresztül. Az így létrejövő ERK-aktiváció kinetikájában és hatásaiban eltér a G-fehérjén keresztül létrejövőtől, mivel az arresztin által aktivált ERK az endocitotikus vezikulák felszínén helyezkedik el, és nem jut be a sejtmagba. Ez a jelátviteli mechanizmus jól vizsgálható az AT₁-R G-fehérjét nem aktiváló mutánsaival, például a DRY/AAY mutánssal, azonban ez a megközelítés csak olyan sejtekben alkalmazható, melyek nem expresszálnak endogén AT₁-R-t. A probléma megoldására egy farmakológiai megközelítést alkalmaztunk, ami azon alapul, hogy létrehoztunk egy olyan mutáns receptort (S109Y), ami nem köti az AT₁-R nem peptid antagonistáit, mint pl. a candesartant, de egyéb paramétereiben a lehető legközelebb áll a vad típusú receptorhoz. Ha ebbe a mutáns receptorba bevisszük a DRY/AAY mutációt, majd expresszáljuk a vizsgálandó sejtben, akkor az endogén receptorok jelátvitelét candesartannal gátolva már csak az általunk létrehozott receptort vizsgálhatjuk. Ezzel a módszerrel kimutattuk, hogy az S109Y-DRY/AAY mutáns AT₁-R C9 sejtekben képes a β -arresztin2-öt lokalizálni, valamint G-fehérjétől független módon aktiválni az ERK1/2 MAP-kinázt.

A munkát támogatta: ETT 036/2003 és OTKA T046445.

A HUMÁN DENDRITIKUS SEJTEKEN KIFEJEZŐDŐ VANILLOID RECEPTOR-1 (TRPV1) IMMUNOLÓGIAI SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA

Tóth I. Balázs¹, Szöllösi Attila¹, Tornai Tamás¹, Benkő Szilvia², Bíró Tamás¹

Debreceni Egyetem, OEC, ¹Élettani és ²Immunológiai Intézet

Napjainkban egyre több vizsgálat mutatta ki a vanilloid receptor-1 (TRPV1) előfordulását és funkcionális szerepét non-neurális sejteken is. Habár régóta ismertek a receptor agonista kapszaicin esetleges immunmoduláns hatására utaló tények, a TRPV1 immunológiai szerepe jórészt ismeretlen. Állatkísérletes modellek felvetik a kapszaicin esetleges antinflammatorikus hatását, de az immunrendszer hivatásos antigénprezentáló sejtfeleségén, a dendritikus sejteken betöltött szerepéről meglehetősen ellentmondásos adatokkal bírunk.

Laboratóriumunk korábbi munkásságának köszönhetően ismert a receptor expressziója humán epidermális dendritikus sejteken, a Langerhans sejteken, de ezidáig humán modellekben semmilyen funkcionális adattal nem rendelkezünk a receptor szerepéről. Kísérleteink céljából a TRPV1 humán dendritikus sejtek folyamataiban betöltött szabályzó szerepének tisztázását tűztük ki.

Vizsgálatainkat perifériás vérből izolált humán monocitákból proinflammatorikus citokinek segítségével differenciáltatott dendritikus sejteken végeztük. Elsők közt mutattuk ki a TRPV1 expresszióját Q-PCR segítségével humán monocitákon és a belőlük differenciáltatott dendritikus sejteken. Kimutattuk emellett, hogy a TRPV1 expressziója fokozódásik a sejtek differenciálódása során. Megállapítottuk emellett, hogy a TRPV1 aktivációja nemcsak hogy nem indukálja a dendritikus irányú differenciálódást, de hatékonyan gátolja a citokinek indukálta differenciálódást is. Ez mind a differenciálódási markerek szintjén (DC-SIGN expresszió), mind funkcionálisan (fagocitotikus aktivitás csökkenése) kimutatható volt. Adataink szerint a TRPV1 aktiváció elsősorban a differenciálódás korai szakaszában fejti ki hatását. A már kialakult dendritikus sejtek érése és aktivációja újabb proinflammatorikus „citokin-koktél” segítségével indukálható, amit a kapszaicin részlegesen gátolni képes, nagy valószínűséggel TRPV1 specifikus úton. Emellett úgy tűnik szelektíven csökkenti bizonyos dendritikus sejt aktivátorok hatását (IFN γ és LPS), miközben másokét nem befolyásolja (TNF α).

Eredményeink újabb bizonyítékot szolgáltatnak a TRPV1-en ható szerek potenciális anti-inflammatorikus hatásainak mechanizmusáról.

ÍZ-ÉRZÉKENY NEURONOK A LIMBIKUS ELŐAGYBAN

Papp Szilárd, Lukáts Balázs, Takács Gábor, Szalay Csaba, Rábai Miklós, Inui Tadashi *, Yamamoto Takashi *, Lénárd László and Karádi Zoltán

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, és MTA Tanszéki Ideglettani Kutatócsoport, Pécs

**Osaka University, Graduate School of Human Sciences, Department of Behavioral Physiology, Osaka, Japan*

A nucleus accumbens (NAcc) és a mediodorzális prefrontalis kéreg (mdPFC) fontos szerepet játszik a táplálkozás központi idegrendszeri szabályozásában. Abból a célból, hogy az itt található idegsejtek 'endogén' és 'exogén' kémiai érzékenységet jellemezni tudjuk, extracelluláris egyséjtevékenységet vezettünk el wolframszálalás multibarrel üveg mikroelektrodával a NAcc-ben és a mdPFC-ben Wistar patkányokban 1) mikroelektroforetikus kémiai anyagbeadások (D-glukóz, DA, és DA-receptor antagonisták), valamint 2) íz-ingerlések során.

Jelen kísérleteinkben a vizsgált idegsejtek jelentős hányada (NAcc, 60%, ill. mdPFC, 40%) íz-ingerlés hatására megváltoztatta a tüzelési frekvenciáját. Ezen íz-sejtek mintegy 20%-áról bebizonyosodott, hogy az előagyi glukóz-monitorozó (GM) sejthálózat részét képezik, mivel a mikroelektroforetikus közvetlen környezetükbe juttatott glukóz hatására aktivitásuk megváltozott. A NAcc-ben az összes GM neuron 80%-áról, míg a mdPFC-ben körülbelül az 1/3-áról derült ki, hogy íz-ingerek befolyásolják működésüket. Általánosságban elmondható, hogy a NAcc és a mdPFC íz-sejtjeinek a kellemes és kellemetlen ízekre mutatott válaszkészsége nem különbözött egymástól. Ugyanakkor az íz-érzékeny GM neuronokra főként az averzív reakciókat kiváltó kellemetlen ízek voltak hatással. Ezekben a struktúrákban a DA minden második íz-sejt működését megváltoztatta, ugyanakkor a GM neuronok több, mint 3/4-ének tüzelési frekvenciája módosult a katekolamin hatására. A mikroelektroforetikus adott DA-receptor antagonisták az esetek többségében sikeresen felfüggesztették az íz-válaszkészséget.

Jelen adataink – összevetve korábbi eredményeinkkel – rámutatnak arra, hogy mind endogén, mind exogén kémiai ingerek konvergálnak a limbikus előagy neuronjain. A NAcc és a mdPFC GM idegsejtjei - ezen komplex kemoszenzoros információk integrálásával - fontos szerepet játszanak a táplálkozás szabályozásában.

Támogatás: OTKA (T042721), MTA

A NEUROMEDIN U MAGATARTÁSI HATÁSA PATKÁNYBAN

Adamik Ágnes és Telegdy Gyula

SZTE ÁOK Kórélettani Intézet, MTA Neurohumorális Kut. Csoport, Szeged

A neuromedin U (NMU) a „neuromedin„peptidcsalád tagja, amelyet eredetileg sertés gerincvelőből izoláltak. Patkányban két változata ismert, a NMU-23 és NMU-8, amelyek hasonló biológiai aktivitással rendelkeznek. A neuromedinU-nak a kötőhelyekhez való affinitása alapján két típusú receptorát különítették el. A NMU-R1 típus főleg a periférián található, elsősorban a gasztrointestinális traktusban, míg a NMU-R2 túlnyomórészt a központi idegrendszerben fordul elő (hypothalamus, hippocampus, gerincvelő). Europeptid élettani hatásáról ma már sokrétű információ áll rendelkezésünkre. Mostanában vált nyilvánvalóvá, hogy szerepe van a fájdalom közvetítésében, a rákban és hatással bír az immunrendszer működésére is. Szabályozza a gasztrointesztinális és genito-urinális traktusban levő simaizomsejtek összehúzóását. Kontrollálja a véráramlást és a vérnyomást. Csökkenti a táplálékfelvételt, a testsúlyt, növeli a testhőmérsékletet, a lokomotoros aktivitást, fokozza a hőleadást. Szerepe van a stresszválaszok létrejöttében is. Az NMU egy olyan endogén anorexiás peptid, amely az agyban a katabolitikus folyamatok jelmolekulájaként tekinthető.

Mivel a neuromedin U jelen van számos olyan idegi struktúrában, amely a magatartásért felelős, kíváncsiak voltunk, hogy milyen hatása van a memóriára. Jelen tanulmányban az intracerebroventricularisan (i.c.v.) bejuttatott NMU-t a passzív elhárításban teszteltük, valamint vizsgáltuk a motoros aktivitásra kifejtett hatását. A neuromedin U hatás mediálásában szerepet játszó transzmitterek feltárására különböző receptor blokkolókkal (haloperidol, atropin) előkezeltük a patkányokat. A peptid i.c.v. injektlása előtt 30 perccel intraperitoneálisan (i.p.) olyan dózisban, amelyek önmagukban nem befolyásolták az állatok magatartását.

A neuromedin U 1 µg-os dózisa a laterális agykamrába injektlálva 24 órával a beadást követően amnéziás hatást váltott ki a kontrollhoz képest, amely haloperidol és atropin előkezeléssel kivédhető volt. Az explorációs magatartásban nem történt jelentős változás a peptiddel való kezelés hatására.

A kapott eredmények alapján úgy tűnik, hogy a neuromedin U amnéziát okoz a passzív elhárítási tesztben. Ezen hatás organizációjában dopamin 2 és muscarin cholinergiás receptorok vehetnek részt. Az amnéziás hatás nincs összefüggésben az állat open field tesztben vizsgált aktivitásával.

3-NITROPROPIONSÁV AKUT ÉS SZUBAKUT ADAGOLÁSA ÁLTAL KIVÁLTOTT MAGATARTÁSTOXIKOLÓGIAI VÁLTOZÁSOK VIZSGÁLATA PATKÁNYBAN

Lukács Anita, Szabó Andrea, Vezér Tünde,
Nagymajtényi László

SZTE ÁOK Népegészségtani Intézet, Szeged

A mitokondriális elektrontranszport-blokkoló 3-nitropropionsav (3-NP) a központi idegrendszer károsodását hozza létre. A striatum érintettsége miatt emberben és kísérleti állatokban egyaránt a Huntington-kórhoz hasonló, krónikus, degeneratív idegrendszeri elváltozások jönnek létre. Patkányokban a 3-NP aktiválja a striatális dopaminerg rendszert, ami jellegzetes magatartásbeli változásokat eredményez.

Az akut kísérletben 150-160 grammos hím Wistar patkányok (n=10/csoport, összesen 30 állat) intraperitoneálisan, egyszeri adagban kaptak 10 ill. 20 mg/ttkg 3-NP-t. A szubkrónikus kísérletben ugyanilyen tömegű patkányok az anyag azonos dózisait kapták i.p., kétnaponta, azonos időpontokban, összesen 6 alkalommal. A kontroll állatokat fiziológias sóoldattal kezeltük mindkét kísérletben. A szubkrónikus kezelés során naponta regisztráltuk a patkányok testtömegét. A kezeléseket megelőző héten, az akut kezelések után 30 perccel, valamint a hatodik injekciót követő héten, magatartás-toxikológiai (open field, rota-rod, acoustic startle response) vizsgálatok történtek.

A 3-NP beadása az állatok szignifikáns hipoaktivitását okozta. Az acoustic startle response során a zaj-pozitív válaszok számában nem volt szignifikáns eltérés a kezelt és a kontroll állatok között. A rota-rod teljesítményeket a kezelés negatívan befolyásolta.

Eredményeink alapján a magatartás-toxikológiai módszerek alkalmasnak tűnnek a központi idegrendszer 3-NP okozta neurotoxikus károsodásának monitorozására. Ennek jelentősége lehet az emberi központi idegrendszeri megbetegedések állati modelljeinek tökéletesítésében, és a terápiás lehetőségek fejlesztésében.

STREPTOZOTOCIN HATÁSÁRA BEKÖVETKEZŐ ÍZ-PERCEPCIÓS VÁLTOZÁSOK PATKÁNY NUCLEUS ACCUMBENS-BEN

Takács Gábor, Papp Szilárd, Szalay Csaba, Rábai Miklós, Inui Tadashi*, Yamamoto Takashi*, Lénárd László, Karádi Zoltán

*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, és
MTA Tanszéki Idegéletani Kutatócsoport, Pécs*

**Osaka University, Graduate School of Human Sciences, Department of
Behavioral Physiology, Osaka, Japan*

A nucleus accumbens (NAcc) a limbikus előagy részeként jelentős szerepet játszik a táplálkozás és anyagcsere központi szabályozásában. E fenti regulációs mechanizmusokban különösen fontosnak tűnnek az itt található glukóz-monitorozó (GM) idegsejtek, melyek működési sajátosságait, a többi között íz-percepciós szerepét illetően jelenlegi ismereteink még igen hiányosak.

A streptozotocin (STZ) ismert hatása, hogy specifikusan elpusztítja a hasnyálmirigy Langerhans-szigeteiben lévő inzulin-termelő β -sejteket, valamint a limbikus előagy GM idegsejtjeit. Jelen kísérleteinkben a NAcc-ben levő GM neuronok íz-válaszkészség kialakításában betöltött szerepének vizsgálatára STZ-t juttattunk bilaterális mikroinjekcióval felnőtt hím Wistar patkányok NAcc-ébe, és íz-reaktivitási tesztet végeztünk ezen neurotoxin mikroinjekciós, illetve álműtött kontroll (KO) állatokon.

Az agyi kezelések után durva íz-reaktivitási hiányt nem tapasztaltunk. A kísérletek eredményei ugyanakkor sajátos íz-válaszkészségbeli zavarok létrejöttére derítettek fényt. Az STZ kezelt állatok különös íz-reaktivitási mintázatokat mutattak, többnyire épp az ellenkezőjét annak, mint amit az adott íz hedonikus jellege alapján vártunk. Ezen patkányok jóval gyakrabban adtak elutasító válasz-mintázatokat a kellemes ízekre, mint KO társaik. A kellemetlen íz-ingerek ugyancsak furcsa módon szignifikánsan elfogadó, ingerstívis reakciókat váltottak ki a kezelt állatokban. A kontrollokkal kifejezett ellentétben a hedonikusan pozitív és negatív ízekre adott válasz-mintázatok erőssége nem különbözött számottevően az STZ-csoport állataiban.

Jelen eredményeink, korábbi adatainkkal összhangban, arra utalnak, hogy a NAcc-ben levő GM neuronok specifikus elpusztítása az íz-válaszkészség megváltozásához, jellegzetes zavarához vezet. Az itt lévő GM sejtek tehát, többek között, az íz-percepciós mechanizmusok befolyásolásával vesznek részt a táplálkozás központi szabályozásában.

Támogatás: OTKA (T 042721), MTA

PATKÁNY NUCLEUS COHLEARIS PROJEKCIÓS NEURONOK KONFOKÁLIS MIKROSKÓPOS VIZSGÁLATA

Pocsai Krisztina, Kőszeghy Áron, Szűcs Géza, Rusznák Zoltán

DE OEC, Élettani Intézet

A hallóideg által a nucleus cochlearisba vezetett információ a hanginger minden érzékelhető paraméterét tartalmazza, az információk feldolgozását a nucleus cochlearisban található neuronok végzik. A nucleus cochlearis morfológiailag két részre osztható: a dorsalis és ventralis területre. A ventralis magrészt tartalmazza a bushy- az octopus- és a csillag-sejteket, a piramis- és az óriássejtek pedig a dorsalis régióban helyezkednek el. Az egyes sejtféleségek jelentős különbséget mutatnak funkciójukban, membránsajátságaikban, szinaptikus kapcsolataikban, ezért nagyon fontos azok pontos morfológiai azonosítása. Munkánk során azt tanulmányoztuk, hogy az egyes sejttípusok különböző vetületei alapján azok mennyire egyértelműen azonosíthatóak.

A nucleus cochlearis projekciós neuronjait axonjaik átmetszésével és a sejtek rodaminnal történő töltésével jelöltük meg. A bushy-sejtek jelölése a corpus trapezodeum területén végzett bemetszéssel volt a leghatékonyabb. A piramis- és az óriássejtek festődését a stria acustica dorsalis, az octopus-sejtek jelölődését pedig a stria acustica media területén ejtett metszéssel végeztük el. A feltöltődött sejtek vizsgálatára konfokális mikroszkópia alkalmazásával került sor.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy az egyes sejttípusok morfológiai azonosítása nem mindig egyértelmű, különösen, ha a vizsgált sejtek függőleges vetülete nem optimális. Gyakori hiba a piramis- és óriássejtek összekeverése, de előfordulhat még a bushy- és óriássejtek, valamint a bushy- és octopus-sejtek összetévesztése is. Meglepő módon alkalmanként az octopus- és az óriássejtek is mutathatnak hasonló vetületet.

Eredményeink alapján nyilvánvaló, hogy a nucleus cochlearis neuronjainak morfológiai azonosítása nem mindig egyszerű; az egyértelmű klasszifikálás megköveteli a sejtek különböző irányból felvett vetületeinek összehasonlítását, amihez óriási segítséget jelent a konfokális mikroszkóp használata.

AZ INTEGRIN AKTIVÁCIÓ IN VIVO KONCENTRÁCIÓFÜGGŐ HATÁSA AZ NMDA ÉS AZ AMPA RECEPTOROK MŰKÖDÉSÉRE

G. Vass¹, G. Juhász¹, V. Szegedi¹, M. Zarándi,¹ Z. Bozsó¹, D. Budai²,
B. Penke¹

¹ Department of Medical Chemistry, University of Szeged, Szeged, Hungary

² Department of Biology, JGYTFK, University of Szeged, Szeged, Hungary

Az integrinek alfa és béta alegységből álló heterodimer receptorok, melyek a sejt-sejt és a sejt extracelluláris mátrix kapcsolatban játszanak szerepet. A legújabb eredmények szerint fontos szerepet játszanak a felnőtt idegrendszer plaszticitásában. Részt vesznek az LTP és az LTD kialakulásában, valamint befolyásolják a posztzinaptikus NMDA és AMPA receptorok működését in vitro kísérletekben.

Kérdésselvetés: Az integrin aktiváció befolyásolja-e az NMDA és az AMPA receptorok működését a felnőtt idegrendszerben in vivo?

Módszer: Altatott hím 300-350 g Wistar patkány koponyáját felnyitva, a hippocampusból történt extracelluláris egy-sejt elvezetés. Szénszálas multibarrel mikroelektroda segítségével, kétpercenként stimuláltuk a neuront felváltva NMDA és AMPA ejektálásával. A sejt akciós potenciáljainak frekvenciáját regisztráltuk, és peristimulus hisztogrammon tüntettük fel. Stabil kontrollszintet követően GRGDS, vagy GGGGG (5 és 50 mM) pentapeptidet ejektáltunk mikroiontoforézissel. Statisztikai elemzés Student páros t-tesztel, $P < 0.05$ értéknél készült.

Eredmények: 5 mM-os koncentrációju GRGDS peptid alkalmazását követően jelentősen megnőtt az NMDA-kiváltotta tüzelési frekvencia ($268 \pm 36\%$; $n=9$), míg az AMPA által okozott tüzelési ráta csökkent ($19 \pm 6\%$; $n=8$). Ezzel ellentétben az 50 mM-os GRGDS pentapeptid hatására mind az NMDA, mind az AMPA mediált akciós potenciál szám jelentősen megnőtt (308 ± 41 ; $n=7$ és 226 ± 59 ; $n=7$). Pentaglicint alkalmazva egyik koncentrációban sem történt jelentős változás sem az NMDA, sem az AMPA kiváltott tüzelési frekvenciában (95 ± 13 ; $n=8$, 106 ± 8 ; $n=8$ 5 mM esetén, és 106 ± 14 ; $n=8$, 95 ± 16 ; $n=8$ 50 mM esetén).

Konklúzió: Az integrin aktiváció módosította a posztzinaptikus NMDA és AMPA receptorok aktivitását in vivo felnőtt idegrendszerben. A befolyásolás mértéke függött az integrin aktiváció mértékétől: kis koncentrációju GRGDS ligand az LTD, míg nagy koncentrációju az LTP irányába billentette el a serkentő ionotróp receptorok aktivitását. A szinaptikus plaszticitás kialakításában így az integrin koncentrációfüggő aktivációja fontos szerepet játszhat.

INDOMETHACIN ÉS SZELEKTÍV COX-1 INHIBÍTOR KEZELÉS HATÁSA AZ NTG INDUKÁLT nNOS EXPRESSZIÓRA A PATKÁNY CAUDALIS TRIGEMINALIS MAGJÁBAN

Vámos Enikő¹, Varga Hedvig², Plangár Imola¹, Párdutz Árpád¹, Tajti János^{1,2}, Bari Ferenc³, Vécsei László^{1,2}

¹SZTE-ÁOK Neurológiai Klinika, Szeged; ²MTA-SZTE Neurológiai Kutatócsoport, Szeged; ³SZTE-ÁOK Élettani Intézet, Szeged

A migrén az egyik leggyakoribb neurológiai betegség, melynek pontos pathomechanizmusa a mai napig nem ismert. A betegség egyik humán modellje a nitrogén-oxid (NO) donor nitroglicerinnel (NTG) szisztémás adása, amely több órás latenciával aura nélküli rohamot provokálhat a migréneseknél, mely jelenség hiányzik az egészséges egyéneknél. Az NTG kiváltotta roham mechanizmusa pontosan nem ismert, de itt is feltételezhető a trigeminovascularis rendszer szerepe. Patkányokban négy órával az NTG adását követően jelentősen megnövekszik a neuronális nitrogén-oxid szintáz (nNOS) immunreaktív (IR) neuronok száma a caudalis trigeminalis magban (TNC), amely szintén a trigeminalis rendszer aktivációjára utal.

Több - a migrénben is használt - fájdalomcsillapító hatása a ciklooxygenáz (COX) enzim gátlásán alapul, mely hatás nagy valószínűséggel a NTG által indukált trigeminális aktivációt is befolyásolja. Kísérleteink célja az volt, hogy megnézzük, ezen vegyületek képesek-e modulálni az NTG indukált nNOS expressziót a fenti kísérleti modellben.

Az első (kontroll) csoportban az állatok nem kaptak előkezelést. A második csoportban nem-szelektív COX gátló indomethacin (5mg/kg, 1mg/kg, 0,5mg/kg), a harmadik csoportban szelektív COX-1 inhibitor SC560 (10mg/kg, 5mg/kg, 1mg/kg) előkezelés történt. Harminc perccel később az állatok fele NTG injekciót (10mg/kg), a másik fele placebót kapott. Négy órával ezután a felső nyaki gerincvelőt eltávolítottuk és immunhisztokémiai módszerrel nNOS festést végeztünk.

Adataink arra utalnak, hogy a nem-szelektív COX inhibitor indomethacin dózisfüggő módon képes kivédeni az NTG indukált nNOS-IR sejtszám növekedést a TNC felszínes rétegeiben, míg a szelektív COX-1 gátló SC560 nem tudott ilyen hatást kifejteni.

Eredményeink alapján a COX rendszer, ezen belül a COX-2 szerepet játszhat a NO indukált nNOS expresszióban, ami közelebb vihet minket az NTG indukált migrén megértéséhez.

ÉHEZÉS ÉS ÚJRATÁPLÁLÁS ALATT MEGFIGYELHETŐ NORMO-TERMIÁS PERIÓDUSOK KIALAKULÁSÁNAK MECHANIZMUSA EGÉRBEN – BIOTELEMETRIÁS VIZSGÁLATOK

^{1,2}**Szelényi Zoltán**, ²Kanizsai Péter, ²Garami András

¹Alkalmazott Élettudományi Intézet, ETK, ²Kórélettani és Gerontológiai Intézet, ÁOK, PTE, Pécs

Korábbi kísérleteinkben kimutattuk, hogy egér teljes éhezés alatt megtartja éjszakai normothermiáját, de nappal progresszív hypothermia jön létre. Jelen vizsgálatainkban a éhezés alatti éjszakai normothermia megőrzésének és a nappali hypothermia újratáplálási utáni kialakulásának mechanizmusát kívántuk vizsgálni.

Biotelemetria (MINIMITTER) segítségével követtük szabadon mozgó C57BL/6 egerek maghőmérsékletét és mozgási aktivitását szabad táplálék-felvétel és 2-3 napos teljes éhezés körülményei között. Az éhezést megismételtük a hőtermelést befolyásoló ismert mediátorok/gátló szerek ALZET minipumpával történő intraperitoneális tartós infúziója alatt.

A nokturnális jellegű testhőmérsékleti és aktivitási hullámzás gyakorla-tilag párhuzamosan változott normális táplálás során. Teljes éhezés alatt a nappali csökkent aktivitással párhuzamosan progresszíve csökkent a maghő-mérséklet 28-30 °C körüli érték közelébe, éjszaka a maghőmérséklet viszont normothermiás szintre emelkedett és az aktivitás progresszíve növekedett. A nappali hypothermia alatt alkalmazott újratápláláskor 1 órán belül normothermia alakult ki, de az aktivitás alig emelkedett. A hőtermelés különböző mechanizmusait gátló szerek közül Guanethidine (szimpatikus efferens gátlás), Propranolol (a nem didergésses hőtermelés gátlása), Indomethacin (a lázreakció centrális gátlása) és Mephenesin (a didergésses hőtermelés gátlása) infúzióját alkalmaztuk. A más kísérletekben hatásos dózisokban egyik gátló szer sem befolyásolta az újratáplálási normothermia gyors kialakulását, noha ilyenkor az aktivitás növekedése továbbra is elmaradt. Az éhezéskor kialakuló éjszakai normothermiát és a fokozódó aktivitást sem befolyásolta az alkalmazott gátlók bármelyikének infúziója.

Az újratáplálási normothermia mechanizmusát tehát a jelen kísérletek eredményei nem tisztázták. Mivel a maghőmérséklet emelkedése ilyenkor igen jelentős (28-30 °C-ról 37-38 °C-ra), a mögöttes feltételezett fokozott hőtermelés is nagymértékű lehet. E hőtermelés hátterének tisztázása (egy eddig még nem vizsgált mechanizmus, vagy a vizsgált mechanizmusok egy kombinációja) közelebb vihet e kis testtömegű homeotherm species sajátos hőszabályozásának jobb megértéséhez.

PEPTIDERGIC MODULATION OF SEROTONIN EVOKED RESPONSES OF THE SALIVARY DUCT MUSCLES IN THE SNAIL, *HELIX POMATIA*.

Tibor Kiss, Zita László, Zsuzsa Nagy and Károly Elekes

*Balaton Limnological Research Institute, Hung. Acad.Sci., Tihany,
Hungary*

Modulation of a neuromuscular (NM) transmission is an effective way controlling synaptic efficacy. There are molluscan muscles, in which physiological and morphological evidences support a multiple innervations and thereby a complex regulation. The present study examined the occurrence and co-localization of a range of endogenous neuropeptides, and their capability of modulating NM transmission and muscle contraction in the salivary duct of the terrestrial snail. Immunohistochemistry (IHC) was used to analyze the localization of neuropeptides and 5-HT and physiological techniques were applied to study the responses of the SD musculature (SDM). Measurements were made on contractions elicited by exogenously applied 5-HT and on neurally evoked contractions. IHC studies revealed the co-localization of 5-HT with the different neuropeptides in varicose fibers innervating the muscle fibers. 5-HT had two types of effects on the SDM: binding to the different 5HT receptor subtypes it elicited either contraction or relaxation. Pretreatment of the SDM preparations with neuropeptides differentially changed muscle responses to 5-HT or to electrically evoked responses. Our results indicate that peptidergic modulation of transmission processes at neuromuscular contacts seems to exist physiologically in gastropods.

Supported by OTKA grants No. 43216 (T.K.) and No. 49090 to (K. E.)

CONNECTION SPECIFIC OUTPUT OF NEUROGLIAFORM CELLS IN THE CEREBRAL CORTEX

Szabolcs Oláh, János Szabadics, Anna Simon, Gábor Molnár,
Csaba NF. Varga, Gábor Tamás

*Department of Comparative Physiology, University of Szeged
e-mail: szolah@bio.u-szeged.hu*

Neurogliaform cells have a thus far unique position among cortical interneurons because they can elicit combined GABA_A and GABA_B receptor-mediated inhibition on pyramidal cells. Moreover, they establish electrical synapses with each other and with other interneuron types, thus neurogliaform cells link multiple networks formed by gap junctions restricted to a particular class of interneuron.

We measured the postsynaptic effect of neurogliaform cells on various types of interneuron applying simultaneous whole-cell recordings in layers I-IV of rat somatosensory cortex *in vitro*. Apart from the GABA_A receptor mediated component in postsynaptic responses, single action potentials in neurogliaform cells elicited GABA_B receptor mediated responses in neurogliaform, Martinotti, regular spiking and fast spiking interneurons. The ratio of the GABA_A and GABA_B component in the responses showed connection specific variations with a pronounced GABA_B component in neurogliaform to neurogliaform, Martinotti and regular spiking cell connections and the relatively minor GABA_B component in neurogliaform to fast spiking cell connections. We could not detect GABA_B receptor recruitment from neurogliaform cells to irregular spiking cell pairs.

In conclusion, neurogliaform cells establish GABAergic synapses on several cortical interneuron types with a connection specific involvement of GABA_B receptors.

SINGLE SPIKE TRIGGERED EVENT SEQUENCES IN NETWORKS OF THE HUMAN CEREBRAL CORTEX IN VITRO

Gábor Molnár*, János Szabadics*, Szabolcs Oláh*, Gergely Komlósi*, Pál Barzó†, Gábor Tamás*

*Department of Comparative Physiology, † Department of Neurosurgery, University of Szeged

The performance of the human cerebral cortex is unparalleled by the nervous system of other species and this is presumably supported by refined, but largely unknown features of the human microcircuit. We performed simultaneous whole cell patch clamp recordings from up to four neurons in acute slices derived from association cortices. Our recordings showed that single action potentials in identified human pyramidal cells could trigger reliable and stereotyped series of multiple postsynaptic potentials in simultaneously recorded target cells. Moreover, such series of postsynaptic potentials were composed of both excitatory and inhibitory responses. The latency of identified postsynaptic potentials showed a range of 3 to 30 ms. The timing of the onset was correlated with the standard deviation of the latency, but the probability of transmission was not correlated with latency parameters. In conclusion, groups of human neurons are functionally coupled by spike-to-spike transmission suggesting that feed-forward connections are exceptionally powerful and abundant in the human neocortex.

This work was supported by the Wellcome Trust, National Institutes of Health Grant NS35915, Howard Hughes Medical Institute, Nemzeti Kutatási és Technológiai Hivatal (RET008/2004), Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok (T049535) and Boehringer Ingelheim Fonds.

EGY ÚJ FEJLESZTÉSŰ MUNC-13-1 SPECIFIKUS MONOKLONÁLIS ANTITEST ALKALMAZÁSÁVAL KAPOTT EREDMÉNYEINK NEURONÁLIS ÉS NEM- NEURONÁLIS SZÖVETEK BEN

Pap Pál, Nagy Dénes, Rusznák Zoltán, Szűcs Géza
DE OEC, Élettani Intézet

A Munc fehérjék az elsőként a *C. elegans*-ban megtalált, ún. „uncoordinated” fehérjecsalád emlősökben előforduló megfelelői. A Munc13-1 fehérjét kimutatták a preszinaptikus végződés aktív zónájában, továbbá bebizonyosodott, hogy a fehérje fontos szerepet játszik a neurotranszmittereket tartalmazó vesikulumok fúziódependenssé való érésében. Mindezek mellett kevés információ áll rendelkezésünkre a fehérje központi idegrendszerben tapasztalható lokalizációjára vonatkozólag.

A jelen kísérletsorozatban egy, a kollaborációs partnerünk által újonnan kifejlesztett, monoklonális Munc13-1 antitest használhatóságának vizsgálatát végeztük el, humán és patkány agyból származó szöveti metszeteken, immunhisztokémiai módszerekkel; továbbá értékes információkat nyertünk a fehérje megoszlásával kapcsolatosan. A kísérletek során kidolgoztuk az antitesttel végzett immunhisztokémiai reakciók optimális reakciókörülményeit, nagy hangsúlyt fektetve a formalinban fixált preparátumok esetében alkalmazandó antigénfeltárási technika megtalálására.

Kimutattuk, hogy az antitest jól alkalmazható mind a humán, mind a patkány agyból származó szöveti mintákon, bár formalinban fixált metszetek esetén nélkülözhetetlen, egy hatékony antigénfeltárási technika alkalmazása. Kettős immunjelölések és konfokális mikroszkópia alkalmazásával bebizonyítottuk, hogy a Munc13-1 fehérje jelen van a humán agy GABA-erg preszinaptikus végződéseiben, de kimutatható volt a nem GABA-erg boutonokban is. Részleges kolokalizációt figyelhettünk meg a gliaspecifikus GFAP és a Munc13-1 fehérjék között, ami a preszinaptikus végzések és az astrocyták nyúlványai közötti szoros kapcsolatot és az antitest specificitását erősíti meg. A Munc13-1 ugyancsak jelen volt a patkány nucleus cochlearis ventralisában lévő óriásszinapszisok preszinaptikus terminálisában, valamint a mag dorsalis részében. Érdekes megfigyelésként szolgált, hogy erőteljes Munc13-1 immunpozitivitást tapasztaltunk az emlőszövet ductalis epitheliumában is. Bár nem teljesen zárható ki egy esetleges keresztreakció megléte, a meglepő eredmény azt is jelentheti, hogy a fehérjének az eddig leírt szinaptikus transzmisszióban betöltött funkciója mellett, egyéb szekretoros folyamatokban is szerepe lehet.

CIRKADIÁN HŐMÉRSÉKLETI RITMUS VISSZATÉRÉSE ORTOPÉDIAI NAGYMŰTÉTEN ÁTESETT BETEGEKNÉL.

Kanizsai Péter¹, Jónás Attila¹, Juhász Vera², Szelényi Zoltán^{1,3}

¹PTE, ÁOK, Kóréletani és Gerontológiai Intézet, ²Aneszteziológiai és Intenzív Therápiás Intézet, ³PTE ETK, Alkalmazott Élettudományi Intézet, Pécs

Mint azt már állatkísérleteinkben is igazoltuk¹ jelentősebb stresszhatásokra, mint amilyen a sebészi beavatkozás is, a maghőmérséklet cirkadián ritmicitása időlegesen megszűnik. Jelen vizsgálatunkban a cirkadián hőmérsékleti ritmus visszatértét kísértük figyelemmel, öt posztoperatív napon át.

Csípőprotézisre váró betegen (n=17) végeztünk egy prospektív, randomizált vizsgálatot. A homogén betegcsoport kialakítás céljából csak ASA I-II csoportba tartozó betegek bevétele, azonos aneszteziológiai technika alkalmazása, valamint uniformizált posztoperatív fájdalomcsillapítás volt a cél. A betegek hőmérsékletét dobhártya hőmérővel mértük a preoperatív szakban 2 alkalommal, a műtétek alatt, valamint 5 posztoperatív napon át napi 4 alkalommal (06:00, 12:00, 18:00 és 22:00 órákor). A preoperatív értékekhez képest a maghőmérséklet szignifikáns csökkenését regisztráltuk a műtétek végén, standard hőkonzerváló technikák ellenére. A posztoperatív időszak kezdetén egy rövid idejű hyperthermiát észleltünk, melyet a műtéttel járó szövetsérülésnek, valamint az azzal járó szisztémás gyulladásnak tulajdonítottunk. A cirkadián ritmus a posztoperatív 3. napon tért vissza és a normálhoz hasonló mintázatot mutatott.

Kísérleteinkben a hőmérséklet szabályozásának változásait figyeltük, mely hatással lehet más élettani és farmakológiai funkciókra. A jelenség hátterének vizsgálatát állatkísérleteinkben folytatjuk.

1. Kanizsai P, Garami A, Hummel Z, Szelényi Z: Changes in daily rhythms under different stress situations (fasting, anaesthesia, laparotomy). Acta Physiol Hung, 92:267-268, 2005

CAPSAICIN GÁTLÁSA AZ ENDOMORFIN-1 KÖTÉSÉRE PATKÁNY AGYI MEMBRÁN PREPARÁTUMBAN ÉS KLÓNOZOTT MU-OPIÁT RECEPTOROKAT EXPRESSZÁLÓ CHO- SEJTEKBEN

Wollemann Mária és Benyhe Sándor

MTA Szegedi Biológiai Központ Biokémiai Intézet, Szeged

A MÉT 2005. évi konferenciáján beszámoltunk arról, hogy a capsaicin gátolta a radiojelzett nociceptin és dinorfin-1-17 kötését a nociceptin- ill. a kappa-opiát receptorhoz patkány agyi membrán preparátumokban. A capsaicin gátlást a [35S]GTP γ S kötés stimulálási kísérletben is kimutattuk. Mivel a [3H]naloxon receptor kötési tesztben a capsaicin gátló hatását nem észleltük, úgy gondoltuk, hogy a gátlást nem a mü-opiát receptorok közvetítik.

Jelen munkánkban a capsaicin hatását mü-opiát receptor szelektív agonista radioligandok jelenlétében vizsgáltuk. Az alkalmazott ligandok közül (morfin, DAMGO, endomorfín-1 és endomorfín-2) csak az endomorfín-1 kötést gátolta a capsaicin 10⁻⁵-10⁻⁷ M koncentráció között heterolog kompetíciós kísérletekben. A receptor kötési tesztekben a gátló hatás főleg affinitás csökkentésben nyilvánult meg, míg a G-fehérje aktiválás során az Emax értékek csökkenését tapasztaltuk.

A CHO (kínai hörcsög ovarium) sejtekben expresszált mü opiát receptorokon nem észleltünk endomorfín-1 kötés gátlást capsaicinnel. Mivel ezekben a sejtekben endogén vanilloid receptorok nincsenek, feltehető, hogy a capsaicin gátláshoz e receptor jelenléte szükséges. Ebből arra következtetünk, hogy a capsaicin nem közvetlenül gátolja a mü-opiát receptorokat, vagy a gátlás az endomorfín nem-opiát kötőhelyein közvetítődik (Wollemann and Benyhe 2004).

Támogató: RET-DNT2004 grant.

ACONITUM-ALKALOIDOK IN VIVO ELEKTROFIZIOLÓGIAI HATÁSAI EMLŐS AGYBAN

K Szabadfi¹, **T Atlasz¹**, D Csupor², Zs Kőszegi¹, P Kovács¹,
N Babai¹, J Hohmann², I Hernádi¹

¹Pécsi Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Kísérletes Állattani és
Neurobiológiai Tanszék, 7624 Pécs, Ifjúság u. 6., és

²Szegedi Tudományegyetem, Farmakognózi Intézet, 6720 Szeged,
Eötvös u.6.

A Ranunculaceae családba tartozó Aconitum nemzetség számos fajának diterpén alkaloidjait alkalmazzák a tradicionális ázsiai gyógyászatban, elsősorban fájdalomcsillapítóként, illetve reumatológiai és neurológiai megbetegedések esetén.

Jelen vizsgálataink között szerepelt, hogy (i) a magyar flóra fajaiból potenciálisan bioaktív Aconitum alkaloidokat izoláljunk, illetve (ii) vizsgáljuk a kinyert alkaloidok neurofiziológiai hatásait in vivo elektrofiziológiai módszerekkel emlős agyban. Az *A. vulparia*, *A. antora* és az *A. toxicum* fajokból nyolc alkaloidot izoláltunk pH-grádiens extrakcióval és összetett kromatográfiás tisztítással - beleértve a VLC, CPC és TLC módszereket. A neuronok spontán extracelluláris sejtaktivitásához és az alkaloidok agyba juttatása céljából, a mikoriontoforetikus anyagbeadásokhoz sokcsatornás mikroelektródokat használtunk.

Az extracelluláris egysejttevékenység regisztrálása során 65 sejtet vizsgáltunk. A kísérletek során 223 anyagbeadás történt a hippocampus (HIP) és a thalamus (TH) különböző területein.

Az *in vivo* extracelluláris sejtvezetések során a nyolc vizsgált alkaloid közül három bizonyult neuroaktív hatásúnak, hatékonyan befolyásolva az idegsejtek spontán tüzelési mintázatát. A vizsgált neuronokban a delkozin (DEL) és a neolin (NEO) csökkentette (34% és 50%), míg a szeptentriodin (SZEP) növelte (74%) a spontán sejtaktivitást. Kísérleteink azt mutatják, hogy a hippocampális neuronok, a thalamikus sejtekhez képest, érzékenyebben reagáltak mind a SZEP (serkentés, HIP: 100%; TH: 53%) mind a NEO (gátlás, HIP: 90%; TH: 17%) kezelésekre.

Előzetes vizsgálataink eredményei azt mutatják, hogy a limbikus agykéreg neuronjain az Aconitum-alkaloidok nagy hatékonyságúak *in vivo* környezetben, valamint, hogy a diterpének kémiai szerkezete meghatározza az alkaloidok hatásmechanizmusát. A szerkezeti különbségekből adódó változatosságok alapján az Aconitum-diterpén-alkaloidok a gyógyszerfejlesztés ígéretes célpontjainak és eszközeinek tekinthetők.

AZ AMYGDALA SZEREPE A JÖVŐBELI JUTALOM ÉRTÉKELÉSÉBEN ÉS A DÖNTÉSHOZATALI FOLYAMATOKBAN RHESUS MAJOMBAN

Hernádi I^{1,2}, K.I. Tsutsui², and W. Schultz²

Pécsi Tudományegyetem, Kísérlet. Állattani és Neurobiológiai Tanszék,
7624 Pécs, és ²Department of Anatomy, University of Cambridge,
Downing Street, Cambridge, CB2 3DY, UK.

Az élőlények célja az elérhető jutalom időbeli optimalizálása. A környezeti ingerekre adott válaszok nem minden esetben járnak közvetlen jutalmazással. Az emlősök képesek késleltetett válaszok megtanulására egy jövőbeli, potenciálisan nagyobb jutalom elérése érdekében.

A fenti magatartás laboratóriumi körülmények között való vizsgálatára két rhesus majmot kondicionáltunk egy szabad-választásos, vizuális, okulomotoros feladatsor végrehajtására folyadék jutalomért. Két vizuális inger (cue) közül kellett választani az egyes próbák során, és az állatoknak dönteniük kellett, hogy a már elérhető jutalmat beváltsák ("elköl" cue), vagy még több jutalmat gyűjtsenek ("félretesz" cue), amit majd a jövőben kaphatnak meg. A jutalom aktuális mennyiségét egy függvény alapján határoztuk meg: a be nem váltott jutalom (alaptőke) értékét minden választás után meghatározott mértékben, exponenciálisan emeltük. Magatartási eredményeink azt mutatták, hogy nagyobb "kamat" esetén az állatok többször választották a "félretesz" lehetőséget, így növelve a gyűjtés során megszerezhető végső jutalom mennyiségét. A feladatvégzés alatt extracelluláris egysejttevékenységet vezettünk el az amygdala területéről. A feladatban aktív 272 neuron válasz-mintázatát dolgoztuk fel. 121 (44%) neuron aktivitása az elsődleges megerősítő (folyadék) megjelenéséhez volt köthető. 53 neuron (19%) differenciálisan válaszolt a próbák kezdeti szakaszában, a pre-stimulus periódusban, előrejelezve az állat későbbi döntését. Emellett, 37 neuron (14%) csökkenő, míg 58 neuron (21%) növekvő aktivitást mutatott a konszekutív gyűjtési választások során, reflektálva a már meglévő, de még be nem váltott jutalom mennyiségére és a jutalomtól való időbeli távolságra. A vizsgált idegsejtek 32%-ának aktivitása a szabad döntési helyzetekkel korrelált az imperatív (kontroll) próbákkal szemben.

Jelen eredményeink azt mutatják, hogy a főemlős amygdala elsődleges szerepet kap a jutalommal asszociált döntéshozatali folyamatokban, feltehetően a jövőbeli jutalom várható értékének kódolásán keresztül.

OXÁLECETSAV HATÁSA A SZOMATOSZENZOROS ÉS MOZGATÓ KÉRGI KIVÁLTOTT VÁLASZOKRA

Nagy D., Lür Gy., Marosi M., V.I. Teichberg*, Toldi J.

*Szegedi Tudományegyetem, Összehasonlító Élettani Tanszék, Szeged*The Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel*

Agyi traumák, ischemiás, hipoxiás agyi károsodások alkalmával nagy mennyiségű glutamát (Glu) szabadul fel. Mindez a serkentő aminosav-receptorokon keresztül megvalósuló túlzott neuronális aktivitás-fokozódáshoz, megnövekedett intracelluláris Ca^{2+} -koncentrációhoz vezethet, ami apoptotikus, nekrotikus folyamatokat elindítva, további kiterjedt másodlagos neuronpusztulást indukál. A neuroprotekciónak egyik ígéretes iránya lehet a fent vázolt folyamatok fékezése.

A glutamát-receptorok tranziens blokkolása mellett az utóbbi időben felvetődött, hogy hatékony neuroprotektív beavatkozás lehetne az interstitialis tér Glu tartalmának csökkentése is, felhasználva a Glu transzportereket. A legutóbbi időben megjelent ilyen jellegű vizsgálatok azt mutatták, hogy ha intravénásan (i.v.) piruvátot és/vagy oxálecetsavat adunk, mint a glutamát-piruvát transzamináz (GPT) és a glutamát-oxalacetát transzamináz (GOT) co-substrátját, ekkor ez -csökkentve a vér Glu szintjét, elősegíti az agy→vér irányú Glu effluxot.

Ezen kísérleteink első lépéseként megvizsgáltuk, hogy magának az i.v. adott oxálecetsavnak van-e, és ha igen, akkor milyen a hatása a kiváltott kérgi aktivitásra. Konvencionális elektrofiziológiai elvezetések során, a kontroll válaszok felvételét követően, oxálecetsavat (1,5 ml 1M) adtunk wistar patkányok (250-300 g) farokvénájába, és követtük a perifériás ingerlésével kiváltott, a szomatoszenzoros és a mozgató kéregről elvezetett válaszokat. Az oxálecetsav beadását követően, időnként előforduló enyhe amplitúdócsökkenés után, minden esetben a válaszok erőteljes facilitációja (1,5-2 x amplitúdónövekedés) volt megfigyelhető. A páros ingerlési paradigma alkalmazása azt mutatta, hogy ez az amplitúdónövekedés nem tulajdonítható a GABA_A receptor aktivitás csökkenésének (diszinhibíciónak), sokkal inkább egy átmeneti, (rebound) hatásként megjelenő, erőteljes Glu felszabadulás fokozódása áll a megfigyelt eredmények hátterében.

Megfigyeléseink összhangban vannak az ilyen jellegű biokémiai mérések eredményeivel (*J. Neurochem.*, (2003) 87:119-26.).

Témátámogatás: OTKA T046687, RET-08/04.

KÜLÖNBÖZŐ GÖRCSKELTŐK ÁLTAL INDUKÁLT EPILEPTIKUS AKTIVITÁS ELEMZÉSE TÚLÉLŐ AGYSZELETEKBEN

¹Világi I., ¹Borbély S., ²Somogyvári Z., ³Halasy K.

¹ELTE, Élettani és Neurobiológiai Tsz., ²MTA, KFKI, Biofizikai Osztály, ³SZIE, ÁOK, Anatómia Tsz.

Felnőtt patkányok szomatoszenzoros kérgi területéről származó izolált, túlélő agyszeletekben elemeztük különböző görcskeltők (4-AP BIC, Mg^{2+} -mentes oldat) hatására kialakuló spontán elektromos görcsaktivitás mintázatát és farmakológiai érzékenységét. Vizsgálataink egy részében hagyományos üveg mikroelektrodás detektálást alkalmaztunk. Párhuzamosan c-fos géntermék immuncitokémiai kimutatásával meghatároztuk a legerősebben aktivált neuronok rétegenkénti elhelyezkedését. 16 csatornás, fémelektrodos elvezetést alkalmazva, current source density (CSD) analízis segítségével elemeztük az eltérő indukciós feltételek mellett kialakuló görcskisülések megjelenését a különböző agykérgi rétegekben. Optikai regisztrálással szintén meghatároztuk a görcsindukció helyét, az aktivitás mintázatát és terjedését. Megállapítottuk, hogy a különböző görcskeltőkben kialakuló spontán epileptiform aktivitás mintázta eltérő, különbség mutatkozik a keletkezés helyében a kisülések frekvenciájában, időtartamában. AMPA antagonisták iránt a BIC-ban, NMDA antagonisták iránt a Mg^{2+} -mentes oldatban kialakult aktivitás a legérzékenyebb. Az elektrofiziológiai és immuncitokémiai mérések alapján látható, hogy a maximális elektromos aktivitásnövekedés helye nem feltétlenül esik egybe a megnövekedett metabolikus aktivációval.

HIPPOCAMPUS ORIENS/ALVEUS INTERNEURONOK SZINAPTIKUS KAPCSOLATAINAK ÉS PRESZINAPTIKUS Ca^{2+} - CSATORNA MEGOSZLÁSÁNAK IN VITRO VIZSGÁLATA

Elfant D.¹, **Pál B.**^{1,2}, Emptage N.³, Capogna M.¹

*MRC Anatomical Neuropharmacology Unit (1), DE OEC Élettani
Intézet (2), Department of Pharmacology, Oxford University (3)*

A hippocampus stratum oriens (SO) egyes GABAerg interneuronjai a CA1 piramis-sejtek aktivitásának feedback szabályozásában játszanak szerepet, mivel a piramis-sejtek axon kollaterálisokon keresztül serkentik őket, ezek pedig a piramis-sejtek distalis dendritfáival alkotnak gátló szinapszisokat. Anatómiai tanulmányok sugallták, hogy ezeken a kapcsolatokon kívül GABAerg sejtekkel is alkotnak szinapszist, ezen interneuron-interneuron szinapszisok sajátosságai azonban nem ismertek.

Ezen szinapszisok vizsgálatához patkány hippocampusból preparált akut szeleteken és organotópiás tenyészetben végeztünk méréseket.

A stratum oriens minimális stimulációja egyedi inhibitoros posztszinaptikus áramokat (unitary inhibitory postsynaptic current, uIPSC) váltott ki a stratum radiatumban és a stratum lacunosum-moleculareban. A válaszok amplitúdója $20,3 \pm 5$ pA, a csúcs eléréséhez szükséges idő $2,1 \pm 0,3$ ms, a leszállószár időállandója $21,8 \pm 2,9$ ms, a jitter $1,1 \pm 0,3$ ms (átlag $\pm$ SEM, $n = 12$). A uIPSC-eket az N-típusú Ca^{2+} -csatornákat blokkoló conotoxin MVIIA ($1 \mu\text{M}$, $n = 5$), vagy a P/Q típusú csatornákat blokkoló agatoxin IVA (200 nM , $n = 1$), illetve az együtt alkalmazott aga- és conotoxin ($n = 5$) gátolta. Az esetek egy részében nem volt teljes a két toxin blokkoló hatása, de az R-típusú Ca^{2+} -csatornákat gátló SNX-482 hozzáadásával a posztszinaptikus IPSC-k teljesen gátlhatóknak bizonyultak ($n = 3$). Páros patch elektródával a stratum oriens és stratum radiatum, ill. stratum lacunosum-moleculare interneuronokon végzett mérések során az IPSC-k hasonló kinetikai és farmakológiai sajátosságokat mutattak ($n = 6$).

Kísérleteinkkel igazoltuk a SO és SLM interneuronok közötti szinaptikus kapcsolat meglétét és jellemzőit, amelynek jelentősége feltehetően a CA1 feedback és feed-forward gátlás interneuronokon keresztüli szabályozásában van. Kimutattuk továbbá, hogy ugyanazon szinaptikus kapcsolat esetén preszinaptikusan többféle Ca^{2+} -csatorna előfordulása és kombinációja is lehetséges.

AZ L-KINURENIN NEUROPROTEKCIÓBAN BETÖLTÖTT SZEREPE *IN VITRO* HIPPOCAMPÁLIS AGYSZELET PREPARÁTUMON

Rózsa Éva¹, Robotka Hermina^{1,2}, Sas Katalin^{1,2}, Vécsei László^{2,3},
Toldi József¹

¹SZTE TTK, Összehasonlító Élettani tanszék, Szeged

²SZTE ÁOK, Neurológiai Klinika, Szeged

³SZTE MTA, Neurológiai Kutatócsoport, Szeged

Az agyban endogén formában jelen lévő kinurénsav (KYNA) fontos szerepet játszik a központi idegrendszer fiziológias működésében. Metabolikus egyensúlyában bekövetkező zavarok megfigyelhetőek különböző neurodegeneratív megbetegedések (pl: epilepszia, Huntington-kór, Parkinson-kór, skizofrénia) esetén.

A kinurenin metabolikus útvonalon triptofánból többféle neuroaktív anyag is szintetizálódik, köztük a kinurénsav, melynek előanyaga az L-kinurenin (KYN). Az L-kinureninből egy transzamináz segítségével az NMDA-receptor antagonist kinurénsav képződik. A KYNA neuroprotektív hatással bír számos olyan kóros idegrendszeri elváltozás esetében, melynek során az NMDA-receptorok túlműködése figyelhető meg. Ilyen hiperexcitabilitás tapasztalható pl. az epilepsziás rohamok kialakulásakor, mely kísérletes körülmények között pentiléntetrazollal (PTZ) is indukálható patkányban.

Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy a KYNA prekursor L-kinurenin hippocampális agyszelet preparátumokon képes-e kivédeni a PTZ konvulzív hatását, amely a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett mezőpotenciálok nagymértékű amplitúdó növekedésében mutatkozik meg.

Eredményeink azt mutatják, hogy az agyszeletekhez a perfúziós folyadékban eljuttatott KYN *in vitro* körülmények között is képes volt átalakulni neuroprotektív kinurénsavvá, mely antikonvulzív hatása révén megóvta a hippocampális CA1-es régió sejtjeit a PTZ generálta NMDA-receptor túlműködéstől.

INSZEKTICID KOMBINÁCIÓK AKUT ÉS EGYEDFEJLŐDÉS ALATTI ADAGOLÁSÁNAK NEUROTOXIKUS HATÁSAI PATKÁNYBAN

Lengyel Zsuzsanna, Szabó Andrea, Papp András

SZTE ÁOK Népegészségtani Intézet, Szeged

A napjainkban használt rovarölő hatóanyagok főleg idegrendszeri támadáspontúak, és nemcsak a célszervezeteket, hanem a környezetbe kijutva az embert is nagymértékben veszélyeztetik. A különböző hatóanyagok együttes jelenlétéből eredő, esetlegesen szinergizmust mutató neurotoxikus hatások még nem kellően ismertek. A kísérletekben dimetoátot (szerves foszfát), propoxurt (karbamát) és cipermetrint (piretroid) adtunk, kettes és hármas kombinációban, gyomorszondán át patkányoknak. Akutan egyetlen $1/5$ LD₅₀-nyi dózist kaptak felnőtt hím Wistar állatok, és a hatást 24 óra múlva figyeltük meg. Az egyedfejlődés alatti adagolás során az $1/25$ LD₅₀ dózist vemhes nőstény Wistar patkányok kapták a vemhességet ill. a vemhességet és laktációt magába foglaló időszakban, az utóbbi csoportból származó hím utódok egy része pedig további 8 hétig. A regisztrálás minden esetben a 12 hetes kort elérő hím utódokból történt. Uretán altatásban végzett preparálást követően a szomatoszenzoros, látó- és hallókéregből spontán és kiváltott aktivitást vettünk fel. Az akut kísérletekben a dimetoátot tartalmazó kettes és hármas kombinációk esetén figyelhetünk meg szembetűnő változásokat: a spontán aktivitás magasabb frekvenciák felé tolódott, a kiváltott válaszok latenciája megnőtt, főleg a szomatoszenzoros és látókérgen.

A pre- és posztnatális fejlődés alatti adagolásban is a dimetoátos kombinációk hatása volt a legmarkánsabb a spontán aktivitáson, a spektrum azonban a prenatális adagolás hatására a lassú, míg a pre- és posztnatális kezelés után a gyors hullámok felé tolódott. A kéri kiváltott potenciálok latenciájára prenatális adagolásban a dimetoátos kombinációk, míg pre- és posztnatális adagolásban minden inszezticid szignifikáns hatást fejtett ki. A kiváltott válaszok időtartamának változása leginkább a hallókéregben volt kifejezett.

Az eredmények alapján további kísérletekben szándékozunk meghatározni az inszezticidekre legérzékenyebb elektrofiziológiai paramétert.

A munkát az OTKA T 042955 szám alatt támogatta.

A FÁJDALOMCSILLAPÍTÓ TRAMADOL HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA A VANILLOID RECEPTOR-1 (TRPV1) MŰKÖDÉSÉRE

Marincsák Rita, Borbíró István, Vasas Krisztina, Bíró Tamás

Debreceni Egyetem, OEC, Élettani Intézet

A vanilloid receptor-1 (TRPV1) a fájdalom kialakulásában meghatározó szereppel bíró kalciumpermeabilis kationcsatorna, melyet először a spinális hátsó gyöki és a trigeminális szenzoros ganglionok neuronjain írtak le. Tekintettel arra, hogy a szájüreg érző beidegzését döntően a n. trigeminus biztosítja, kíváncsiak voltunk arra, hogy a stomatológiai gyakorlatban a posztoperatív fájdalom csillapítására sikerrel alkalmazott tramadol befolyásolja-e a TRPV1 működését.

Kísérleteinket olyan CHO sejteken (TRPV1/CHO) végeztük, amelyeken a rekombináns technikákkal transzfektált TRPV1 expressziója tetraciklin elvonással volt indukálható. A sejteken 48 órás indukciót követően, 1,8 mM kalciumtartalmú oldatban PTI Delta-Scan mérőrendszeren mértük az intracelluláris kalciumkoncentráció ([Ca²⁺]_i) változását.

Először a receptort nem expresszáló CHO sejteken vizsgáltuk a tramadol hatását. Megállapítottuk, hogy 1 microM tramadol egyetlen esetben sem okozott változást az [Ca²⁺]_i-ban, míg a pozitív kontrollként alkalmazott ATP-re ugyanezen sejtek 73% válaszolt tranzienssel (n=11). A TRPV1/CHO sejteken, nagy meglepetésünkre, ugyanakkor azt tapasztaltuk, hogy a tramadol megnövelte az [Ca²⁺]_i-t. Ezen tranziensek mind jellegükben, mind kinetikájukban az ismert TRPV1 agonista kapszaicin hatásaival teljes mértékben összevethetők voltak. A tramadol esetén ugyanakkor a maximális amplitúdó és a meredekség szignifikánsan kisebbnek; a maximális válasz kialakulásához szükséges idő pedig ezzel egyidejűleg szignifikánsan nagyobbak adódott a kapszaicin által kiváltott tranziensek paramétereire képest. Kimutattuk továbbá, hogy a tramadol ezen hatása a TRPV1 csatornán keresztül, specifikus módon valósult meg, hiszen a TRPV1 antagonistá kapszazepin (5 microM) teljes mértékben és reverzibilis módon kivédte a tramadol [Ca²⁺]_i-t befolyásoló hatását (n=11).

Mindezen eredményeink arra utalnak, hogy a hatásos fájdalomcsillapítónak alkalmazott tramadol (egyelőre kevésbé értelmezhető módon) jelentős mértékben és specifikus módon aktiválja a fájdalom kialakulásában központi szerepet játszó TRPV1-t.

KIVÁLTOTT VÁLASZOK SZIMULÁLT SÚLYTALANSÁGBAN

Tuboly Gábor*, Brauniczer Gábor, Benedek Krisztina[†], Csillik Andrea[‡], Rudas László[§]

* SZTE ÁOK, Pszichiátriai Klinika; [†] Neurológiai Klinika; [‡] AITI Belgyógyászati Intenzív Egység

A P300 agyi eredete még pontosan nem tisztázott és pontos funkcióját sem ismerjük. A P300-ról azt feltételezik, hogy az információ tudatosítását jelzi, amely funkció az agy több területét is érintheti. Kutatások alapján a hippocampus szerepe látszik a legvalószínűbbnek, de ezen kívül számos agykérgi eredet létezhet. Nincs adat arra vonatkozóan, hogy az ürrepülés alatti szimulált élettani változások hogyan változtatják meg a kognitív funkciókat tükröző P300 hullám karakterisztikáját.

Kísérletünket 12 fiatal, egészséges, önként jelentkező alanyon végeztük. Az irodalmi adatok alapján vérvesztéssel egybekötött ágyban-fekvéssel szimulálhatjuk a Földön, kontrollált körülmények között az űrben jellemző nyomásviszonyokat. A vizsgált személyeket egy forgatható ágyon 60 fokos (fejjel felfelé) pozícióban helyeztük el, majd 500 ml vérvételt követően ezt megismételtük. A kognitív funkciók változását kiváltott válaszok mérésével regisztráltuk. A P300-as hullám látenciáját és amplitúdóját vizsgáltuk, amelyet egy ún. odd-ball paradigmával lehet kiváltani, ahol az alanyak állandó (standard) ingerek közé beiktatott cél-ingereket kell felismernie. A cél ingerek különböző állatok fotói voltak, amelyek véletlenszerűen jelentek meg különböző nem-állat fotók között.

Vérvétel után a P300 amplitúdója jelentős mértékben megnőtt mind az állat, mind a nem-állat fényképek felismerése esetén. Mindazonáltal a két állapot közötti különbség lecsökkent, valamint a célingerekkel kiváltott hullám látenciája nem szignifikánsan megnőtt.

Az eredmények azt valószínűsítik, hogy a szimulált súlytalanság, nem edzett alanyokon, szignifikánsan megváltoztatja a neuronális működéseket is.

A Kutatást a NKTH támogatta (OMFB-0066/2005/DNT).

A MUSCLEBLIND MRNS-EK ÉS A SERCA1 SPLICINGJA REGENERÁLÓDÓ VÁZIZOMBAN

Keresztes Sz., Szabó A., Zádor E.

Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai Intézet

A muscleblind (MBNL) proteinek olyan RNS-hez kötődő fehérjék, melyek a pre-mRNS szekvencia specifikus eleméhez kötődve alternatív splicingot szabályoznak. Megfigyelték, hogy a myotonia dystrophica (DM) nevű izombetegségben a felhalmozódott CUG illetve CCUG ismétlődést tartalmazó mutáns transzkriptek módosítják az MBNL proteinek funkcióját és lokalizációját, mivel ezek a fehérjék nagy affinitással kötődnek az YGCU(U/G)Y motívumhoz. Az 1-es típusú sarcoplazmás/endoplazmás retikulum Ca^{2+} ATPáz (SERCA1) pre-mRNS 22-es exonjától 3' irányban számos YGCU(U/G)Y motívum található, amely potenciális MBNL kötőhely. A regenerálódó vázizomban a SERCA1b és SERCA1a izoforma váltása a 22-es exon splicingjával jön létre. Ez felvetette, hogy vajon az MBNL transzkriptek szintje milyen mértékben korrelál a SERCA1a mRNS-ek splicingjával a regeneráció során.

Modellünkben az ausztráliai tigriskígyó (*Notechis scutatus scutatus*) mérgeével a patkány soleus izmában nekrozist majd regenerációt idéztünk elő, melyben RT-PCR segítségével mértük az mRNS szinteket.

Eredményeink azt mutatják, hogy az MBNL1 mRNS szintjének emelkedése röviddel megelőzi a SERCA1a mRNS megjelenését, azaz a 22-es exon splicingját. Ez alapján lehetséges, hogy az MBNL1 a regenerációban is szerepet tölthet be, annak szabályozásában, hogy a felnőtt SERCA1a felváltsa a neonatális SERCA1b izoformát.

HARÁNTCSÍKOLT IZOMROSTOK KALCIUMHOMEOSZTÁZISÁNAK VIZSGÁLATA EGY ALACSONY AFFINITÁSÚ KALCIUMPUFFER JELENLÉTÉBEN

Fehér Mónika, Dienes Beatrix, Szabó László, Szentesi Péter,
Csernoch László

DE OEC Élettani Intézet, Debrecen

Vázizomban az összehúzódást megelőző kalciumfelszabadulás az intracellulárisan (IC) elhelyezkedő raktárból, a szarkoplazmás retikulum-ból (SR) történik annak kalciumcsatornáján (RyR) keresztül. Kísérleteinkben egy töltés nélküli, membrán permeabilis kalciumpuffer, a TPEN hatását vizsgáltuk az elemi kalcium felszabadulási eseményekre (melynek két formája ismert: a „spark” illetve az „ember”) emlősök valamint kételtűek harántcsíkolt izmán. Vizsgálatainkat arra alapoztuk, hogy a TPEN megkövetve az SR-ből kiáramló kalciumot gátolja a RYR inaktivációját továbbá, módosítja az SR szabad kalcium készletét ($[Ca^{2+}]_{SR}$) és ezáltal befolyásolhatja az elemi kalcium felszabadulási eseményeket.

Ennek igazolására, egyedi izomrostokat használtunk, melyeket enzimatikusan izoláltuk, patkányok m. extensor digitorum communis-ából, illetve manuálisan preparáltuk kecskebékák m. semitendinosus-ából. Az $[Ca^{2+}]_{IC}$ változásokat fluoreszcens festék (fluo-3) segítségével rögzítettük szobahőmérsékleten, lézerpásztázó konfokális mikroszkóppal.

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a TPEN fiziológiás $[Mg^{2+}]_{IC}$ mellett már kis koncentrációban ($\leq 50 \mu M$) is módosította az elemi események kialakulását, csökkentette a spark-ok frekvenciáját ($5,27 \pm 0.07$ -ről $3,17 \pm 0.03$ Hz-re), de növelte az amplitúdót ($0,85 \pm 0.01$ -ről $0,95 \pm 0.01$ ráció egységre) békák esetében, míg patkány izomrostokon alig mutatkozott változás. Alacsony $[Mg^{2+}]_{IC}$ mellett viszont hasonló koncentráció alkalmazása után fiziológiásan nem tapasztalt tovaterjedő elemi eseményeket („travelling spark”) eredményezett béka izomrostokon. Ezen események frekvenciája jelentősen megnőtt ($24,46 \pm 0.5$ -ről $34,18 \pm 0.3$ Hz-re). A „travelling spark”-ok terjedési sebességére $273 \pm 7 \mu m/s$ értéket kaptunk.

Megfigyeléseink arra engednek következtetni, hogy fiziológiás körülmények között nem alakulhat ki a kalcium indukált kalciumfelszabadulás és megfelelően magas $[Ca^{2+}]_{SR}$ szükséges az elemi kalciumfelszabadulási események spontán kialakulásához.

A MAUOKALCIN NEVŰ SKORPIÓTOXIN ÉS MUTÁNSAINAK HATÁSA AZ ELEMI KALCIUMFELSZABADULÁSI ESEMÉNYEKRE BÉKA HARÁNTCSÍKOLT IZOMBAN

Dienes B., Fehér M., M. Ronjat, Szentesi P., Szigeti Gy.P. és
Csernoch L.

DE OEC Élettani Intézet, Debrecen

A maurokalcin (MCa), egy 33 aminosavból álló skorpiótoxin, melyet a Scorpio Maurus Palmatus mérgéből izoláltak. Ismert, hogy a MCa kölcsönhat a harántcsíkolt típusú rianodin receptorral (RyR1) és jelentősen módosítja annak kapuzását.

Munkánkban a méreg vad típusának és mutánsainak (Lys8Ala, Lys19Ala, Lys22Ala és Lys23Ala) az elemi kalciumfelszabadulási eseményekre kifejtett hatását vizsgáltuk béka harántcsíkolt izomroston. A béka m. semitendinosus izmából mechanikusan izolált rostokat üveg aljú mérőkádba helyeztük, majd szaponinnal (0.002%) permeabilizáltuk a sejtmembránt. Így a fluo-3 kalciumérzékeny festék szabadon diffundált a rostba a glutamát alapú intracelluláris oldatból. A méréseket Zeiss LSM 510 lézer pásztázó mikroszkóppal, line-scan üzemmódban végeztük, MCa és mutánsai jelenlétében (50-100 nM). MCa adagolása után kontroll körülmények között nem látható, hosszan tartó kalciumfelszabadulási eseményeket („ember”) észleltünk. Ezeknek két tipikus csoportját különítettük el: a kiugró intenzitású csúcsokat („spark”) tartalmazó, illetve az ettől mentes eseményeket. Néhány esetben több „spark” is megjelent egy „ember” alatt. Az „ember”-ek átlagos hosszának változása az egyes mutánsok alkalmazásakor jó egyezést mutat a lipid kettősrétegekbe ágyazott, izolált RyR1-en végzett kísérletek eredményeivel. A MCa hatására kifejlődött hosszú élettartalmú szubkonduktancia állapotok átlagos időtartama a mutáció helyétől függ. A Lys8Ala és a Lys19Ala mutánsok inkább a vad típushoz hasonló, amíg a Lys22Ala és a Lys23Ala rövidebb eseményeket okoztak.

Méréseink alátámasztják, hogy izolált RyR1-en lipid kettősrétegekben végzett kísérletek jól modellezik a MCa in situ hatását. Adataink azt mutatják, hogy egy „ember” egyetlen kalciumfelszabadulási egység megnyílását tükrözi.

SKORPIÓTOXIN (MAUROKALCIN) HATÁSA A VÁZIZOM KALCIUM CSATORNÁJÁRA

Lukács Balázs, Sárközi Sándor, Jóna István

DE OEC, Élettani Intézet, MTA – DE Sejtélettani Kutatócsoport

Az izom összehúzódása során az akciós potenciál a dihidropiridin receptorok (DHPR) konformáció változását követően megnyitja az SR kalcium csatornáit (rianodin receptor, RyR1), ami az intracelluláris kalcium szint emelkedését és a vázizom összehúzódását eredményezi.

Célunk egy skorpió toxin (maurokalcin) és pontmutánsainak a RyR1-re kifejtett hatásának vizsgálata volt. Kísérleteinkben nyúl vázizomból izolált kalcium csatornák paramétereit feszültség-clamp körülmények között, „single channel” módszerrel 20-22 °C-on vizsgáltuk. A maurokalcin egy 33 aminosavból álló 3 diszulfid hidat tartalmazó peptid, melyet a Scorpio maurus palmatus-ból izoláltak. Részleges homológiát mutat a DHPR és a rianodin receptor közötti kapcsolatban alapvető fontosságú „A” doménnel. A toxin már nanomólos koncentrációban megváltoztatja a RyR1-működését, hosszantartó szubkonduktancia állapotok (LLSS) létrehozásával. Méréseinkhez szintetikus maurokalcint és mutánsait használtuk, utóbbiak esetében az adott pozícióban lévő (sMCA8, sMCA19, sMCA20, sMCA22, sMCA23, sMCA24) lizin illetve arginin aminosavat töltetlen alanin helyettesítette.

Célunk a maurokalcin és mutánsai által indukált LLSS állapotok leírása és kialakításukban szerepet játszó molekuláris részek feltérképezése volt.

Megállapítottuk, hogy a maurokalcin és mutánsai szubkonduktancia állapotokat indukálnak, melyek paramétereit jellegzetes koncentrációfüggést mutatnak. A leghatásosabb vad típus (200 nM sMCA 96%), míg a 24-es pozícióban mutáns gyakorlatilag hatástalan (0,6%). A 24-es pozíciótól távolodva a szubkonduktancia állapotok aránya nő, tehát ezen aminosav jelenléte kritikus a hatás kialakításában. A toxin hatása polaritásfüggő, azaz a fiziológiás irányú ionfluxus esetében az LLSS állapotok aránya kisebb. Végül megállapítottuk, hogy a maurokalcin és pontmutánsainak hatását a kalcium koncentráció megváltoztatása alapvetően nem befolyásolja.

(Témátámogatás: OTKA T 61442)

GÉNKIFEJEZŐDÉS ÖSSZEHASONLÍTÁSA VÉGTA- ÉS SZELEKTÍVEN DENERVÁLT PATKÁNY SOLEUS IZMOKBAN

Szabó A. és Zádor E.

Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai Intézet

A vázizom motoros beidegzésének gyakori vizsgálati módszere a denerváció. Ezt hátsó végtagok esetén leggyakrabban a nervus ischiadicus elvágásával érik el. Sokkal ritkábban alkalmazzák a soleus ideg elvágását. Előbbi esetben a végtag teljesen lebénul, utóbbi esetben viszont a többi izom passzívan mozgatja a soleust.

Vizsgálataink során a patkányok egyik csoportját végtagdenervációnak, másik csoportját szelektív soleus denervációnak vetettük alá. A kinyert izmok metszeteit hematoxilin-eozin festéssel és immun-hisztokémiával vizsgáltuk, RNS-tartalmát RT-PCR-rel, fehérje tartalmát pedig Western-blottal.

Különbségeket találtunk a kétféle denerváció között a friss tömegben, a rostkeresztmetszetben, és a rosttípus eloszlásban. Ezen kívül mRNS és fehérje szinten eltérések voltak a mio-genikus reguláló faktorok, a miozin izoformák és a különböző szarko(endo)plazmás retikulum Ca^{2+} ATPázok (SERCA-k) tekintetében a kétféle denerváció hatására.

Eredményeink feltárják a végtag- és szelektíven denervált patkány soleusok eltérő motilitásából adódó génkifejeződésbeli különbségeket.

A SYK ÉS A DAP12 FEHÉRJÉK SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA OSTEOCLASTOK JELÁTVITELÉBEN

Kertész Zsuzsanna, Krasznai Zsuzsa, Györi Dávid és
Mócsai Attila

SE Élettani Intézet

Az osteoclastok alapvető szerepet játszanak a szervezet csontlebontható folyamataiban. Munkacsoportunk génihiányos egereken korábban kimutatta, hogy a Syk és a DAP12 fehérjék szükségesek az osteoclastok fejlődéséhez, funkciójához. Az általunk használt stimuláló faktorokról (M-CSF, RANK ligand és adhéziós felszín) szintén ismert, hogy esszenciálisak e sejtek kialakulásához. Méréseinknél a Syk és a DAP12 aktiválódását vizsgáltuk ezen faktorok hatására.

Az osteoclast-fejlődés jelátvitelét az osteoclast-előalakoknak tekinthető macrophagokon vizsgáltuk, melyeket egér csontvelői sejtekből tenyésztettünk M-CSF jelenlétében. A suspensióban lévő sejteket rekombináns M-CSF-fel vagy RANK liganddal stimuláltuk vagy a kitapadásukhoz szövetkultúra felszínt biztosítottunk. Majd Western blottal vizsgáltuk teljes sejt lizátumokban az Erk és a p38 foszforilációt foszfospecifikus antitestekkel, az NFκB jelpálya aktiválódásának mérésére IκBα degradációt, míg a Syk és a DAP12 foszforiláció vizsgálata immunprecipitáció után foszfortirozin antitesttel történt.

Eredményeink arra utalnak, hogy dominánsan az Erk foszforiláció az M-CSF, a p38 foszforiláció és IκBα degradáció a RANKL jelpályához köthető. E stimulusoknál Syk és DAP12 foszforiláció nem történik, míg adhézió hatására ez létrejön.

Tehát a Syk és a DAP12 aktivációja az adhéziós stimuláció hatására következik be. Továbbiakban Syk és DAP12 hiányos egereken szeretnénk vizsgálni e két fehérje funkcióját.

A NIKKEL HATÁSA A CSIRKE EMBRIÓ FEJLŐDÉSÉRE ÉS ANTIOXIDÁNS VÉDELMI RENDSZERÉRE

Erdélyi M.¹, Balogh K.¹, Kertész V.², Weber M.¹, Mézes M.¹

¹ Szent István Egyetem, Takarmányozástani Tanszék

² Szent István Egyetem, Állattan és Ökológia Tanszék

A környezeti terhelések számos területen veszélyeztetik az állati termék előállítás hatékonyságát. A tojást érő szennyezések hatnak az egyedfejlődés korai szakaszában is, valamint ma még nem pontosan ismert módon olyan mértékben és irányban károsíthatják a szervezetet, amely egyrészt összeférhetetlen a posztnatális élettel, másrészt a növekedés-fejlődés folyamatát kedvezőtlen irányban befolyásolják. A bemutatásra kerülő kísérletben a Ni-terhelés élettani-biokémiai és fejlődésbiológiai hatásait kívántuk elemezni a glutation redox rendszer jellemző paramétereinek mérésével, valamint morfológiai vizsgálatok elvégzésével.

A tojásokat (Ross 308) a nikkel egy vízben oldódó sójának (NiCl) csapvízzel készített három különböző szubletális koncentrációjú oldatában fürösztöttük (30 min). A keltetés 2., 3. és 10. napján 6-6 tojásban morfológiai vizsgálatokat végeztünk. A keltetés 16. 18. és 21. napján 6-6 embrióból máj mintát vettünk és mértük a tiobarbitursav reaktív anyagok, a redukált glutation, az aszkorbinsav és a fehérje koncentrációját, valamint a glutation-peroxidáz aktivitást.

A morfológiai vizsgálatok során mindhárom kezelt csoportban találtunk morfológiai elváltozásokat (vérgyűrű, cisztába zárt korán elhalt embrió) illetve fejlődési rendellenességeket (sziámi embrió, nyitott testüreg, végtaghiány). Meglepő módon ezek többsége a legkisebb Ni-terhelés esetén jelentkezett. A biokémiai paraméterek szintén kizárólag a legkisebb Ni-koncentrációjú kezelés esetén mutattak szignifikáns eltéréseket a kontrollhoz viszonyítva.

Összességében, tehát a nikkel kedvezőtlen hatást gyakorol az embrionális fejlődésre. Emellett a Ni-terhelés számottevő változásokat okoz a fejlődő embrió glutation redox rendszerében is, mintegy aktiválja azt. Az a tény, hogy a morfológiai és biokémiai eltérések a legkisebb dózisu kezelés hatására jelentkeztek, felveti annak a lehetőségét, hogy a nikkel transzportja a tojáshéj pórusain keresztül akadályozott. Ennek felderítése további vizsgálatokat igényel.

A kutatást az OTKA T 0467151 támogatta.

A NEUROAKTÍV SZTEROIDOK GÁTOLJÁK A PATKÁNY GERINCVELŐI TENYÉSZET HETEROMER GLICIN RECEPTORAINAK MŰKÖDÉSÉT

Fodor László^a, Boross András^a, Dezső Péter^a,
Maksay Gábor^b

^aFarmakológiai és Gyógyszerbiztonsági Kutatási Főosztály, Richter
Gedeon Rt., Pf. 27, 1475, Budapest

^bMolekuláris Farmakológiai Osztály, Kémiai Kutatóközpont, MTA Pf.
17, 1525 Budapest
e-mail: l.fodor@richter.hu

Az ionotróp glicin receptorokat 17 napos patkányembrióból készített gerincvelői idegsejtenyészeten tanulmányoztuk teljes sejt *patch clamp* technikával.

A glicin receptorokat altípus-szelektív csatorna-blokkolókkal; pikrotoxinnal, cianotrifetil-boráttal és sztrichninnel jellemeztük. Ezen vizsgálatok eredményei, valamint a nanomólos koncentrációjú tropisetron működést fokozó hatása az α és β alegységek koexpressziójára utal. A neuroaktív szteroid pregnenolon-szulfát és dehidroepiandrosteron-szulfát, valamint az alfaxalon és annak β -epimerje a betaxalon gátolta a klorid-áramot (IC_{50} értékek: 19, 46, 16 és 208 μM), potencírozó hatásuk nem volt. A reverz-transzkriptáz polimeráz láncreakció (RT-PCR) és az immunkitokémiai vizsgálatok kimutatták, hogy patkány gerincvelői tenyészeten a glicin receptorok $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ és β alegységeinek mRNS-e és fehérjéje is jelen van.

Összefoglalva, a γ -amino-vajsav A típusú receptorait ($GABA_A$ R) mind pozitívan, mind negatívan moduláló neuroaktív szteroidok mikromólos koncentrációban gátolták a heteromer glicin receptorokat.

A SZERTRALIN PROTEIN KINÁZ C FÜGGŐ MÓDON NÖVELI A LAMOTRIGIN REFLEXGÁTLÓ HATÉKONYSÁGÁT

Farkas Bence, Kocsis Pál, Thán Márta, Tihanyi Károly, Tarnawa István

Richter Gedeon RT Farmakológiai és Gyógyszerbiztonsági Kutatási
Főosztály, 1475 Budapest, Pf. 27.

e-mail: b.farkas@richter.hu

A feszültségfüggő nátrium csatorna blokkoló lamotrigin gátolja a gerincvelői reflextranszmissziót. Ezt az antiepileptikumot sikerrel alkalmazzák különféle krónikus fájdalmi kórképek kezelésére is. A szelektív szerotonin felvétel gátlók, mint például a szertralin, szintén alkalmazhatók krónikus fájdalomban. Kísérleteinkben megvizsgáltuk e kétféle hatásmechanizmusú anyag közötti lehetséges farmakodinámiai interakciót a gerincvelői reflextranszmisszió szintjén *in vitro* preparátumon.

A gerincvelőt hatnapos patkányból izoláltuk. Az L5-ös hátsó gyököt ingereltük, és a megfelelő mellső gyökről vezettük el a monoszínaptikus reflexpotenciált, melyet a lamotrigin 204,2 μM -os IC_{50} értékkel gátolt. 0,5 μM szertralin növelte a lamotrigin hatékonyságát ($IC_{50} = 28,9 \mu M$). A ketanserin (5-HT₂ antagonist) megakadályozta a szertralin potencírozó hatásának kialakulását ($IC_{50} = 250,4 \mu M$). Az 5-HT₂C receptor agonista 1-(3-klórfeil) piperazin (m-CPP; 0,1 μM) szintén képes volt a lamotrigin hatásának potencírozására ($IC_{50} = 41,6 \mu M$), az 5-HT₂C receptorok komoly szerepét mutatva a szertralin hatásának közvetítésében. A PKC közvetlen aktiválása forbol-mirisztin-acetát (PMA; 0,4 μM) segítségével szintén megnövelte a lamotrigin hatékonyságát ($IC_{50} = 60,7 \mu M$), míg a PKC gátlása keleritrin kloriddal (5 μM) gátolta a szertralin potencírozó hatásának kialakulását ($IC_{50} = 142,7 \mu M$).

A szertralin megemeli a szerotonin tónust és 5-HT₂ receptorokon keresztül aktiválja a PKC-t. A nátrium csatornák alfa alegységének foszforilációja a nátrium áramok egyensúlyi inaktivációs görbét balra tolja el. A lamotrigin csatorna blokkoló hatása állapotfüggő, elsősorban az inaktivált nátrium csatornákat gátolja. Ez a tény megmagyarázza a megnövekedett hatékonyságot, mivel a foszforilált nátrium-csatornák nagyobb hányada van inaktivált állapotban.

Eredményeink jó egyezést mutatnak azon klinikai tapasztalatokkal, melyek szerint a nátrium csatorna blokkolók, mint a lamotrigin előnyösen adhatók együtt szelektív szerotonin felvétel gátlókkal, és segítenek az interakció alapjainak molekuláris szintű megértésében.

A VANILLOID RECEPTOR-1 (TRPV1) SZEREPE A HUMÁN MONOCITA-EREDETŰ DENDRITIKUS SEJTEK ÉRÉSÉNEK ÉS AKTIVÁCIÓJÁNAK SZABÁLYOZÁSÁBAN

Tornai Tamás¹, Szöllösi Attila¹, Tóth I. Balázs¹, Benkő Szilvia², Bíró Tamás¹

Debreceni Egyetem, OEC, ¹Élettani és ²Immunológiai Intézet

Laboratóriumunk korábbi kísérletei kimutatták, hogy a vanilloid receptor-1 (TRPV1) kifejeződik humán bőr dendritikus (Langerhans) sejteiben, ugyanakkor nem ismert a receptor szerepe a dendritikus sejtek (DS) folyamataiban. Jelen kísérleteinkben ezért arra kerestük a választ, hogy a TRPV1 milyen funkcionális sajátosságokkal bír a DS-k érésének és aktivációjának szabályozásában.

Humán perifériás vérből monocitákat izoláltunk, majd interleukin-4 (IL-4) és granulocita-makrofág kolóniai stimuláló faktor (GM-CSF) 5 napon keresztül alkalmazásával (kezelés a 0. és 2. napon) éretlen DS-eket differenciálttunk. Ezt követően egy többkomponensű, pro-inflammatorikus citokineket tartalmazó „koktél” (GM-CSF, IL-1-béta, IL-6, tumor nekrosis faktor-alfa, proszttaglandin-E2) 24 órán keresztül alkalmazásával a DS-ek érését és aktivációját indukáltuk. Kvantitatív „real-time” Q-PCR technika segítségével megállapítottuk, hogy a DS-ek érése során a TRPV1 (a monocitákhoz képest igen magas) expressziója nem változott szignifikáns módon. Áramlásos citometria alkalmazásával kimutattuk továbbá, hogy a kapszaicin (1-10 microM) dózis-függő és szignifikáns módon, (mintegy 30%-kal) csökkentette a DS-ek érését jelző CD83 sejtfelszíni marker kifejeződését. Ezen hatás TRPV1-specifikusnak volt tekinthető, hiszen a TRPV1 antagonistá kapszazepin (5 microM) kivédte a kapszaicin hatását. Ezzel párhuzamosan MTT kolorimetriás assay alkalmazásával megállapítottuk, hogy a kapszaicin fenti koncentrációi nem módosították a sejtek életképességét. Végezetül kimutattuk, hogy a kapszaicint egyedül (azaz a pro-inflammatorikus „koktél” nélkül) alkalmazva, az agonista nem indukálta a DS-ek aktivációját. Jelenleg zajló kísérleteinkben a DS-k aktivációját jelző citokinfelszabadulást vizsgáljuk.

Mindezen adataink arra utalnak, hogy a TRPV1 aktiválása részlegesen gátolja a DS-k érését és aktivációját, mely hozzájárulhat a kapszaicin potenciális gyulladáscsökkentő hatásának kialakulásához.

A VANILLOID RECEPTOR-1 (TRPV1) AGONISTA KAPSAZICIN GÁTOLJA A HUMÁN MONOCITA-EREDETŰ DENDRITIKUS SEJTEK IN VITRO DIFFERENCIÁLÓDÁSÁT

Szöllösi Attila¹, Tornai Tamás¹, Tóth I. Balázs¹, Benkő Szilvia², Bíró Tamás¹

Debreceni Egyetem, OEC, ¹Élettani és ²Immunológiai Intézet

Az irodalomban számos utalás található arra vonatkozóan, miszerint a csípős paprikából izolálható vanilloid receptor-1 (TRPV1) agonista kapszaicin (eddig nem azonosított mechanizmusokon keresztül) gyulladáscsökkentő és immunmoduláns hatással bírhat. Kísérleteinkben ezért a kapszaicin hatását, valamint a TRPV1 kifejeződését vizsgáltuk az immunfolyamatokban központi szereppel bíró humán dendritikus sejteken (DS).

Humán perifériás vérből monocitákat izoláltunk, majd interleukin-4 (IL-4) és granulocita-makrofág kolóniai stimuláló faktor (GM-CSF) 5 napon keresztül alkalmazásával (kezelés a 0. és 2. napon) éretlen DS-eket differenciálttunk. Kvantitatív „real-time” Q-PCR alkalmazásával megállapítottuk, hogy a DS-k differenciálódása során a TRPV1 kifejeződése jelentősen és időfüggően megemelkedett (közel 10-szeres expressziót tapasztaltunk az 5. napon vizsgált DS-ken a monocitákhoz viszonyítva). Áramlásos citometria alkalmazásával kimutattuk továbbá, hogy a kapszaicin (1-10 microM, a 0. naptól naponta alkalmazva) dózis- és időfüggő módon szignifikánsan csökkentette a DS differenciálódási marker DC-SIGN kifejeződését. Ezen hatás TRPV1-specifikusnak volt tekinthető, hiszen a TRPV1 antagonistá kapszazepin (5 microM) kivédte a kapszaicin hatását. Érdekes megfigyelés volt ugyanakkor, hogy amennyiben a kapszaicint csak a 2. naptól adagoltuk, a TRPV1 agonista nem befolyásolta a DC-SIGN fokozatosan növekvő expresszióját. Ezzel párhuzamosan MTT kolorimetriás assay alkalmazásával megállapítottuk, hogy a kapszaicin fenti koncentrációi nem módosították a sejtek életképességét. Végezetül kimutattuk, hogy a kapszaicint egyedül (azaz IL-4 és GM-CSF nélkül) alkalmazva, az agonista nem indukálta a DC-k differenciálódását.

Mindezen adataink arra utalnak, hogy a DS-ken kifejeződő TRPV1 aktiválása a DS differenciálódás korai eseményeit gátolja. További funkcionális kísérletek szükségeltetnek ugyanakkor annak megállapításához, hogy ez milyen mértékben járul hozzá a kapszaicin potenciális gyulladáscsökkentő hatásához.

AZ ANANDAMID HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA HUMÁN KERATINOCYTÁKON – A VANILLOID RECEPTOR-1 (TRPV1) ÉS CANNABINOID RECEPTOROK SZEREPE

Dobrosi Nóra, Telek Andrea, Borbíró István, Bíró Tamás

Debreceni Egyetem, OEC, Élettani Intézet

Korábbi kísérleteinkben kimutattuk, hogy a humán bőr számos sejtfeleségében (epidermális és szőrtüsző keratinocyták, dendritikus sejtek) kifejeződik a korábban főként idegi struktúrákon leírt vanilloid receptor-1 (TRPV1) és a cannabinoid (CB) receptor-1. Jelen kísérleteinkben az endocannabinoid (és, bizonyos körülmények között, endovanilloid) anandamid (AEA) in vitro hatásait vizsgáltuk humán epidermális HaCaT keratinocytákon.

Western blot, immuncitokémia és kvantitatív Q-PCR alkalmazásával kimutattuk, hogy mind a TRPV1, mind a CB1 kifejeződik a HaCaT sejteken. MTT-alapú proliferációs, valamint különféle apoptózis (annexin-V, mitokondriális membránpotenciál) vizsgálatokkal bebizonyosodott továbbá, hogy az AEA dózis-függő (0,1-30 µM) módon csökkentette a sejtek proliferációját és apoptózist indukált. Érdekes megfigyelésnek adódott, hogy az AEA ezen hatásait egyformán kivédte mind a CB1-specifikus antagonistá AM-251, mind a TRPV1-antagonista iodo-resiniferatoxin és kapszazepin, ugyanakkor a CB1 és TRPV1 antagonisták hatása nem volt additív. Mindez arra utalt, hogy az AEA nem egyszerre hat a kétféle receptoron, hanem feltehetően a receptor-kapcsolt jelátviteli útvonalak szekvenciális aktiválódása történik meg. Ezen hipotézist vizsgálva (funkcionális Ca-image alkalmazásával) megállapítottuk, hogy az AEA először a CB-t aktiválta, mely a TRPV1-csatorna következményes megnyílásához vezetett.

Egyelőre nehezen értelmezhető eredményünk volt végül annak megállapítása, hogy a HaCaT sejteken csak nyomokban detektálható CB2 receptoron ható agonisták az AEA hatásával megegyező módon módosították a sejtek működését (lecsökkentették a sejtproliferációt, sejthalált indukáltak, megnövelték a sejtek Ca-koncentrációját), míg a szintetikus CB1 agonisták hatástalannak bizonyultak.

Mindezen eredményeink arra utalnak, hogy a HaCaT keratinocytákban funkcionális és egymással szoros receptorális kapcsolatban álló endocannabinoid-endovanilloid rendszer található. További kísérletek szükségeltetnek ugyanakkor annak eldöntésére, hogy milyen szereppel bírnak a különféle CB receptorok ezen rendszer(ek) működésének celluláris és molekuláris szabályozásában.

A FLUOXETINE GÁTOLJA A LASSÚ-TRANSIENS KÁLIUM CSATORNÁKAT, MÍG A GYORS- TRANSIENS CSATORNÁK MŰKÖDÉSÉT NEM BEFOLYÁSOLJA

Lenkey N., Károly R, Mike Á, Vizi ES

MTA KOKI, Budapest

A közismert SSRI antidepresszáns, a fluoxetine hatását vizsgáltuk patkány hippocampális tenyészetben. Méréseinket whole-cell patch-clamp módszerrel végeztük.

Előzőleg munkacsoportunk kimutatta, hogy egyes antidepresszánsok (fluoxetine és a triciklikus desipramine is) feszültség-függő módon gátolja a neuronális nátrium-csatornák működését terápiás koncentrációtartományban (1-30 µM). Ez megerősíti azt az elképzelést, miszerint az antidepresszánsok a jól ismert monoamin-visszavétel-gátló hatásukon kívül direkt módon befolyásolják egyéb membránproteinek működését, így például számos ioncsatornát.

Ennek a komplex modulációnak a megértéséhez jutunk közelebb, ha az idegsejtek működésében kulcsfontosságú ioncsatornákra gyakorolt hatását felderítjük az antidepresszánsoknak. Ezért megvizsgáltuk, hogy a fluoxetine (terápiás koncentrációban) hogyan módosítja a dendritikus integrációban fontos szerepet játszó transiens káliumcsatornák (~ A-type) és a delayed rectifier csatornák működését. Háromféle káliumáramot különítettünk el speciális feszültség-protokollokkal: gyors- és lassú-transiens, valamint delayed rectifier káliumáramot. A gyors-transiens áramot alig befolyásolta a fluoxetine (< 30 µM). A lassú-transiens áram amplitudóját csökkentette, és felgyorsította a lecsengését. A delayed rectifier áramának amplitudóját szintén csökkentette.

Minthogy a transiens káliumcsatornák nagyobb sűrűséggel a dendritikus régiókban találhatóak, és így a dendritikus integráció fontos elemei. A fluoxetine így módosíthatja ezen folyamatokat, s ez a plaszticitási folyamatokat is befolyásolhatja, mely az antidepresszánsok terápiás hatásának része lehet.

Támogatta: OTKA T037659, T046827

PKC IZOENZIMEK OVEREXPRESSZIÓJÁNAK HATÁSA HACAT KERATINOCYTÁK Ca²⁺-HOMEOSZTÁZISÁRA

Telek Andrea, Gönczi Mónika, Balogh Ágnes, Csernoch László
DEOEC Élettani Intézet

Az intracelluláris Ca²⁺-koncentráció ([Ca²⁺]_i) változása, valamint a protein kináz C (PKC) izoenzimek fontos szerepet játszanak a keratinocyták sejtfolyamataiban. Korábbi kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy a PKC α és δ stabil overexpressziója HaCaT keratinocytákban csökkentette a sejtek proliferációját, míg a β és ε izoenzimek overexpressziója növelte a proliferáció mértékét. Munkánk során arra voltunk kíváncsiak, hogy a PKC izoenzimek hogyan befolyásolják az extracelluláris ATP adására kialakuló Ca²⁺-tranzienst, valamint hogy az esetleges különbségek háttérben milyen eltérő purinoreceptor mintázat állhat az egyes PKC klónok esetében. Az ([Ca²⁺]_i)- szintben bekövetkezett változásokat PTI Delta Scan rendszer segítségével detektáltuk, míg a purinoreceptor expressziós mintázat kimutatására Western blot valamint immuncitokémiai technikát alkalmaztunk.

Kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy a PKC α-t valamint δ-t overexpresszáló sejtek 180 μM ATP adására a kontrollhoz képest megnövekedett Ca²⁺-tranzienssel válaszoltak, míg a nyugalmi ([Ca²⁺]_i) megegyezett a kontroll sejtekével. Ezzel ellentétben a PKC β-t és ε-t overexpresszáló sejtek nyugalmi ([Ca²⁺]_i)-ja emelkedett volt a kontrollhoz képest, míg 180 μM ATP adására csökkent Ca²⁺-tranzienssel válaszoltak. Ennek háttérben az ATP receptorában, azaz a különböző purinoreceptorokban levő eltérő mintázat állhat: a PKC α-t overexpresszáló, csökkent proliferációjú sejtekben az ionotrop P2X7 receptor fokozott expressziója volt kimutatható, míg a PKC β-t overexpresszáló, fokozott proliferációjú keratinocytákban a metabotrop P2Y2 receptor szintje emelkedett meg.

Eredményeinket összefoglalva azt állapíthajtuk meg, hogy a PKC izoenzimek fontos szerepet játszanak a purinerg stimulusra adott Ca²⁺-tranzien kialakításában és ennek háttérben a PKC klónok eltérő purinoreceptor-mintázata állhat.

RIANODIN RECEPTOR (RYR) - P2X7 PURINOCEPTOR KÖLCSÖNHATÁS SZEREPE A MALIGNUS TRANSZFORMÁCIÓBAN

Deli Tamás, Ruzsnaszky Olga, Szigeti Gyula Péter, Tóvári József, Kenessey István, Tímár József, Csernoch László

DEOEC Élettani Intézet

A melanoma sejtek kalciumhomeosztázisának vizsgálata igen intenzív kutatások célpontja lett, amióta kimutatták a Wnt jelátvitel jelentőségét a melanoma malignum kialakulásában. Az elvégzett genetikai és funkcionális vizsgálatok rámutattak a különböző kalciumcsatornák jelentőségére a melanociták malignus transzformációjában. A bemutatásra kerülő munkában különböző módszerekkel, úgymint microarray analízissel, PCR-ral, DNS-szekvenálással, valamint immuncitokémia felhasználásával egyértelműen kimutattuk, hogy humán melanoma sejtek a 2-es típusú rianodin receptor (RyR2) és a P2X7 purinerg receptor fehérjét overexpresszálják melanocitákhoz képest. Előbbi receptort funkcionálisan inaktívnak találtuk fluoreszcens kalciummérési vizsgálatainkban, míg az utóbbi farmakológiailag is egyértelműen azonosítható volt. Meglepő módon azonban a RyR2 agonista rianodin csökkenti a P2X7 receptoron keresztül kialakuló, extracelluláris ATP kiváltotta kalciumválaszok nagyságát. Ez a felismerés azért tarthat számot további érdeklődésre, mert a P2X7 purinoreceptort már régóta olyan kalciumcsatornának tekintik, mely fontos szerepet tölt be a sejtek apoptóziskaskádájának beindításában. Ennek ellentmondani látszanak áramlási citometriás méréseink, melyek szerint ATP-vel és analógjaival melanoma sejtvonalakon in vitro antiapoptotikus hatás érhető el, ugyanakkor a P2X7 antagonista ZnSO₄ in vitro pro-apoptotikus és pro-nekrotikus. Immundeficiens SCID egerekben in vivo alkalmazva a ZnSO₄-et az intrasplenícusan bejuttatott melanomasejtek májmetastasisainak száma szintén szignifikánsan alacsonyabb volt a kontroll állatokban tapasztaltakhoz képest. Megfigyeléseink alapján valószínűsíthető, hogy a kórosan overexpresszálódó diszfunkcionális RyR2 és a farmakológiailag normofunkciós P2X7 receptor melanomában egymással kölcsönhatásba kerül és ezen, először általunk vizsgált, kölcsönhatás a P2X7-en keresztül megvalósuló szignalizáció módosításával elősegíti a daganatsejtek túlélését.

TALK-2 K⁺ CSATORNA MRNS KIMUTATÁSA FAGOCITA SEJTEKBEN

Bihari P^{1,2}, Czirják G¹., Sirokmány G¹., Ligeti E¹. és Enyedi P¹

Semmelweis Egyetem Élettani Intézet¹, Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet²

A fagocita sejtek baktérium-ölő mechanizmusában központi szerepet játszik a NADPH oxidáz működése, ami negatív töltésű szuperoxid ionok képződéséhez vezet. E folyamattal együtt jár, hogy elektromos potenciál- és pH különbség jön létre a fagoszóma membrán két oldala között. Segal és munkatársai felvetették, hogy a NADPH oxidázon keresztüli töltésvándorlást H⁺ ionok mellett K⁺ ionok beáramlása kompenzálja. Mivel a membránpotenciál által kevésbé szabályozott 2P K⁺ csatornák több képviselőjének a működését is befolyásolja a pH változása, megvizsgáltuk, hogy e család tagjai közül expresszálódik-e valamelyik fagocita sejtekben.

A 2P K⁺ csatornáknak megfelelő mRNS-eket RT-PCR-rel mutattuk ki. Intron-spanning primer párokat terveztünk TREK-1, TREK-2, TRAAK, TALK-1, TALK-2, TASK-3, TWIK-2 2P K⁺ csatornák szekvenciájára oly módon, hogy az esetleges DNS szennyeződés ne befolyásolja a specifikus cDNS kimutatását. PCR-t végeztünk nem frakcionált fehérvérsejt, sűrűség grádienssel (Ficoll) tisztított granulocita, valamint differenciálatlan- és dimezil-formamiddal differenciált PLB-985 fagocita sejtvonal totál RNS-éből. A differenciált illetve differenciálatlan PLB-985 sejtek TALK-2 mRNS mennyiségét GAPDH mRNS-hez viszonyítva real time PCR-rel is meghatároztuk.

Fehérvérsejtek, granulociták és PLB-985 differenciált sejtek mRNS-éből kiindulva PCR termék volt amplifikálható TALK-2 K⁺ specifikus primerekkel. Ezzel szemben differenciálatlan PLB-985 sejtekben TALK-2-t nem tudtuk kimutatni. A differenciálódás hatására létrejövő TALK-2 mRNS változást real time PCR segítségével is igazoltuk. TWIK-2 K⁺ csatornára specifikus primerekkel PCR terméket kaptunk fehérvérsejt és granulocita cDNS-ből, de sem differenciált, sem differenciálatlan PLB sejt cDNS-ből nem volt minden esetben PCR termék amplifikálható. Fehérvérsejt RNS-ből kiindulva TREK-1, TREK-2, TRAAK, TALK-1, TASK-3 K⁺ csatornákra specifikus primerekkel végzett RT-PCR során nem kaptunk terméket.

Irodalmi adatok szerint a TALK-2-t alkalikus pH, valamint reaktív oxigén gyökök aktiválják. Ezért e csatorna (különösen differenciáltságtól függő) expressziója fagocitákban, a fagoszóma membránpotenciál változásának kiegyenlítése szempontjából különös érdeklődésre tarthat számot.

AMILOID B 1-42 ÁLTAL INDUKÁLT GÉNEXPRESSZIÓS VÁLTOZÁSOK VIZSGÁLATA PATKÁNY AGYKÉREGBEN

Z. Kis.^{1,3}, Zs. Penke², B. Penke¹, L. Puskás³

¹ Orvosi Vegytani Intézet, Szegedi Tudományegyetem, Magyarország

² Összehasonlító Élettani Tanszék, Szegedi Tudományegyetem, Magyarország

³ Funkcionális Genomika Labor, Szegedi Biológiai Központ, Magyarország

Az Alzheimer-kór napjaik egyik leggyakoribb neurodegeneratív betegsége, amely kialakulásának fő okozója a hibás enzimatis hasítások során létrejövő amiloid β peptid. Az amiloid β képződése után különböző aggregáltsági fokot elérve igen sokrétű és szerteágazó hatás spektrummal képes a neuronok fiziológiás működésének megzavarására.

Kísérletük során patkány agyba amiloid β 1-42-t injektáltunk a 3. agykamrába, majd 72 óra időtartamig inkubáltuk. Ebből totál RNS izolálása után reverz transzkripcióval cDNS-t állítottunk elő, amit DNS csipre vittük fel, majd QRT-PCR alkalmazásával vizsgáltuk meg az egyes gének expresszióbeli változásait.

Kísérletük során tapasztalt génváltozások rámutattak az amiloid β több hatására: az amiloid plakkok közelében glia sejtek aktivációja következett be, míg további gének működésében bekövetkezett változások a szinaptikus rendszer, és az ubiquitin-proteaszóma rendszer fiziológiás állapotának megváltozását jelezik.

PKC-VEL TÖRTÉNŐ FOSZFORILÁCIÓ HATÁSA A P190 RHOGAP SZUBSZTRÁTSPECIFICITÁSÁRA

Lévay Magdolna, Ligeti Erzsébet

Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet

A p190 RhoGAP a Rho és Rac kis G fehérjék szabályozásában szerepet játszó GTP-áz aktiváló protein, mely in vitro mérések szerint egyes foszfolipidek hatására megváltoztatja a szubsztrátspecificitását: fokozódik a RacGAP aktivitása és csökken a RhoGAP aktivitása. Korábbi vizsgálatainkban azt találtuk, hogy a lipidregulációért a p190 RhoGAP C-terminális, 1191-ös és 1252-es aminosavak közti - GAP domain előtti - szakasza tehető felelőssé. Ugyanitt PKC-vel történő foszforiláció is megfigyelhető.

Célunk, hogy feltérképezzük, mely aminosavakon foszforilálja PKC a p190 RhoGAP molekulát, ill. változik-e a foszforiláció hatására a lipidreguláció.

A p190 RhoGAP C-terminális fragmensének (E1191-L1499) három mutánsát állítottuk elő GST-fúziós fehérjeként, amelyekben a két feltételezett foszforilációs helyet alaninra cseréltük: p190(1191)S1221A, p190(1191)T1226A, p190(1191)S1221A-T1226A.

A GTP-áz aktiváló hatást ³²P-GTP hidrolízisével mértük.

A vad típusú p190(1191) és a p190(1191)S1226A konstruktnál phosphatidylserine (PS) hatására jelentős RacGAP aktivitás fokozódás volt megfigyelhető, mely PKC-vel történő foszforiláció esetén szignifikánsan csökkent. A p190(1191)T1226A és a kettős mutációt tartalmazó p190(1191)S1221A-T1226A konstruktoknál a PS kisebb mértékben fokozta a GAP aktivitást, és ezt a lipidhatást foszforiláció nem csökkentette.

Méréseink szerint a p190 RhoGAP 1226-os threoninja nemcsak PKC foszforilációs hely lehet, hanem szerepet játszhat a molekula PS hatására létrejövő RacGAP aktivitás fokozódásában is.

AZ ENDOSZÓMÁLIS LOKALIZÁCIÓJÚ P50RHOGAP, MINT LEHETSÉGES KAPCSOLAT A RAB ÉS RHO GTP-ÁZOK JELÁTVITELI FOLYAMATAI KÖZÖTT

Sirokmány Gábor, Szidonya László, Káldi Krisztina, Gáborik Zsuzsanna, Ligeti Erzsébet, Geiszt Miklós

Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet

Rho GTPázok számos különböző sejt folyamatban vesznek részt, mint például a sejtmozgás, génátírás, membránforgalom, szuperoxid termelés. A humán genom adatai alapján a Rho GTPázok számát 20-25 közöttire becsülhetjük, ugyanakkor szabályozó fehérjék száma, mint pl. a kicserélő faktorok és a GTPáz aktiváló proteinek (GAP), legalább háromszorosa ennek. Ez a különbség azt sugallja, hogy egy GTPáz minden egyes sejten belüli funkcióját egy bizonyos szubcelluláris környezetben a szabályozó fehérjék egy adott, külön csoportja irányítja. Az ilyen szabályozó molekula komplexek kialakulása fehérje-fehérje és fehérje-lipid interakciókon keresztül jön létre.

Célunk az ubiquitter expressziójú p50RhoGAP fehérje tanulmányozása volt, mely N-terminálisan tartalmaz egy igen érdekes, ismeretlen funkciójú Sec14 homológ domént. A sejten belüli lokalizáció megállapításához poliklonális antitestet termeltettünk a fehérje ellen és GFP-fúziós formáját állítottuk elő. Azt találtuk, hogy erős kolokalizációt mutatott a korai és a reciklizáló endoszóma markerekkel (transzferrin-receptor és Rab11) és ezt a lokalizációt egyértelműen a Sec14 homológ domén határozta meg. A p50RhoGAP és a Rab11 között mért biolumineszcens rezonancia energia transzfer alapján úgy tűnik, hogy az endoszómális membránokon molekuláris komplexet képez a Rab11 kis G fehérjével és ez a kapcsolat is a Sec14 doméntől függ. Mindazonáltal – in vitro GTPáz méréseink alapján – a p50 egyértelműen nem hat GAP-ként a Rab fehérjékre. Eredményeink szerint a p50RhoGAP kapcsolatot teremthet a Rho és Rab család GTPázai között. Az endoszómális membránforgalomban részt vevő fehérjék funkciójának tanulmányozására széles körben alkalmazott a transzferrin felvétel és reciklizáció mérése, ezért fluoreszcens transzferrin assay-eket alkalmaztunk abból a célból, hogy a p50RhoGAP overexpressziójának hatásait vizsgáljuk az endoszómális körforgás folyamataiban.

Összefoglalva eredményeink a GTPáz aktiváló fehérjék egyéb doménjeinek jelentőségét hangsúlyozzák, melyek meghatározóak lehetnek a GAP aktivitás tér- és időbeli szabályozásában.

ROLE OF NUCLEOTIDES AND PHOSPHOINOSITIDES IN THE STABILITY OF ELECTRON AND PROTON CURRENTS ASSOCIATED WITH THE NADPH OXIDASE IN HUMAN EOSINOPHILS

Gábor L. Petheő^{1,2}, Nathalie C. Girardin¹, Nicolas Goosens¹, Gergely Z. Molnár¹ and Nicolas Demaurex¹

¹Department of Cell Physiology and Metabolism, University of Geneva Medical School, ²Department of Physiology and Laboratory of Cellular and Molecular Physiology, Semmelweis University, Faculty of Medicine

The phagocytic NADPH oxidase (phox) move electrons across cell membranes to kill microbes. The activity of this lethal enzyme is tightly regulated, but the mechanisms that control phox inactivation are poorly understood for lack of appropriate assays. The phox generates electron currents, I_e , that are associated with inward proton currents, I_H . To study the inactivation of the phox and of its associated proton channel, we determined which soluble factors can stabilize I_e (induced by the addition of NADPH) and I_H (initiated by small depolarizing voltage steps) in inside-out patches from phorbol 12-myristate 13-acetate activated human eosinophils. I_e decayed rapidly in the absence of nucleotides ($\tau \sim 6$ min) and was maximally stabilized by the combined addition of 5 mM ATP and 50 μ M of the non hydrolysable GTP analogue GTP γ S ($\tau \sim 57$ min), but not by either ATP or GTP γ S alone. I_H also decayed rapidly and was stabilized by the ATP/GTP γ S mixture, but maximal stabilization of I_H required further addition of 25 μ M phosphoinositide(3,4)bisphosphate, PI(3,4)P₂, to the cytosolic side of the patch. PI(3,4)P₂ had no effect on I_e and its stabilizing effect on I_H could not be mimicked by other phosphoinositides. Reducing the ATP concentration below millimolar levels decreased I_H stability, an effect that was not prevented by phosphatase inhibitors but by the non-hydrolyzable ATP analogue ATP γ S. Our data indicate that the assembled phox complex is very stable in eosinophil membranes if both ATP and GTP γ S are present, but inactivates within minutes if one of the nucleotide is removed. Sustained activation of the oxidase-associated proton channel does not appear to involve phosphorylation but ATP binding, and requires not only ATP and GTP γ S but also PI(3,4)P₂, a phospholipid known to anchor the cytosolic phox subunit p47^{phox} to the plasma membrane.

BÉTA-AMILOID ÉS GLICERALDEHID-3-FOSZFÁT DEHIDROGENÁZ KAPCSOLATÁNAK JELLEMZÉSE

I. Földi¹, D. Simon¹, Y. Verdier¹, L. Fülöp¹, Zs. Penke², M. Szűcs³, B. Penke^{1,4}

¹ Orvosi Vegytani Intézet, Szegedi Tudományegyetem, Magyarország

² Összehasonlító Élettani Tanszék, Szegedi Tudományegyetem, Magyarország

³ Biokémiai Intézet, Szegedi Biológiai Központ, Magyarország

⁴ MTA Fehérje Kutató Csoport, Szeged, Magyarország

Az Alzheimer-kór során nagy mennyiségben termelődő béta-amiloid (A β) peptid, különböző aggregációs formában létezik (monomer, oligomer, protofibrillum és fibrillum). Fiziko-kémiai tulajdonságai miatt a béta-amiloid 1-42 (A β 1-42) különböző formái számos biomolekulához képesek kapcsolódni, úgymint lipidek, fehérjék és proteoglikánok (1).

Egy előzetes munkánk során már bizonyítottuk a fibrilláris A β (fA β) és gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz (GAPDH) specifikus kapcsolatát koprecipitációs kísérleten keresztül. Ez az eredmény megfelel más tanulmányoknak, melyek a GAPDH és amiloid prekursor protein (APP) C-terminálisának (2) és monomer A β (3) kapcsolatát mutatják be. A kapcsolat jellemzését western blott és transzmissziós elektron mikroszkóp (TEM) technikákkal végeztük. GAPDH és fA β közötti kapcsolatot patkány agy homogenizátum szinaptikus plazmamembrán (SPM), mikroszóma (Mi) és mitokondriális (Mtc) frakciójában is sikerült kimutatnunk. GAPDH és fA β kapcsolatát nem befolyásolta nagyobb sókoncentrációk alkalmazása sem. Megvizsgáltuk a GAPDH és fA β 1-40 kapcsolatát is, melynek során kevesebb GAPDH koprecipitált fA β 1-40 peptiddel. A β 1-42 oligomereket használva bizonyítottuk, hogy a GAPDH az A β nem-fibrilláris formáihoz is kötődik.

Mivel a GAPDH glikolízisben betöltött szerepe mellett egyéb más sejtműködésekben is rész vesz (endocitózis, citoplazmatikus mRNS szabályozás, nukleáris tRNS tanszport, DNS replikáció és hibajavítás, illetve apoptózis indukció) indokolt Alzheimer-kórban betöltött szerepének vizsgálata.

AKT/PROTEIN KINÁZ B ÉS PTEN FOSZFATÁZ PATKÁNY UTERUSBAN

Lengyel Ferenc¹, Vértés Zsuzsanna¹, Kovács A. Kálmán³,
Környei L. József¹, Sümegi Balázs², Vértés Marietta¹

*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani¹,
Orvosi Kémiai és Biokémiai Intézet², Szülészeti és Nőgyógyászati
Klinika³*

Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy az Akt (Protein kináz B) patkány uterusban expresszáldódik és aktiválódik. Az Akt aktivitását a PTEN foszfatáz szabályozza azáltal, hogy gátolja az Akt foszforilációját. A PTEN farki régiójának foszforilációjakor inaktiválódik. A PTEN szerepét a PI3K/Akt útvonal szabályozásában patkány uterusban ezidáig nem vizsgálták. Jelen munkánkban az Akt és PTEN proteinek expresszióját és foszforilációjuk mértékét, illetve ezek ösztadiol kezelés hatására bekövetkező változását vizsgáltuk fejlődő patkány uterusban.

A fehérjék expresszióját és foszforilációját Western blotlalt vizsgáltuk.

Az Akt és a PTEN is expresszáldott mind a fejlődő (7 – 35 napos), mind pedig a felnőtt, ovariectomizált állatokban. Az Akt expressziója a kor előrehaladtával fokozódott, míg a PTEN expressziója csökkent. Ösztadiol kezelés (10/100g tt.) nem volt hatással egyik fehérje expressziójára sem. Az Akt foszforilációja az életkor előrehaladtával fokozódott. Ösztadiol hatása az Akt foszforilációjára kortól függő volt. 11 napos patkány uterusban nem befolyásolta, míg a 28 napos, vagy idősebb patkányok uterusában fokozta az Akt mindkét vizsgált csoportjának foszforilációját. A Ser-473 kontroll állatokban is foszforilált állapotban volt, és a foszforiláció mértékét az ösztadiol növelte. Ezzel szemben a Thr-308 foszforilációja csak ösztadiol kezelés után volt megfigyelhető. A foszfo-PTEN szintje nem változott az fejlődés során, azonban aránya a PTEN-hez képest növekedett. Ösztadiol kezelés a PTEN foszforilációját nem befolyásolta egyik vizsgált korcsoportban sem.

A fenti eredmények azt mutatják, hogy a PTEN foszfatáznak lehet szerepe az egyedfejlődés során tapasztalható Akt foszforiláció növekedésben, azonban valószínűleg nem játszik jelentős szerepet az ösztadiol által kiváltott Akt foszforiláció fokozódásában.

A vizsgálatok OTKA T037440 és OTKA T046695 témák keretében történtek.

A NEUTROPHIL GRANULOCYTÁK ELŐAKTIVÁLÓDÁSA ÉS A NA,K-PUMPA UP- REGULÁCIÓJA A SEJTEK PREPARÁLÁSA SORÁN

Hably Csilla, Rada Balázs & Ligeti Erzsébet

Semmelweis Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet, Budapest

Korábbi megfigyeléseink szerint a hagyományos módon preparált neutrophil granulocyták nem tartalmaznak szekretoros vezikulákat. Steril körülmények és pyrogén-mentes víz alkalmazása megelőzte ennek a könnyen mobilizálódó granulom-populációnak a kiürülését.

Jelen kísérletek célja a steril (S) és nem-steril (NS) körülmények között preparált neutrophil granulocyták funkciójának szisztematikus összehasonlítása.

Módszerek: a reaktív szabadgyökök (ROS) termelését chemiluminescens módszerrel, a membránpotenciál változásait fluorescens festékekkel, a baktérium-ölést Rada és mtsai (2004) módszerével mértük.

Eredmények: Az opszonizált *S. aureussal* kiváltott ROS-termelés szignifikánsan magasabb volt az NS mint az S-sejtekben, míg PMA-val történt stimuláció esetén csak mérsékelt a különbség a S és NS neutrofilek ROS termelése között. Az opszonizált *S. aureus* ölése fokozottabb az NS sejtekben. A S és NS sejtek nyugalmi membránpotenciálja nem különbözik, amiből arra következtetünk, hogy a fő ionok vezetőképességének aránya nem különbözik. A Na⁺,K⁺-ATPase ouabainnal történt blokkolása után a depolarizáció szignifikánsan gyorsabban jött létre az NS mint az S sejtekben. A K⁺-mentes médiumban szuszpendált NS sejtekben K⁺ hozzáadása a médiumhoz hyperpolarizációt váltott ki, míg azonos feltételek mellett az S-sejtek membránpotenciáljában nem következett be mérhető változás.

Következtetés: Eredményeink szerint a hagyományos preparálás a neutrophil granulocyták jelentős előaktiválását eredményezi, amelynek következtében nem csak a szuperoxid termelés és a baktérium-ölés fokozódik, hanem a Na,K pumpa is up-regulálódik.

DUOX GÉNEK FUNKCIÓJÁNAK VIZSGÁLATA C. ELEGANSBAN

Orient Anna, Geiszt Miklós

A Duox fehérjék működésük során NADPH oxidálása mellett hidrogén-peroxidot termelnek. Ez a viszonylag instabil molekula számos partnerrel reagálhat. A Duox enzimek legjobban felderített szerepe a pajzsmirigy hormon bioszintézisében van, azonban számos egyéb szövetben is kifejeződnek; ezek egy részében az antibakteriális védekezést szolgálják (pl.: légutak, végbél). Egyéb szerepük lehet jelátviteli utakban ill. az extracelluláris mátrix stabilizálásában. Habár a Duox fehérjékre vonatkozó tudásunk rohamosan bővül, funkcióik pontos molekuláris alapjai, az enzimeket szabályozó ill. az enzimekkel együttműködő fehérjék mibenléte csak részlegesen ismert. Ezen kérdések további tisztázására C. elegans modell organizmust alkalmazunk.

A C. elegans fonálféreg emberhez hasonlóan két Duox génnel rendelkezik. Az átirított fehérjék szerkezetileg mind egymással, mind humán homológjaikkal igen nagy hasonlóságot mutatnak: a C-terminális gp91phox homológ domént két EF-hand motívum, majd egy peroxidáz homológ domén követi.

A férgekben a fehérjék eddigiekben leírt szerepe ditirozinnal kötődik a kutikula stabilizálásához. RNAi kísérletekkel bizonyítottuk, hogy ezért a funkcióért kizárólag a Duox1 gén felelős. Elképzelhető, hogy a Duox fehérjéknek az emberi szervezetben is szerepe van az extracelluláris mátrix stabilizálásában.

A „wormbase” adatbázisban történt kutatásunk során találtunk egy törzset (VC232), mely a Duox1 gén peroxidáz doménjében egy ~800 bp-os deléciót hordoz, azonban felületesen vad fenotípusú. Kísérleteink során (hagyományos és Real Time PCR) bizonyítottuk, hogy a törzs a delécióra heterozigóta. Northern blot ill. Real Time technikákkal azt is kimutattuk, hogy az állatokban a normál mRNS-ből csökkent mennyiség keletkezik. Ennek jelentőségét mutatja, hogy az állatok Duox1 dsRNS-sel történő etetésre érzékenyebbek, mint vad társaik. A törzs egyetlen vad típusú egyedektől eltérő tulajdonsága a drasztikusan csökkent utódszám. Ez az elváltozás lehetővé teszi, hogy információkat nyerjünk a fehérje működéséről. Jelenleg azon dolgozunk, hogy felderítsük, pontosan hogyan vesz részt a Duox1 a fenotípus kialakításában.

EGY ÚJ FEJLESZTÉSŰ ANTI-HTASK-3 ELLENES MONOKLONÁLIS ELLENANYAG ALKALMAZÁSÁVAL KAPOTT, MELANOMA MALIGNUM SEJTEKEN ELÉRT EREDMÉNYEINK

Bakondi Gábor, Kosztka Livia, Pap Pál, Pocsai Krisztina, Rusznák Zoltán

DE OEC, Élettani Intézet

A TASK-3 csatornák a K⁺-csatornák azon legújabbban felfedezett csoportjához tartoznak, melyek két alegységből épülnek fel, és melyek egy alegységében négy transzmembrán domén és két pórusformáló hurok található. A TASK-3-csatornák jelenléte nem pusztán a sejtmembrán nyugalmi K⁺-konduktanciájának beállításában jelentős, hanem fontos szerepet tulajdonítanak neki az apoptózis szabályozásában, valamint a tumorigenezisben is. A TASK-3-csatornák kódoló génszakasz amplifikációját és a fehérjetermék overexpresszióját már több rosszindulatú daganatban is kimutatták. Mindezek tükrében valószínűnek látszik, hogy összefüggés állhat fenn a TASK-3-csatornák jelenléte és a tumorok biológiai, klinikai vagy prognosztikai sajátosságai között. Ezek felderítése azonban egy nagy volumenű retrospektív vizsgálatot igényel, amihez nélkülözhetetlen egy bizonyítottan specifikus, formalinnal fixált preparátumokon is alkalmazható, megbízható és reprodukálható eredményt adó antitest kifejlesztése.

A jelen munkában egy hTASK-3-specifikus monoklonális antitest létrehozásáról és teszteléséről számolunk be. Az antitestet formalinnal fixált, melanomát tartalmazó szövettani metszeteken és sejtenyészeten fenntartott melanoma sejteken egyaránt teszteltük. A reakciók optimalizálása során megkerestük a leghatékonyabb antigénfeltárási technikát. A specifitás ellenőrzése során két másik, poliklonális és a csatorna más epitópját tartalmazó antitestet is alkalmaztunk. Megállapítottuk, hogy a monoklonális antitest által adott reakció és annak megoszlása megfelel a poliklonális antitestek által kapottaknak. Pozitív kontrollként tranziensen transzfektált egér harántcsíktizomból származó, egyébként TASK-3-negatív C2C12 sejteket, valamint stabilan transzfektált HEK-sejteket használtunk. Utóbbi esetben a TASK-3 csatornák jelenlétét elektrofiziológiai módszerek alkalmazásával is megerősítettük. További értékes információt nyújtott az antitest specifitásának vonatkozásában, hogy a TASK-3-specifikus siRNS alkalmazásával a csatorna expressziót gátolva az immunjelölődés csökkenését tapasztaltuk.

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy az új fejlesztésű TASK-3-specifikus antitest specifikus, immunitokémiai és immunhisztokémiai körülmények között egyaránt jól használható, bár formalinnal történő fixálás után szükséges egy hatékony antigénfeltárási reakció alkalmazása is.

A PRESZINAPTIKUS VEZIKULÁRIS CINKTARTALOM VÁLTOZÁSÁNAK GYORS ÉS EGYSZERŰ FLUORESZCENS MÉRÉSE TÚLÉLŐ HIPPOKAMPÁLIS SZELETEN

Hunya Ákos Gábor, Datki Zsolt László, Zádori Dénes,
Penke Botond

SZTE ÁOK Orvosi Vegytani Intézet

Az emlős hippocampusz glutamáterg neuronjainak a CA3 régiójában végződő terminálisai nagy mennyiségű vezikuláris, szabad, ionikus cinket tartalmaznak. Ezen vezikuláris cink, együttesen a glutamáttal, neuromodulátor hatású. Az elektrofiziológiai stimuláció, valamint a kémiai kezelések (pl. KCl) következtében a moharostok preszinaptikus terminálisaiból nagy mennyiségű cink és glutamát ürül a szinaptikus részbe. A cink magas lokális koncentrációjának hatására neuronális apoptózis és extracelluláris béta-amiloid aggregáció indukálódhat. Bizonyos gyógyszerjelöltek teszteléséhez kidolgoztunk egy gyors és egyszerű fluoreszcens módszert, amely segítségével mérni tudjuk a vezikuláris cink gyors kiürülését a preszinaptikus terminálisokból, valamint a cink-kötő kelátorok neuroprotektív hatását. Kísérleteink során túlélő patkány akut hippocampális szeleteket használtunk. Méréseinkhez 96 well-platet, fluoro-plate-readert (mátrix szkennelés) és TFLZn cink specifikus fluoreszcens festéket (vízoldékony, DMSO mentes) használtunk. Az agyszeletek elmozdulását műanyag háló (40 μm Ø) segítségével akadályoztuk meg. E módszer gyorsan és könnyedén alkalmazható a neurodegeneratív betegségek (pl. Alzheimer-kór) cinkkel kapcsolatos élettani jelenségeinek tanulmányozására.

ULTRAMIKRÓ SZÉNSZÁLELEKTRÓDÁK ÉS BIOSZENZOROK FEJLESZTÉSE *IN VIVO* EXTRACELLULÁRIS KÍSÉRLETEKHEZ

Budai D.^{1,2,4} Hencz M.² Horváth K.^{2,4} Szegedi V.^{3,4}, Juhász G.^{3,4} és Gyulai F.²

¹SZTE Juhász Gyula Tanárképző Főiskolai Kar, Biológia Tanszék, 6725 Szeged,
²Kation Európa Bt., 6724 Szeged, ³SZTE Orvosi Vegytani Intézet, 6720 Szeged
és ⁴Dél-Alföldi Neurobiológiai Tudásközpont, 6720 Szeged.

A poliakrilnitril fonalak elszénesezésével nyert elemi szénszálakból kiváló mechanikai és elektromos tulajdonságaiknál fogva alacsony impedanciájú extracelluláris mikroelektrodák készíthetők. Az extracelluláris jelek elvezetése boroszilikátüveg mikrokapillárisok hozzáadásával a kívánt hatóanyagok mikroiontoforetikus ejektálásával kombinálható (ábra). Ez lehetővé teszi az egyetlen neuronon történő *in vivo* mikrofarmakológiai kísérletek kivitelezését. Jelen munkánk célja az általunk bevezetett 7 μm átmérőjű szénszálalás mikroelektrodák (1) további miniaturizálása és újtpusú szigetelőréteg kialakításán keresztül ultramikró bioszenzorok kifejlesztése volt. E célból az üvegszigetelésből 2 mm-rel kitüremkedő szénszálat kb. 100 μm hosszan elektrokémiai úton 2 μm átmérőre vékonyítottuk miközben a hegy mikrométer alatti átmérőben végződik. A szénszálhegyet ezután galvanikus úton aranybevonattal láttuk el melyen aminotiol vegyületekkel önszerveződő (self-assembling) monomolekuláris réteget hoztunk létre. Az elektromos szigetelés és a mechanikai tartást vékony epoxigyanta kémiai kötással történő felvitelével fokozható. Az így kialakított szervesmolekula réteg lehetővé teszi a specifikus reakciókat biztosító enzimek vagy receptorfehérjék a szénfelületen való immobilizálását ami a néhány μm^3 -es térfogatban működő mikrobioszenzorok elkészítését teszi lehetővé. A kísérletek jelenleg is folynak. A poszter a mikroelektrodák készítését és az elektrodák scanning elektron mikroszkópos képeit illetve az *in vivo* elvezetéseket mutatja be.



(1) D. Budai, Zs. Molnár, *Acta Biol Szeged* 2001, 45:65-73,
Web: www.sci.u-szeged.hu/ABS/2001/Acta%20HP/4565.pdf

Támogatók: Gazdasági és Közlekedési Minisztérium GVOP-3.3.1-05/1.-
2005-05-0141/3.0, Budapest, Kation Scientific, Minneapolis, MN USA
és Dél-Alföldi Neurobiológiai Tudásközpont, Szeged.

AZ EPITÉLIÁLIS ÉS MEZENCHIMÁLIS KÖLCSÖNHATÁS IN VITRO MODELLEZÉSE FOGPULPA EREDETŰ DPSC ÉS NYÁL MIRIGY EREDETŰ HSG SEJTEKKEL

Szlávik Vanda¹, Kádár Kristóf¹, Varga Gábor¹, Fazekas Árpád², Vág János¹

¹*Semmelweis Egyetem, Orálbiológiai Tanszék, SE-MTA Molekuláris Orális Biológiai Kutatócsoport, Budapest*

²*Semmelweis Egyetem, Konzerváló Fogászati Klinika, Budapest*

A fogfejlődésben az odontoblastok differenciálódása klasszikus példája egy mesenchymalis és egy hámeredetű sejtréteg kölcsönös, egymást indukáló érési folyamatának. Hipotézisünk szerint egy nyálmirigy eredetű sejtvonal (HSG), amelyik különböző irányú differenciálódásra is képes, helyettesítheti a preameloblastok a fogpapilla mesenchymalis őssejtjeire kifejtett differenciálódást stimuláló hatását.

A folyamat *in vitro* modellezésére humán mezenchimális eredetű fogpulpa sejteket és differenciálatlan nyálmirigy sejteket használtunk. A humán impaktált harmadik moláris fogak pulpájából előállított primer tenyészeteket (DPSC) készítettünk. Az epiteliális sejt ként a HSG sejteket alkalmaztuk. A DPSC és HSG sejteket azonos üveglemezen együtt tenyésztettük az üvegfelületen, illetve extracelluláris mátrix eredetű Mátrigélén.

A DPSC sejtek hosszúkás, fibroblaszt jellegűek az üveg felületén, a HSG sejtek monolayert alkotnak. Az DPSC-HSG együttes kultúrákban (40-40 ezer sejtet ültetve egy négyszögletes üveglemez szemközti oldalára) a HSG sejtek növekedése és morfológiája nem változott. A DPSC sejtek a HSG sejt kultúra irányába migráltak, ránőve a monolayer HSG felületére is. A DPSC sejtek morfológiája megváltozott a HSG felületén, sejttestjük lekerekedett és hosszú nyúlványt képeztek. Kisebb csoportjaik neuronspecifikus β III tubulin fehérjét expresszáltak. Az extracelluláris mátrix eredetű Mátrigél hatására a HSG sejtek acináris struktúrákat alkotnak a tenyésztés 1. napjától. A DPSC sejtek osztódása Mátrigél felszínén leáll, és a sejtek elpusztulnak.

A DPSC és a HSG sejtek együttes tenyésztése a DPSC sejtek morfológiájában, migrációs aktivitásában és fehérjeexpressziójában jelentős változásokat eredményez, míg a HSG sejtekben nem. Az extracelluláris mátrix összetevőket tartalmazó Mátrigél az epiteliális HSG sejteken a differenciációs folyamatokat segítette, míg a mezenchimális DPSC sejtekre nem volt ilyen hatása.

Támogatások: OM (18657/2005), OTKA (042584 és 61543), Wellcome Trust (071268/Z/03/Z), ETT (350/2003).

B₂-MIKROGLOBULIN AMILOID SZÁLAK REVERZIBILIS DISSZOCIÁCIÓJA ÉS A SZÁLAK SZERKEZETI STABILITÁSÁNAK VIZSGÁLATA

Micsonai András, Petrik Éva, Yuji Goto, Kardos József

ELTE TTK Biokémiai Tsz., Institute for Protein Research, Osaka University

Az elmúlt években egyre több betegségről (Alzheimer-kór, Parkinson-kór, stb.) bizonyították, hogy kialakulásuk hátterében bizonyos fehérjék amiloid típusú lerakódása áll. Ezen fehérjék natív szerkezete eltérő, de polimerizációjuk következtében hasonló, kereszt- β -lemezes szerkezetű szálak alakulnak ki. A polimerizáció során a monomerek az amiloid szálak végeire épülnek be és így több μ m hosszú szálak is keletkezhetnek. A folyamatot kiváltó és befolyásoló faktorokról keveset tudunk. Az általunk vizsgált fehérje, a β_2 -mikroglobulin (β_2 m), az MHC-I molekula egyik alegysége, amely monomer formában is megtalálható a vérben. Vesedialízis esetén a terápia következménye képpen koncentrációja sokszorosára nő, és ez amiloid lerakódások kialakulásához vezet az izmokban és ízületekben.

A szálnövekedés *in vitro* is indukálható, amelyet az amiloid szálakhoz specifikusan kötődő Thioflavin-T fluoreszcenciája segítségével követtünk. Az amiloid szálak morfológiáját (alak, méret) atom térérő mikroszkópia (AFM) segítségével tanulmányoztuk. Általános vélekedés szerint az amiloidképződés irreverzibilis folyamat, a létrejött aggregátumok hővel és proteolízissel szemben rezisztensek. Méréseink alapján a β_2 m polimerizációja reverzibilis, a szálak dinamikus egyensúlyt alakítanak ki az őket felépítő monomerekkel. Vizsgáltuk a polimerizáció hőmérsékletfüggését és a keletkezett amiloid szálak hőstabilitását. A β_2 m szálak magas hőmérsékleten monomerekre bomlanak, a hőmérséklet csökkentésével az amiloid szálak ismét megnöveszthetők. Eredményeink azt mutatják, hogy a depolimerizáció során a monomerek szálvégről történő disszociációjával egyidejűleg a szálak törése is bekövetkezik. Nem ismert, hogy milyen faktorok játszanak szerepet a β_2 m amiloidképződésének folyamatában *in vivo*. Módszerünk alkalmas az amiloidképződést befolyásoló anyagok hatásának gyors és egyszerű vizsgálatára, amely közelebb vihet a terápiás célú hatóanyagok kifejlesztéséhez.

RELAXIN TRANSZGENIKUS EGEREK LÉTREHOZÁSA

Gerő Domokos¹, Rosivall László², Mózes Miklós²

¹*Semmelweis Egyetem, ÁOK, Klinikai Kísérleti Kutató és Humán Élettani Intézet*, ²*Semmelweis Egyetem, ÁOK, Kórélettani Intézet*

A "terhességi hormon" relaxin, mint multifunkcionális hormon, a keringési rendszer fontos szabályozója. Szerteágazó fiziológiás és farmakológiai hatásai közül kiemelendő antifibrotikus, vasodilatatív és öregedésgátló hatása. A hormont elsősorban az ovarium termeli, rekombináns formában kereskedelmi forrásból nem szerezhető be, így egyelőre a hosszabb idejű, folyamatos adagolása nem megoldott.

Célunk olyan transzgenikus egérmodell létrehozása volt, mely overexpresszálja a relaxint, hogy ennek hatását in vivo vizsgálhassuk.

A relaxin expresszáására kétféle transzgen konstruktot hoztunk létre. Az első az egér albumin promotor és enhancer elemektől 3' irányban az egér genomiális relaxin szekvenciát és a humán növekedési hormon poliadenilációs szignálját tartalmazza. A másik konstrukt egy Cre/lox rendszerű indukálható transzgen, melyben a relaxin kódoló szekvenciáját megelőzi a zöld fluoreszkáló fehérje kódoló szekvenciája.

A két transzgen konstrukt mikroinjekciója FVB/N oocitákba 36 életképes utódot eredményezett, melyből 3 transzgenikus alapítót azonosítottunk Southern blottal. Mindhárom alapítóból sikeresen hoztunk létre tenyészkolóniát. A transzgenikus egerekben a transzgen expresszióját mindhárom transzgenikus vonalon igazoltuk RT-PCR-rel. Az indukálható transzgenikus egereket EIIa/Cre transzgenikus egerekkel keresztezve sikeresen deriváltunk egy további transzgenikus vonalat, melynek tagjai szintén „konstitutívan” aktív alléllal rendelkeznek. A létrehozott transzgenikus egerek életképesek, jól szaporíthatók, élettartamuk nem rövidebb a vad típusú egerekénél. Szöveti vizsgálatokkal a fenotípusukban nem mutatható ki durva eltérés. Ugyanakkor 3 hetes korban a transzgenikus egerek májának a súlya szignifikánsan magasabb volt, mint a vad típusú egereké, de ez a különbség 5 hetes korban már nem volt megfigyelhető.

Összefoglalásul elmondható, hogy sikeresen hoztunk létre új, relaxin transzgenikus egereket, melyek életképesek, és durva morfológiai eltérést nem mutatnak. Az egerek jól tenyésztethetők és fenntarthatók, így alkalmasak a továbbiakban a transzgenikus relaxin funkcionális vizsgálatára.

A NEW VIDEOMICROSCOPIC METHOD TO STUDY IN VIVO URETER MOVEMENTS OF ANESTHETIZED RATS

Fares Osman^{1,2}, György L Nádasy², Emil Monos², Péter Nyírády¹, and Imre Romics¹

Urológiai Klinika¹ és Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet², Semmelweis Egyetem, Budapest

Irregularities of ureteric peristaltic activity have pathological consequences e.g. in extrinsic or intrinsic ureteral obstructions and side effects of different drugs. In the present paper we describe a novel technic by which the periodic movements of the rat ureter can be directly studied using videomicroscopy. Adult male SD rats, weighing 250-350 gr, anesthetized with sodium pentobarbital (45mg/kg i.p.) were used. The right common carotid artery is cannulated for blood pressure measurement, and the left external jugular vein for infusion of solutions and to introduce drugs. The abdomen is opened with a midline incision in two layers, 7-8 cm long, ending 2-3 mm above the level of the symphysis. Peritoneum over the dorsal abdominal wall is opened and the midportion of the left ureter is prepared free of connective and fat tissues in a length of approximately 17-18 mm by careful micropreparation (Wild M3Z stereomicroscope). The accompanying nerves and blood vessels are left intact. The ventral wall of the bladder is opened in the midline. The left orifice is cannulated by a U-shaped tapering plastic cannula with an outer tip diameter of approximately 200 micrometers. Visualization of urine level movements in the cylindrical part of the plastic cannula marks volume flow as a function of time. The cleared portion of the ureter is encased in a tissue chamber with glass cover and glass bottom designed specially for this purpose. Superfusion with normal Krebs-Ringer solution is applied, locally acting drugs are added to the superfusate. Analog videomicroscopic records of ureteric movements and of fluid levels in the ureteric cannula are made using electromagnetic tape. Changes of outer diameter can be analysed on line using a specifically developed microcomputer. More detailed off-line analysis can be done by digitization of serial pictures and image analysis. Our preliminary observations show that spontaneous in vivo ureteric contractions follow a very complicated pattern, and that axial shortening is at least as important in forwarding the urine bolus as is the circumferential contraction. (Fares Osman MD is a PhD student at the PhD School of the Semmelweis University)

LABIRINTUS IRTÁS ÚJ KOMBINÁLT MIKROSEBÉSZETI-KÉMIAI TECHNIKÁJA PATKÁNYON

Nádasy György L. és Monos Emil

*Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet, Semmelweis
Egyetem, Budapest*

A vénás rendszer gravitációs alkalmazkodási mechanizmusainak vizsgálata szükségessé tette számunkra labirintus irtott patkány modell előállítását. Az irodalomban leírt sebészeti és kémiai technikák körülményessége, bizonytalansága, illetve a megkérdozett szakértők véleménye alapján indokoltnak látszott egy, az eddigieknél hatékonyabb, kombinált mikrosebészeti-kémiai labirintus irtási technika kidolgozása. Nembutal anesthesiában (45 mg/tskg) a parotis hátsó lebenyét megkerülve és azt alapjáról elemelve, a n. facialis hátrafelé futó rostjait megkímélve a m. masseter hátsó szélénél preparálunk a mastoid bullára. Tájékozódásul a m. sternomastoideus piciny fehér eredési ina szolgál. A mastoid bulla hátsó-alsó-oldalsó felszínét a m. sternomastoideus elülső szélénél és az izom alatt preparáljuk tisztára, úgy hogy a n. facialis előre és lefelé futó rostcsoportjait sztereomikroszkóppal azonosítva megkíméljük. A gondos mikrosebészeti föltárást követően a mastoid bullába egy kb. 3-4 mm átmérőjű lyukat fúrunk gyémántporral kezelt 2 mm átmérőjű gömbfejú fúróval. Az állat fejének és a mikroszkóp tengelyének megfelelő pozicionálásával látótérbe hozzuk a mastoid bulla és a középfül közös üregének átellenes felső mediális falán elhelyezkedő csonttarajt, melyet itt a piramis csontban elhelyezkedő cochlea kitüremkedése okoz. Hegyes végű, kb. 1,5 mm átmérőjű gyémánthegejú fúróval a csonttaraj első alsó szegmensébe behatolva, a patkánynál elég erős a. tympanica-t és annak végágát ezzel megkímélve, abba 1 mm-nél nem mélyebb lyukat fúrunk. A lyukon víztiszta folyadék távozik, mikroszkóppal felismerhető a cochlea szerkezete és az alkoholos mosófolyadékban a Corti szerv jellegzetes sejtes törmeléke. Plasztik mikrokannüllel az endo- és perilimfát leszívjuk, és ezt követően kb. 10 mikroliter arzenites oldattal (NaAsO₂, 0,05 mol/lit), pumpáló (szívó-nyomó) mozgással a megnyitott labirintust feltöltjük. A plathysmát és a fasciát, valamint a bőrt két rétegben zárjuk. Fertőzések ellen 60 000 IU Penicillin G-t adunk, i.m. A labirintusirtás megtörténtét neurológiailag (testtartás zavar, nisztagmus, halláskiesés) és post mortem szövettanilag dekalcinált preparátumok sorozatmetszetein ellenőrizhetjük. (OTKA TO 32045, OTKA TO 42670, MÜI-TP-163/2005-2006)

ESTABLISHMENT OF A FUNCTIONAL ASSAY FOR SCREENING ADRENERGIC ALPHA-2C RECEPTOR AGONISTS

Dalma Kurkó, Anikó Gere, Andrea Baki, András Boros, József Nagy,
Zsolt Szombathelyi, Györgyi Ignácz-Szendrei

*Gedeon Richter Ltd., Pharmacological and Drug Safety Research,
Department of Molecular Cell Biology, Budapest
d.kurko@richter.hu*

Adrenergic α_1 , α_2 and β receptors are members of the G-protein-coupled receptor families (GPCRs) mediating physiological responses to adrenaline and noradrenaline. Since GPCRs are major targets for potential therapeutic agents, development of robust, reliable and cost effective functional screening methods for these receptors is in the focus of pharmacological research. The aim of the present study was to develop a new functional assay to study the pharmacology of the α_{2C} type of adrenergic receptors (α_{2C} -AR).

Activation of the Gi-coupled α_{2C} -AR is usually reported as the inhibition of forskolin stimulated cAMP accumulation, although this assay is expensive, time-consuming, and not well suited for high-throughput screening. Although activation of α_{2C} -AR is not linked to calcium mobilization, co-expression of these receptors with chimeric Gq15 proteins containing the five carboxyl-terminal amino acids from Gi alter receptor coupling so that signalling can occur through the Gq pathway generating Ca²⁺-release from intracellular stores.

In order to assess the functional potency of α_2 -AR agonists and antagonists, we established a fluorimetric [Ca²⁺]_i -assay using a cell line stably and constitutively expressing α_{2C} -AR and Gq15 proteins. One clone, which exhibited the highest Ca²⁺ response to α_2 -AR agonist UK14,304, was chosen to examine the pharmacological profiling of recombinant α_{2C} receptors. As part of the pharmacological characterization, we measured the changes in [Ca²⁺]_i due to activation of the chimeric Gq15 coupled recombinant α_{2C} receptors as a function of increasing concentration of several reference agonists (i.e. UK14,304, oxymetazoline, clonidine, moxonidine) and antagonists (i.e. MK-912, yohimbine). Since Gq15 is not a native G-protein, the binding affinities of α_2 -AR agonist and antagonists and the inhibition of the forskolin-stimulated cAMP accumulation in α_{2C} -AR expressing cells were also measured. The results of the radioligand binding assays and cAMP inhibition measurements confirmed that the Gq15/ α_{2C} recombinant system can be useful for modelling the native G_i coupled system.

Our results demonstrate that the plate-reader based fluorescent assay applied for measuring [Ca²⁺]_i is a robust method providing reproducible data. This assay is also suitable for high-throughput α_{2C} -AR agonist screening.

DEVELOPMENT OF A FUNCTIONAL ASSAY WITH CHO CELLS EXPRESSING HUMAN RECOMBINANT mGluR5a RECEPTORS

Marianna Tomic, Sándor Kolok, Krisztina Gál, József Nagy, Zsolt Szombathelyi, *Gedeon Richter Ltd., Pharmacological and Drug Safety Research, Department of Molecular Cell Biology, Budapest*

The excitatory neurotransmitter glutamate acts on two types of receptors: ionotropic and G protein coupled, metabotropic glutamate receptors (mGluRs). In contrast to the iGluRs that are primarily responsible for the fast excitatory synaptic transmission, mGluRs are generally involved in the tuning of synapses. As such, these receptors represent an excellent target for the development of drugs with various therapeutic applications including anxiety, pain, Parkinson's disease, schizophrenia etc. To facilitate the rapid identification and characterization of agents acting on mGluR5 we set up a functional assay based on CHO cells expressing human recombinant mGluR5a receptors.

According to our requirements, a cell line stably and inducibly expressing human mGluR5a receptors was generated at Euroscreen. In the beginning we experienced several problems. Cells were growing very slowly under the recommended culture conditions and showed no signs of receptor expression. Since the receptor activity was lost rapidly in cells expressing the receptor constitutively, it was thought that the function of the Tet-on inducing system was not proper. Thus, to obtain appropriate Ca^{2+} responses the culturing medium was completed with puromycin, the selecting agent used for Tet-on clone selection, and with a special serum devoiding tetracycline. Furthermore, since the amount of the Ca^{2+} signals were still not reproducible after these changes, GPT was also applied to eliminate endogenous glutamate, which could pre-activate the receptor. After optimizing the culture conditions, we validated the mGluR5a $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -assay. Since the mGluR5-mediated $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -response desensitizes within a few seconds, a plate reader fluorometer with an integrated liquid handling capacity was applied. Changes of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in response to DHPG treatment were measured in 96-well plates. Inhibitory activity of several mGluR5 selective reference antagonists, namely M-MPEP, NPS-2390, MPEP and MTEP were also determined.

Our results demonstrate that plate-reader based fluorescence assay applied for measuring $[\text{Ca}^{2+}]_i$ is a robust method, providing reproducible data. This assay may be even suitable for high throughput agonist and/or antagonist screening.

EMBERI KOLECISZTOKININ-1 (CCK1) RECEPTOR POLIMORFIZMUSAINAK VIZSGÁLATA - MÓDSZERTANI MEGALAPOZÁS

Óvári Gabriella¹, Kalmár Orsolya¹, Rácz Gábor², Varga Gábor^{1,2}

¹ *Semmelweis Egyetem -Orálbiológiai Tanszék, Budapest*

² *MTA-SE Molekuláris Orális Biológiai Kutatócsoport, Budapest*

Kérdésfelvetés: A kolecisztokinin (CCK) számos funkciója mellett a CCK1 receptorokon keresztül a belek motilitásának szabályozásában is részt vesz. Feltételezhető, hogy a CCK1 receptor egyszerű nukleotid polimorfizmusai (SNP) szerepet játszanak a CCK hatásában, s így egyes motilitási zavarok kialakulásában. Vizsgálataink a CCK1 receptor tíz különböző pozíciójú bázisának variabilitását célozzák, s választ adhatnak a polimorfizmusok és a GI motilitási rendellenességek közti kapcsolatokra.

Módszerek: Emberi vérből DNS izolálás után a CCK1 receptor polimorfizmusait irodalmi adatok alapján kiválasztott pozícióknál vizsgáltuk mind a promotor, mind a kódoló régiókban. Az SNP-k kimutatásának legegyszerűbb módja a restriktációs fragmentumhossz polimorfizmus (RFLP) technika, melyet 4 vizsgálatnál alkalmaztunk. Egy esetben úgynevezett allél-specifikus PCR technikával mutattunk ki polimorfizmust. A többi potenciális SNP-t direkt DNS szekvenálással tanulmányoztuk.

Eredmények: A GI motilitás szabályozásában elképzelhetően közreműködő CCK1 receptor SNP-k vizsgálati módszereit sikerült optimalizálnunk, emellett egy esetben új kimutatási eljárást dolgoztunk ki. Ennek eredményeként a következő feltételezett polimorfizmusokat tudjuk azonosítani: -388 (GT)8-9, -333G/T, -286A/G, -241A/G, -85C/G, 21 A/G, 201A/G, 246G/A, 365Val/Ile, 779T/C. Előzetes, kis elemszámmal végzett vizsgálatainkban két esetben találtunk jelentősebb variációt, a -85-ös és a 779-es pozíciójú bázisoknál.

Következtetések: Sikeres módszertani optimalizálást végeztünk a CCK1 receptor tíz különböző polimorfizmusának kimutatására, vizsgálatára. Feltehetőleg a fent említett nagyobb variációt mutató SNP-k szerepet játszanak a gasztrointesztinális motilitási rendellenességek kialakulásában. Az általunk kialakított módszertani alapokon szerzett eredmények rávilágíthatnak a CCK1 receptor polimorfizmusoktól függő különböző kezelési stratégiák szükségességére, a páciensek genetikai meghatározottságától függően.

IDEGEN GÉNEK SZÍVIZOM SEJTEKBE VALÓ BEVITELE HERPESZ VÍRUS VEKTORRAL

Prorok János^a, Jost N^b, Kovács PP^a, Kristóf A^a, Virág L^a, Tóth A^a, Ördög B^c, Szabad J^c, Varró A^a, Boldogkői Zsolt^c.

^aFarmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, ^bMTA-SZTE Keringésfarmakológiai Kutatócsoport, ^cOrvosi Biológiai Intézet, SZTE, Szeged.

Kérdésfelvetés: A vírus alapú génbeviteli eljárás új ioncsatorna vizsgálati módszereket tesz lehetővé. Célkitűzésünk volt egy olyan herpesz vírus alapú rendszer kialakítása, amely más módszereknél jóval hatékonyabb. A módszer az ioncsatorna RNS gátlása RNS interferenciával, ami lehetővé teszi egy ionáram ill. alegységfunkció tulajdonságainak indirekt módon történő vizsgálatát. Az ioncsatorna gén expressziójának gátlása vírus vektorral bevitt kis hajtű (sh)RNS-sel oldható meg. A módszer továbbá alkalmas a szívizom sejtekben expresszáltatott fluoreszcens Ca^{2+} szenzorokkal a sejtek Ca^{2+} koncentráció változásának detektálásra. Ehhez meg kell győződnünk, hogy a vírus alkalmas-e a génbevételre és nem változtatja meg a szívizomsejtek normális elektrofiziológiai tulajdonságait. **Módszerek:** A pimer sejt kultúrát, kutyaszív bal kamrából izolált sejtekből készítettük. Kísérleteinkben egy vírus alapú génbeviteli eljárást teszteltünk, amelynek alapja, egy nem humán patogén Aujeszky féle vírus, amit vektorként használtuk fluoreszcens markerek szívizomsejtbe juttatásához, amit fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltunk. A sejtek áramdegradációjában először a tranziens kifelé irányuló áramra (I_{to}) történő hatást mértük, patch-clamp technika egészsejtes konfigurációjában. A Ca^{2+} koncentrációváltozást, fluoreszcens Ca^{2+} szenzort expresszáló sejtekben mértük, fluoreszcens detektáló rendszerrel. A szoftveres regisztráció során, a két csatornán felvett intenzitásváltozást és FRET-et mértük.

Eredmények, következtetések: A génbeviteli módszer hatékonyságát bizonyítja, hogy a sejtek min. 90%-ában volt kimutatható fluoreszcens fehérje expresszió. A sejtek túlélése is megfelelően magas, mert 72 óra után is mérésre elegendő sejtet tartalmazott a sejt kultúra. A patch-clamp kísérletek kimutatták, hogy az I_{to} áram amplitúdója még 72 óra után is 10%-nál kisebb mértékben csökkent a vírussal fertőzött sejtekben a kontrollhoz viszonyítva. Az I_{to} áram kinetikai paraméterei sem változtak szignifikánsan a fertőzött csoportban. A fluoreszcens mérések során, a sejtekben jól detektálható intenzitásváltozást tapasztaltunk. A kísérletek igazolják, (1) hogy a szívizomsejteken alkalmazott új vírus infekciós módszer hatékony, (2) toxicitása nem befolyásolja a tervezett elektrofiziológiai vizsgálatokat, (3) a bevitt fluoreszcens szenzor fehérje funkcionál, FRET reakcióra képes.

GENETIKAI ELTÉRÉSEK AZ I_{K1} ÁRAMOT MEGHATÁROZÓ IONCSATORNA GÉN ÉS FEHÉRJÉ EXPRESSZIÓJÁBAN KÜLÖNBÖZŐ FAJOK SZÍVSZÖVETÉBEN

V. Szűts^a, Z. Varga-Orvos^c, L. Puskás^c, Z. Bódi^a, H. Vajda^a, L. Virág^a, N. Jost^d, Cs. Lengyel^b, P. Biliczki^{a,c}, J. Szabad^c, Gy. J. Papp^{a,d}, A. Varró^a

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,

^aFarmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, ^bI.sz. Belgyógyászati

Klinika, ^cOrvosi Biológiai Intézet, Szeged, ^dMTA Keringés-

farmakológiai Kutatócsoport, ^eSzegedi Funkcionális Genomikai Labor, SZBK, Magyar Tudományos Akadémia, Szeged

A nyugalmi membránpotenciál fenntartásában és az akciós potenciál (AP) késői szakaszának kialakításában játszik szerepet a befelé egyenirányító káliumáram (I_{K1} ionáram). Kialakulásáért a $\text{Kir}2.x$ ioncsatornák felelősek, mely ioncsatornák négy izoformája ismert. Munkánk célja, hogy tanulmányozzuk a befelé egyenirányító káliumáram szerepét a repolarizációs fázisban, humán, kutya, nyúl és tengeri malac kamrai szövetben. Előzetesen kimutattuk, hogy a BaCl_2 igen alacsony koncentrációban, már $10 \mu\text{M}$ jelenlétében az I_{K1} áram szelektív gátlását okozza humán és kutya kamrai szívizomsejtekben. Ezért összehasonlítottuk a BaCl_2 hatását az akciós potenciál időtartamára (APD) vonatkozóan konvencionális mikroelektrod technikával, mind a négy faj jobb kamrai munkaizomzatán. BaCl_2 jelenlétében szignifikánsan megnőtt az APD_{90} érték kutya jobb kamrai izomzatban az egészséges humán kamrai izomzathoz képest, valamint a nyúl és a tengeri malac esetében. Az I_{K1} áram denzitását megmértük patch-clamp technikával is egészsejtes konfigurációban, mindhárom fajban eltérő elektrofiziológia eltéréseket kaptunk. Feltételeztük, hogy az ioncsatornát kialakító $\text{Kir}2.x$ izoformák fajonként eltérhetnek, ezért megvizsgáltuk az I_{K1} áramot kialakító $\text{Kir}2.1$, $\text{Kir}2.2$, $\text{Kir}2.3$ (Alomone, Jerusalem) és $\text{Kir}2.4$ (Santa Cruz) ioncsatorna gének és proteinek expresszióját real-time PCR és Western blot technikával. Mind a négy $\text{Kir}2.x$ K^+ -ioncsatorna mRNS-ei és fehérjei kisebb mennyiségben van jelen egészséges humán kamrai szívizövetben mint a kutyaiban, nyúlban vagy tengeri malacban. A $\text{Kir}2.1$ mRNS expresszió nyúlban sokszorosa a többi fajban talátnak, kutya bal kamrában többszöröse a másik három isoformához képest, míg humánban és tengeri malacban a $\text{Kir}2.1$ és $\text{Kir}2.3$ közel azonos mennyiségben termelődik. A $\text{Kir}2.1$, $\text{Kir}2.2$ és $\text{Kir}2.3$ ion-csatorna proteinek expressziója hasonló.

Kulcsszavak: akciós potenciál, I_{K1} ionáram, K^+ -ioncsatorna, $\text{Kir}2.x$

Munkánk az OTKA (T-037520, T-048698, T-049171) és az OM (Bio-37 KPI) grantok támogatásával készült.

I_{K1} ÁRAMOK GENETIKAI ÖSSZEHASONLÍTÁSA HUMÁN ÉS KUTYA KAMRAI SZÍVSZÖVETBEN

V.Szűts^a, L.Virág^a, Z.Varga-Orvos, L. Csincsik, N. Hausmand, B.Ördög, L.Puskás, N.Jost^c, Cs.Lengyel^b, P.Biliczki^a, J.Szabad^d, J.Gy.Papp^{a,c}, A.Varro^a

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,

^aFarmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, ^bI.sz. Belgyógyászati

Klinika, ^cOrvosi Biológiai Intézet, Szeged, ^dMTA Keringés-

farmakológiai Kutatócsoport, ^eSzegedi Funkcionális Genomikai Labor, SZBK, Magyar Tudományos Akadémia, Szeged, Magyarország

A befelé egyenirányító káliumáram (I_{K1} ionáram) kialakulásáért a Kir2.x ioncsatornák felelősek, mely áram a nyugalmi potenciál fenntartásában és az akciós potenciál (AP) késői szakaszának kialakításában fontos szerepet játszik. A Kir2.x ioncsatornák négy izoformája ismert, melyek tetramer szerkezetben homo- ill. heteromer módon alakítanak ioncsatornákat. Célunk, hogy tanulmányozzuk a befelé egyenirányító káliumáram szerepét a repolarizációs fázisban, kutya és humán kamrai szövetben. Igen alacsony BaCl₂ koncentráció (10 μM) az I_{K1} áram szelektív gátlását okozza humán és kutya kamrai szívizomsejtekben. Összehasonlítottuk 10 μM BaCl₂ hatását az akciós potenciál időtartamára (APD) vonatkozóan konvencionális mikroelektrod technikával, egészséges kutya és humán jobb kamrai izomzaton. BaCl₂ jelenlétében szignifikánsan megnőtt az APD₉₀ érték kutya kamrai izomzatban az egészséges humán kamrai izomzathoz képest. Az I_{K1} áram denzitása patch-clamp technikával mérve 2,65-szörös érték volt kutya kamrai szövetből izolált miocitákban a humánhoz képest. Feltételeztük, hogy az ioncsatornát kialakító Kir2.x izoformák fajoként eltérhetnek, ezért megvizsgáltuk az I_{K1} áramot kialakító Kir2.1, Kir2.2, Kir2.3 (Alomone, Jerusalem) és Kir 2.4 (Santa Cruz) ioncsatorna gének és proteinek expresszióját real-time PCR és Western blot technikával. Mind a négy Kir2.x K⁺-ioncsatorna mRNS-ei és fehérjéi kisebb mennyiségben van jelen egészséges humán kamrai szívszövetben mint a kutyaiban. A Kir2.1 mRNS expresszió kutya bal kamrában többszöröse a másik három isoformához képest, míg humánban a Kir2.1 és Kir2.3 közel azonos mennyiségben termelődik. Mindezek a megfigyelések arra engednek következtetni, hogy eltérően a kutyától, a humán kamrai szívizomban az I_{K1} áram feltehetően csekélyebb szerepet játszik az AP repolarizációs fázisának kialakításában.

Kulcsszavak: akciós potenciál, I_{K1} ionáram, K⁺-ioncsatorna, Kir 2.x

Munkánk az OTKA (T-037520, T-048698, T-049171) és az OM (Bio-37 KPI) grantok támogatásával készült.

AZ AKCIÓS POTENCIÁL MORFOLÓGIA HATÁSA A HUMÁN SZÍVIZOM NÁTRIUM CSATORNÁJÁRA

János Magyar^a, Tamás Bányász^a, Jonathan Satin^b

^aÉlettani Intézet, Debreceni Egyetem OEC,

^bDept Physiology, University of Kentucky, USA

A feszültség-függő nátrium csatorna (Nav1.5) elengedhetetlen a szívizom akciós potenciáljának kialakításában. A Nav1.5 a hosszú depolarizáló impulzusok végén is nyitva van, bár ilyenkor kicsi a megnyílások valószínűsége. Ezt az ionátamot késői nátriumáramnak nevezik. A késői nátriumáram amplitúdója LQT mutáns Nav1.5 csatornák esetén nagyobb mint a vad típusé. Bár az LQT mutáns Nav1.5 csatornákat széles körben vizsgálják, a csatorna elektrofiziológiai sajátosságainak tanulmányozása során négyszög impulzusokat használnak. A Nav1.5 azonban másképpen viselkedik ha egy akciós potenciált használunk ingerlő impulzusként négyszög impulzus helyett.

Kísérleteinkben a Nav1.5 vad típusát (hH1a) és két LQT mutánst (deltaKPQ és N1325S) expresszáltuk HEK293 sejtekben. A csatorna aktiválására három, eltérő morfológiájú akciós potenciált használtunk: humán embrionális szívizom összejt (hES-CM) és kutya epikardiális (EPI) és endokardiális (ENDO) akciós potenciálját. Annak ellenére, hogy az alkalmazott akciós potenciálok időtartama eltérő volt, mind a három aktiválta a korai és a késői nátriumáramot. A legkiseb legkisebb felszálló szár meredekséggel rendelkező hES-CM akciós potenciál alkalmazása során mértük a legnagyobb nátriumáramot. A korai nátriumáram csúcsértékei a következők voltak (hES-CM, ENDO, EPI): hH1a, 5.9±0.6 nA, 2.1±0.3 nA, 2.4±0.4 nA; N1325S, 5.4±0.7 nA, 3.5±0.2 nA, 3.0±0.5 nA. hH1a és N1325S mutánsoknál a késői/korai nátriumáram aránya mindhárom akciós potenciál esetén hasonló volt, ami azt jelenti, hogy a korai nátrium áram amplitúdójának ismeretében megbecsülhető a késői áram amplitúdója.

Eredményeink azt mutatják, hogy létezik egy optimális felszállási szár meredekség amelyiknél a Nav1.5 megnyílási valószínűsége és a nátrium ion hajtóereje maximális nátrium áramot eredményez. Egy átlagos, vagy annál lassab akciós potenciál felszállási szár meredekség maximalizálja a korai és a késői nátriumáram amplitúdóját.

A ROPIVACAIN (NAROPIN) MELLÉKHATÁS PROFILJÁNAK A VIZSGÁLATA EMLŐS SZÍVIZOMSEJTEKEN

Birinyi Péter, Magyar János, Horváth Balázs, Szentandrassy Norbert, Nánási Péter

Debreceni Egyetem, OEC, Élettani Intézet

A ropivacaint (Naropin) a fogászati gyakorlatban helyi érzéstelenítőként használják. Ezen hatástani csoportba tartozó készítmények kardiális mellékhatásokkal rendelkeznek. A ropivacain esetében ezt részletesen nem tanulmányozták, ezért célom az volt, hogy megvizsgáljam ezen gyógyszer hatását a szívizom akciós potenciáljára és az ezt kialakító ionáramokra.

Kísérleteinket kutya bal kamrájából izolált szívizomsejteken végeztük. Az akciós potenciálokat konvencionális mikroelektrod technikával, míg az ionáramokat feszültség-clamp és akciós potenciál clamp technikával mértük 37 °C-on. Megállapítottuk, hogy a ropivacain koncentráció és frekvencia függő módon csökkentette az akciós potenciál amplitúdóját (APA), rövidítette időtartamát (APD) és gátolta a depolarizáció maximális sebességét (V_{max}). A ropivacain gátolta az általunk vizsgált ionáramokat is. A félgátló dózisok (IC_{50}) a következők voltak: tranziens kifelé irányuló kálium áram (I_{to}) $350,15 \pm 38,8$ mikroM, befelé egyenirányító (IK_1) $367,01 \pm 7,0$ mikroM, késői egyenirányító kálium áram gyors komponense (IK_r) $300,35 \pm 27,7$ mikroM, késői egyenirányító kálium áram lassú komponense (IK_s) $89,75 \pm 3,8$ mikroM és L-típusú kalcium áram (ICa,L) $381,85 \pm 33,9$ mikroM.

A Naropin igen hatékony lokál anesztetikum, de eredményeink arra hívják fel a figyelmet, hogy nem szakszerű alkalmazásakor, illetve túladagolásakor a kezelőorvosnak számolnia kell a lehetséges kardiális mellékhatásokkal.

A TRANZIENS KIFELÉ HALADÓ KÁLIUM ÁRAM KAMRAI REPOLARIZÁCIÓBAN BETÖLTÖTT SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA EMLŐS SZÍVIZMON.

Kristóf Attila^a, Kovács Péter^a, Virág László^a, Jost Norbert^{a,b}, Papp Gyula^{a,b}, Varró András^a

^aSZTE Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Szeged

^bMTA-SZTE Keringésfarmakológiai Kutatócsoport, Szeged

Vizsgálataink célja a tranziens kifelé haladó kálium áram (I_{to}) kamrai repolarizációban betöltött szerepének vizsgálata volt. Kísérleteinkben felhasználtuk azt a megfigyelést, hogy a chromanol 293B nem csak a késői egyenirányító kálium áram lassú komponensét (IK_s), hanem nagy koncentrációban ($100 \mu M$) az I_{to} áramot is nagymértékben gátolja. Így a teljes IK_s blokk jelenlétében (L-735,821) az akciós potenciál repolarizációjában és az ionáramokban chromanol 293B hatására létrejött változások a szer I_{to} áramra gyakorolt hatásának tulajdoníthatók.

$100 \mu M$ chromanol 293B $100 nM$ L-735,821 jelenlétében (teljes IK_s blokk) pozitív frekvencia-függő módon nyújtotta a repolarizációt gyors, míg fordított frekvencia-függő módon lassú ingerlési frekvenciánál, kutya kamrai munkaizomban. Izolált kutya kamrai miocitákon az áram inaktivációs kinetikája biexponenciális volt (gyors fázis: 3.89 ± 0.13 ms, amplitúdó: 2222 ± 239 pA; lassú fázis: 23.5 ± 2.5 ms, amplitúdó: 172 ± 33 pA; $n=12$, teszt potenciál: $20 mV$). Az inaktivációból való visszatérés kinetikája szintén biexponenciálisnak bizonyult (gyors fázis: 15.6 ± 2.4 ms, amplitúdó: 50.5 ± 2.8 %; lassú fázis: 68.7 ± 15.5 ms, amplitúdó: 49.5 ± 2.7 %; $n=9$). Az inaktivációs és aktivációs görbék kismértékű átfedése a 0 és $-40 mV$ közötti potenciáltartományban felveti annak lehetőségét, hogy ezen ioncsatornák egy kis hányada ebben a potenciáltartományban reaktiválódhat (I_{to} "window" áram). Az I_{to} áram lefutását az akciós potenciál plató és repolarizációs fázisa alatt úgy határoztuk meg, hogy megmértük a chromanol 293B szenzitív áramot kutya szívből izolált bal kamrai miocitákon, egy akciós potenciál hullámformát alkalmazva parancsjelként. Megállapítottuk, hogy az I_{to} áram a plató fázis alatt és a repolarizáció késői szakaszában jelentékeny repolarizáló áramot szállít.

Kísérleteink alapján arra következtetünk, hogy a tranziens kifelé haladó kálium áram nemcsak közvetett módon, a plató fázis potenciáljának modulálásával, hanem közvetlenül is befolyásolhatja a kamrai munkaizom repolarizációját a szívben.

A BEFELÉ EGYENIRÁNYÍTÓ KÁLIUMÁRAMNAK (I_{K1}) A REPOLARIZÁCIÓBAN JÁTSZOTT SZEREPÉNEK AZ ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA EMLŐSSZÍVEKBEN.

Kovács PP^a Jost N^b, Virág L^a, Szűts V^a, Lengyel C^c, Biliczki P^a, Nagy. ZsA^a, Seprényi Gy^d, Szabad J^d, Papp Gy^{a,b}, Varró A^a

^aFarmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, ^bMTA-SZTE Keringéssfarmakológiai Kutatócsoport, ^cI sz. Belgyógyászati Klinika, ^dOrvosi Biológiai Intézet, Szegedi Tudományegyetem

Munkánk célja az volt, hogy tanulmányozzuk a befelé egyenirányító káliumáramnak (I_{K1}) a kamrai repolarizációban betöltött szerepét humán, kutya és nyúl kamrai szívműködésben. Korábban megállapítottuk, hogy a $BaCl_2$ kis koncentrációban (10 μM) szelektíven gátolja az I_{K1} áramot kutya kamrai miocitán. Ezért, 10 μM $BaCl_2$ -nak az akciós potenciál időtartamára (API) gyakorolt hatását vizsgáltuk kutya, nyúl és egészséges humán jobb kamrai papilláris vagy trabeculáris izmon a konvencionális mikroelektrodtechnika segítségével. $BaCl_2$ (10 μM) szignifikánsan jobban nyújtotta az API-t kutya és nyúl papilláris izmon mint egészséges humán donor szívből nyert kamrai munkaizom preparátumokon (17.9 $\pm$ 2.1 % kutyában, 18.6 $\pm$ 4.3% nyúlban és 4.8 $\pm$ 1.5 % humán, n=3-11). Ezek az adatok jól egyeznek a patch-clamp technika egészséges konfigurációban végzett I_{K1} áramdenzitás mérések eredményeivel kutya, nyúl és humán donor szívből izolált kamrai miocitákon. -60 mV potenciálon mérve az I_{K1} denzitás kutyán (1.72 $\pm$ 0.07 pA/pF, n=21) és nyúlban (2.47 $\pm$ 4.3 pA/pF, n=5) jóval nagyobb volt, mint a humán kamrai szívműködésben (0.65 $\pm$ 0.1 pA/pF, (n=28). Összehasonlítottuk és kvantifikáltuk az I_{K1} áram pórúsfarmológiai alfa-alegyeségeket mRNAs és fehérjeszintjeit RT-PCR és Western-blot technikákkal. A mérések során megállapítottuk, hogy Kir2.1, Kir2.2 és Kir2.3 I_{K1} csatorna fehérjék sokkal kevésbé vannak expresszálódva a humán kamrai szívműködésben, mint például a kutyában, ami magyarázatul szolgálhat, hogy a humán miocitákban mért alacsonyabb áramdenzitás miért volt alacsonyabb, mint kutya kamrai szívműködésben. Kísérleteink alapján arra következtettünk, hogy a humán miocitákban a befelé egyenirányító káliumáramnak a kamrai repolarizációban betöltött szerepe kisebb, mint kutya vagy nyúl esetén.

A RÉSKAPCSOLATOKAT ZÁRÓ CARBENOXOLONE GYENGÍTİ A PREKONDITIONÁLÁS ANTIARITMIÁS HATÁSÁT

Papp R.¹, Kovács M.¹, Gönczi M.¹, Seprényi Gy.², Végh Á.¹

¹ SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

² SZTE ÁOK Orvosi Biológiai Intézet

Munkacsoportunk korábbi kísérleteiből ismert, hogy az iszkémiás prekonkondicionálás védelmet biztosít az iszkémia/reperfúzió okozta kamrai aritmiákkal szemben. Mivel irodalmi adatok alapján valószínűsíthető a réskapcsolatok részvétele a védőhatás kifejtésében, jelen kísérleteinkben arra kerestük a választ, hogy a réskapcsolatok zárása hogyan módosítja a prekonkondicionálás antiaritmiás hatását. Kísérleteinket altatott, nyitott mellkasú kutyákban végeztük. A kontroll csoportban a bal coronaria artéria anterior descendens ágát (LAD) 25 percre elzártuk, míg a prekonkondicionált (PC) kutyákban ezt 20 perccel korábban egy 5 perces prekonkondicionáló okklúzió előzte meg. A harmadik csoportban 20 perccel a hosszú iszkémia előtt a réskapcsolatokat szelektíven szétválasztó carbenoxolone-t (CBX) alkalmaztuk 20 perces intracoronáriás infúzióban; a negyedik, CBX+PC csoport állataiban pedig az infúzió utolsó 5 percében került sor a prekonkondicionáló okklúzióra. A kontroll kutyákhoz képest a PC és a CBX kezelés egyaránt szignifikánsan csökkentette a kamrai extraszisztolák számát (263 $\pm$ 76 vs. 49 $\pm$ 12 ill. 66 $\pm$ 17), azonban a CBX+PC csoportban ez az antiaritmiás hatás jelentősen gyengült (170 $\pm$ 35). A réskapcsolatok nyitottságát a szívműködés elektromos impedanciájának mérésével vizsgáltuk, amelyet két paraméterrel, a szövet fajlagos ellenállásával és a fázisszöggel jellemeztünk. A 25 perces iszkémia során a kontroll állatokban az ellenállás meredeken nőtt, a fázisszög pedig csökkent. Ezek a változások PC, illetve CBX kezelés esetén lényegesen kisebbek voltak, viszont a CBX+PC csoportban mind az ellenállás, mind a fázisszög változásai a kontroll értékekhez hasonlítottak. Ezek alapján a szétválasztódás mértéke és az antiaritmiás hatás minden csoportban összefüggést mutatott. A kísérletek végén kivett szövetmintákon hisztológiai és molekuláris vizsgálatokkal is igazoltuk a CBX prekonkondicionáláshoz hasonló védőhatását, illetve a védelem gyengülését a kettős kezelés esetén.

Eredményeinkből arra következtettünk, hogy a réskapcsolatok zárása carbenoxolone-nal, vagy prekonkondicionáló okklúzióval antiaritmiás hatást eredményez. Amennyiben ez a záródás erőteljesebb – mint például a PC és a CBX együttes alkalmazása esetén – akkor viszont a védőhatás számottevően gyengül.

A VÁZIZOM TÍPUSÚ RIANODIN RECEPTOR MŰKÖDÉSÉNEK VIZSGÁLATA POSZTMIOKARDIÁLIS INFARKTUSOS ÁLLATMODELLEN

Almássy János, Iuliana Gherasim, Jóna István

DE OEC, Élettani Intézet

MTA-DE Molekuláris Medicina Kutatóközpont

A szívinfarktust követő elégtelen szív működés következtében a perifériás izomzat tömegének és kontrakciós erejének jelentős csökkenése figyelhető meg, mely kialakulásában nem a csökkent fizikai aktivitás játszik szerepet, hanem a harántcsíkolt izomrostok valószínűleg molekuláris szinten változnak meg.

Munkánk során miokardiális infarktuson átesett patkányok vázizmából izolált rianodin receptorokat (RyR1) mesterséges lipid kettősrétegbe építettünk be, és feszültség-clamp körülmények között regisztráltuk a csatornán keresztül folyó áramot.

Eredményeink szerint a beteg állatokból származó rianodin receptorok vezetőképessége 40 százalékkal nagyobb, mint az egészséges patkányokból izoláltaké, valamint a csatornák kalciumérzékenységet jellemző haranggörbe kiszélesedését tapasztaltuk.

A miokardiális infarktuson átesett patkányok vázizom típusú rianodin receptorára egy kardioprotektív szer, a K-201 (JTV519) hatását is vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy a K-201 (JTV519) a rianodin receptort dóziszfüggő módon, kétféle csökkent vezetőképességű, szubkonduktancia-állapotban blokkolja. A szubkonduktancia-állapotok dóziszfüggő, nyitott állapotok eseményszámára normált aránya, és a szubkonduktancia-állapotok nyitott állapothoz viszonyított amplitúdója az egészséges, és a beteg állatokból származó rianodin receptorok tekintetében különbséget nem mutatott.

AZ ADENOZIN DEZAMINÁZ GÁTLÁSA ÁLTAL KIVÁLTOTT INTRACELLULÁRIS ADENOZIN FELHALMOZÓDÁS HATÁSA AZ A₁ ADENOZIN RECEPTOROK VÁLASZKÉSZSÉGÉRE HYPERTHYREOID TENGHERIMALACOK BAL PITVARÁN

Karsai Dénes¹, Zsuga Judit², Pásztor Fanni¹, Jakab Anita¹, Juhász Béla¹, Gesztelyi Rudolf¹, Szentmiklósi József³, Tósaki Árpád¹

¹ Gyógyszerhatástani Tanszék, Debreceni Egyetem, 4012 Debrecen, Pf. 8

² Neurológiai Klinika, Debreceni Egyetem, 4012 Debrecen, Pf. 31

³ Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Debreceni Egyetem, 4012 Debrecen, Pf. 12

Régóta ismert, hogy a pajzsmirigyhormonok (trijódtironin, tiroxin) csökkentik az adenzin és az adenzin-analógok A₁ adenzin receptor (A₁ receptor) által mediált hatásait. Ennek ellenére, a szív adenzinerg mechanizmusait érintő változások hyperthyreosisban viszonylag elhanyagolt területnek számítanak. Jelen kísérleteink célja azon hipotézisünk vizsgálata volt, mely szerint az adenzin dezamináz (ADA) gátlása által létrehozott intracelluláris adenzin-szint növekedés fokozza a myocardialis A₁ receptor jelátviteli hatékonyságát hyperthyreosisban.

Munkánk során a szelektív A₁ receptor agonista N⁶-cyclopentyladenosine-ra (CPA) adott inotrop választ vizsgáltuk oldószér- illetve tiroxinkezelt tengerimalacok bal pitvarán két ADA inhibitor, az erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl)adenine (EHNA) illetve a 2'-deoxycoformycin (pentostatin) jelenlétében.

Eredményeink szerint az ADA gátlás hatására erősödött a CPA hatása, ám ez a növekedés csak a hyperthyreoid pitvarokon volt szignifikáns. Mivel a CPA nem szubsztátja az ADA-nak, a CPA-ra adott válasz erősödése azt jelzi, hogy hyperthyreoid körülmények között az ADA gátlása növeli az A₁ receptorok jelátvitelének hatékonyságát tengerimalac pitvaron. Ezen túlmenően, a hyperthyreoid pitvarokon az EHNA a pentostatinnál szignifikánsan nagyobb mértékben növelte a CPA maximális hatását (E_{max}; efficacy).

Mivel az ADA tengerimalac szívben kizárólag intracellulárisan helyezkedik el, hatását feltehetően az intracelluláris adenzin-szint növekedése mediálja, tehát eredményeink arra engednek következtetni, hogy az intracelluláris adenzin szintjének excesszív emelkedése fokozza az A₁ receptorok szignáltranszdukciójának hyperthyreoid állapotban csökkent hatékonyságát. A cGMP-stimulálta 3',5'-ciklikus nukleotid foszfodiészteráz (PDE2) gátlása, amely az EHNA járulékos hatása, feltehetően hozzájárul az A₁ receptorok fokozott működéséhez EHNA jelenlétében hyperthyreoid körülmények között.

AZ OXIDATÍV STRESSZ SZEREPE AZ ELHÍZÁS KÖVETKEZTÉBEN KIALAKULÓ MIKROVASZKULÁRIS ENDOTHEL DISZFUNKCIÓ KIALAKULÁSÁBAN

Erdei N, Fehér A, Tóth A, Papp Z, Édes I, Koller A, **Bagi Zs**

*Debreceni Egyetem OEC Kardiológiai Intézet, Klinikai Fiziológia
Tanszék, Debrecen, Semmelweis Egyetem, Kórélettani Intézet, Budapest*

Az elhízás gyakran társul magasvérnyomással, amely többek között a rezisztencia erek működésének korai elváltozásaként alakul ki. Feltételeztük, hogy elhízás korai fázisában károsodik a mikroerek endothel-függő dilatációja, melynek hátterében vaszkuláris oxidatív stressz áll.

Kísérleteinkben normál (kontroll) és 10 hétig magas zsírtartalmú diétán tartott (HFD) hím Wistar patkányokat használtunk. A HFD állatokra magasabb testtömeg, emelkedett vérnyomás, vércukorszint értékek, valamint hyperinsulinemia és hypercholesterinemia volt jellemző. A HFD patkányok izolált vázizom arterioláiban (~160 µm) az endothel-függő vasodilatátor acetikolin (ACh) és hisztamin szignifikánsan ($P < 0,05$) kisebb dilatációt okozott a kontroll állatok izolált ereihez viszonyítva (kontroll, ACh, max: $90 \pm 2\%$; hisztamin: max: $46 \pm 4\%$, HFD, ACh: $83 \pm 3\%$; hisztamin: $16 \pm 4\%$). A NO donor nitroprusszid nátrium hatására kialakuló vazodilatáció mértéke nem különbözött a két csoportban. A NO szintáz gátló L-NAME jelenlétében a kontroll erekben az ACh és hisztamin hatására kialakuló dilatáció csökkent, azonban a HFD állatok érválaszai nem változtak. A HFD erekben az ACh és hisztamin-kiváltotta dilatáció szignifikáns mértékben fokozódott a szuperoxid-diszmutáz-mimetikum Tiron, és a xantin-oxidáz gátló allopurinol jelenlétében. Továbbá a HFD állatok carotis ereiben a lucigenin-chemiluminescenciával detektálható xantin-oxidáz eredetű szuperoxid-termelés fokozódott. Továbbá, immunhisztokémiai vizsgálatok során fokozott xantin oxidáz immunfestés volt kimutatható a HFD állatok gracilis arterioláinak endothel rétegében.

Kísérleteink eredményei alapján feltételezzük, hogy a magas zsírtartalmú diéta hatására megnövekszik a xantin-oxidáz-eredetű szuperoxid termelés, ami a vázizom arteriolákban csökkent NO-mediált, endothelium-függő vazodilatációt eredményez, aminek szerepe lehet az elhízás következtében kialakuló mikrovaszkuláris érdiszfunkció kialakulásában.

SZFINGOZIN-1-FOSZFÁT ÉS CERAMID HATÁSAI AZ ÉRREAKTIVITÁSRA

Ruisanchez É., Örsy P., Németh T., Sándor P., Benyó Z.

*Semmelweis Egyetem, Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani
Intézet*

Gyulladásos folyamatok mediátorai az endotheliumra vagy érsimaizomzatra hatva jelentősen befolyásolhatják a lokális vérkeringést. E mediátorok közül a szfingozin-1-foszfát (S1P) valamint annak előanyaga, a másodlagos hírvivőként is funkcionáló ceramid hatásait vizsgáltuk endothelium-függő és -független érválaszokra.

Felnőtt hím egerekből izolált 3 mm hosszúságú thoracalis aorta szegmentek kontrakciós és relaxációs válaszait határoztuk meg izometriás körülmények között miográfon. A ceramid hatásainak vizsgálatára a sejtmembránon átjutó C₂-ceramidot használtuk.

A nyugalmi értónust sem 1 µM S1P sem 10 µM ceramid nem befolyásolta. Phenylephrinnel prekontrahált erekben azonban az S1P kifejezett dilatációt okozott ($72,9 \pm 11,0\%$), míg a ceramid hatástalan volt. A S1P okozta dilatáció nem volt megfigyelhető endotheliális NO szintáz (eNOS) deficiens egerek ereiben.

Ezután megvizsgáltuk 10 µM ceramiddal ill. annak biológiailag inaktív analógjával (dihydroceramid) történő inkubáció hatásait az érválaszokra. Az erek kontrakciós válaszkészsége 124 mM K⁺-mal, phenylephrinnel és prosztaglandin F_{2α}-val szemben hasonló volt a két csoportban és nem különbözött a kezeletlen erekétől. Az endothelium-függő dilatációs válaszok ezzel szemben jelentősen csökkentek ceramid hatására, míg az NO donor Na-nitroprusszid (SNP) hatása nem változott:

Inkubáció	Ach (10 µM)	Thr (1 U/ml)	ATP (10 µM)	SNP (10 µM)
Dihydrocer.	79,2±3,4	76,8±2,6	40,5±7,4	100,4±3,9
Ceramid	26,6±2,0***	34,6±5,9***	7,3±2,4***	94,1±2,4

Relaxációk a 10 µM phenylephrinnel létrehozott prekontrakció %-ában.

*Ach: acetilkolin, Thr: thrombin, *** $p < 0,001$ vs. dihydroceramid*

Eredményeink szerint az S1P eNOS által közvetített vazodilatációt okoz, míg a ceramid akutan nem hat az értónusra. Ezzel szemben tartós ceramid expozíció rontja az endothelium-függő érválaszokat, míg a érsimaizom konstriktorokkal és NO-val szembeni válaszkészségét nem befolyásolja. Mivel S1P jelenlétében nem alakul ki endotheliális diszfunkció, a ceramid hatását vélhetőleg a vaszkuláris NADPH-oxidázok aktiválódása közvetíti.

Kutatási támogatás: OTKA K62375, T 037885.

VASZKULÁRIS DISZFUNKCIÓ LEHETSÉGES MECHANIZMUSA CUKORBETEG PATKÁNYOKBAN

¹Csányi G., ¹Mezei Zs., ¹Flesch T., ¹Telegdy Gy., ¹Szabó Gy.,
²Leprán I.

SZTE-ÁOK¹ Kórélettani Intézet, ²Farmakológiai és Farmakoterápiai
Intézet, Szeged

A cukorbetegség (DM) jól ismert vaszkuláris szövödményei a makro- és mikroangiopátia, melyeknek a pontos patomechanizmusa nem ismert. A DM-t kísérő anyagcsere változások, a tartós hiperglikémia, a fokozott fehérje glikolizáció és az inzulin-felszabadulás zavarai az érfal elemeinek károsodásában, a vaszkuláris eredetű mediátorok kóros szintézisében és felszabadulásában játszhatnak szerepet.

Kísérletünkben arra kerestük a választ, hogy a vazodilatátor hatású nitrogén monoxid (NO), endoteliális hiperpolarizációs faktor (EDHF) és prosztaciklin milyen szerepet játszanak a kísérletes DM-t kísérő vaszkuláris diszfunkció kialakulásában.

DM-t 180-200 g tömegű hím Sprague-Dawley patkányok egyszeri streptozotocin (65 mg/ttkg, iv.) injekciójával hoztuk létre. Egy, illetve két hónappal a streptozotocin injekciót követően a patkányokból a mellkasi aortát izoláltuk, majd szervfürdőbe helyeztük és farmakológiai módszerekkel vizsgáltuk a vaszkuláris funkciót.

Két hónap elteltével a DM állatok vércukorszintje, glikolizált HbA1c-je és a napi ürített vizelet mennyisége jelentősen fokozódott (tábl.). Kontroll állatokban az indometacinnal (1 μ M) végzett 30 perces inkubálás nem csökkentette az acetilkolin (Ach, 10^{-8} - 10^{-6} M) iránti érzékenységet, ill. az Ach-ra (10^{-5} M) adott maximális relaxációt. Egy hónapos DM állatokban az Ach-nal indukált endotél-függő relaxáció kisebb volt, ez a különbség a második hónapra vált szignifikánssá. Két hónapos DM állatokban Na-nitroprusszid-al (NaNP, 10^{-9} - 10^{-5}) vizsgált endotéliumtól független relaxáció jelentősen csökkent (tábl.). NOS-gátlóval (L-NAME, 300 μ M) és indometacinnal végzett kombinált inkubálást követően EDHF-függő relaxáció nem volt kiváltható.

Következtetésünk szerint 2 hónapos DM állatokban a simaizmok NO-érzékenysége csökkent. Ez szerepet játszhat a DM-t kísérő vaszkuláris diszfunkcióban.

	Vércukor	HbA1c	vizelet	Ach (10^{-5})	NaNP (10^{-8})
	(mg/dl)	(%)	(ml/24óra)	(%)	(%)
Kontr.	30.7 $\pm$ 1	1.6 $\pm$ 0.1	10 $\pm$ 3.6	87 $\pm$ 11	74 $\pm$ 11.5
DM	120 $\pm$ 54*	3.0 $\pm$ 0.2***	46 $\pm$ 8.1***	67 $\pm$ 6.6*	36 $\pm$ 9.4***

Készült az ETT (050/2003), OTKA (T043095) és RET (0814 OMFB 066/2005) támogatásával.

HUMÁN ARTERIA MAMMARIA INTERNA GRAFT FUNKCIONÁLIS ÁLLAPOTÁNAK VIZSGÁLATA

¹Kiss Levente, ¹Benkő Rita, ²Kovács Endre, ³Szeráfin Tamás, ¹Módis Katalin,
¹Kollai Márk, ¹Szabó Csaba, ¹Lacza Zsombor,

¹Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet

²Szív és Érsebészeti Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest

³Szívsebészeti Központ, Debreceni Egyetem, Debrecen

Az a. mammaia graft használata esetén a perioperatív spasmus rontja felhasználásának eredményeit, és a betegek nagy részében oxidatív stressz károsítja az artériákat. A oxidatív sejtkárosodások kialakulásának egyik fő útja a peroxinitrit – poli-(ADP-ribóz)polimeráz kaskád.

Célkitűzés: 1 Milyen hatékonyak a lokális értágítók az izolált ereken? 2 Milyen szerepet játszhat a peroxinitrit- PARP kaskád a humán a. mammaia diszfunkciójában?

Módszerek: A bypass-műtét során érszegmentumokat gyűjtöttünk az a. mammaia disztális végéből. 29 mintát azonnal formalinban fixáltunk, majd immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk. A metszetek morfológiai vizsgálatára hematoxin-eozin festést, a PARP-aktiváció, ill. a nitroztív stressz kimutatására anti-PAR, ill. anti-nitroztirozin antitestet alkalmaztunk. A többi mintából érgyűrű preparátumot készítettünk (n=77), melyeken funkcionális méréseket végeztünk izometriás tenzió mérésével. Fenilefrin, acetil-kolin, valamint nitroprusszid nátrium dózishatás-görbékét vettünk fel 60 perces PARP gátlás előtt és után.

Eredmények: Minden mintában kialakult PARP-aktiváció, mely leginkább az adventitia és a simaizom sejtmagjaiban mutatkozott. A gyűrűpreparátumok vazóaktív tulajdonságai még egyazon betegből származó minták esetén is rendkívüli módon különböztek. A prekontrahtált erek csekély endotél-függő vazodilatációt mutattak, míg ugyanezen erek jól reagáltak a simaizomra ható nitroprusszidra. A PARP gátlószerezrel való kezelés nem javította az acetilkolin válaszkészséget. Az érgyűrűkben gyakran alakult ki nagy amplitúdójú vazomóció (77 érből 37-ben).

Következtetések: Eredményeink szerint az a. mammaia nem rezisztens az arterioszklerózisra, és az oxidatív stressz jelei kimutathatóak a felhasználásra kerülő ereken. Az acetilkolinra adott válasz csökkenése és a gyakori vazomóció arra utal, hogy az értónus szabályozása kóros. Az alkalmazott PARP-gátló kezelés nem volt képes az endotél-függő vazodilatációt javítani. Nitrovazodilatátor alkalmazása jó relaxációt hoz létre és a potenciálisan káros vazomóciót is megszünteti.

FALLOT – TETRALOGIÁS BETEGEKBEN AZ ARTERIA CAROTIS ELASZTICITÁSA CSÖKKENT

Pintér A., László A., Dombi T., Mersich B., Kollai M.

SE, Klinikai Kísérleti Kutató-és Humán Élettani Intézet

Előzmények: A Fallot-tetralógia komplex szívfejlődési rendellenesség, amelynek részét képezi a kamrai szeptumdefektus. Avian modellben ismert, hogy az embrionális fejlődés során a velőcső ugyanazon sejtjei indukálják a kamrák szeptációját, mint a szívközi nagyerek elasztikus lamelláinak fejlődését. Feltételezzük, hogy a kamrai szeptáció és az elasztogenezis humán embrióban is összefüggő folyamatok. A probléma fontosságát hangsúlyozza, hogy az a. carotis elaszticitása a kardiovaszkuláris mortalitás prediktoraként ismert baroreflex-érzékenység (BRS) egyik meghatározó tényezője.

Kérdés: Hogyan változik Fallot-tetralógiás betegekben az arteria carotis tágulékonyasága és a BRS?

Módszerek: Fallot-tetralógiás 8-56 éves betegeket (11 nő, 13 férfi) és életkorban, nemben egyeztetett kontroll alanyokat vizsgáltunk. Az a. carotis átmérőt falmozgáskövető ultrahangos készülékkel, az a. carotisban a vérnyomást tonométerrel mértük, és számítottuk a disztenziabilitási koefficiens (DC). A BRS-t a vérnyomás és a szívfrekvencia spontán ingadozásai alapján határoztuk meg; a vérnyomást az a. radialison mértük folyamatosan (Colin-tonométer).

Eredmények: (átlag $\pm$ SD) Az a. carotisban DC szignifikáns csökkenést mutatott a betegcsoportban a kontrollhoz képest ($4,4 \pm 2,8$ vs. $6,0 \pm 2,7 \cdot 10^{-3}/\text{Hgmm}$). A kardiovagális autonóm indexekben azonban nem volt különbség a csoportok között (BRS $15,5 \pm 11,0$ vs. $16,8 \pm 8,5$ ms/Hgmm).

Következtetés: A Fallot-tetralógiás betegekben tapasztalt csökkent carotis rugalmasság alapján feltételezhető, hogy a kamrai szeptáció és a nagyerek elasztogenezise összefügg, ugyanakkor a baroszenzoros érfal rugalmasságának csökkenése – feltehetően idegrendszeri adaptáció következtében – nem vezet autonóm diszfunkció kialakulásához.

KINURÉNSAV HATÁSA A VÉRLEMEZKÉK EIKOZANOID SZINTÉZISÉRE

Flesch Tímea, Csányi Gábor, Czeiner Ildikó, Telegdy Gyula, Szabó Gyula, Mezei Zsófia

SZTE ÁOK Kórélettani Intézet, Szeged

A kinurénsav a triptofán anyagcsere agyi asztrocitákban szintetizált metabolitja. Képződésük nem-steroid gyulladásgátlóval fokozható. Szerepet játszik a neuroendokrin- és az immunrendszer fiziológiás és patológiai folyamataiban. Neuroprotektív és cerebrovaszkuláris hatását NMDA receptorhoz kötődve fejti ki.

Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy a kinurénsav miként befolyásolja az NMDA receptorral rendelkező vérlemezkék érszűkítő és értágító hatással rendelkező eikozanoidjainak szintézisét?

Sprague-Dawley hím patkányoktól vett vért foszfát pufferrel (pH 7,4) kétszeresére hígítottuk. A centrifugálással nyert vérlemezkéket úgy vettük fel TC Medium 199-be, hogy mintánként $10^8/\text{ml}$ sejtet tartalmazzon. Az eikozanoidok vizsgálatokor a stimulálatlan vérlemezkéket 10^{-8} - 10^{-4} M kinurénsav jelenlétében 37°C -on, 5 percig előinkubáltuk, majd $1\text{-}^{14}\text{C}$ -arachidonsavval ($0,172 \text{ pmol/ml}$) történő 10 perces inkubálást követően az eikozanoidokat etilacetáttal extraháltuk, túlnyomásos vékonyréteg kromatográfiával szeparáltuk. Mennyiségüket (dpm) folyadék-szcintillációs készülékkel határoztuk meg. Az eredmények kiértékeléséhez variancia analízist követően módosított Student t tesztet használtunk. A szignifikancia szint értéke $P < 0,05$.

A kinurénsav koncentrációk mindegyike jelentősen csökkentette a vérlemezkék által szintetizált ciklooxygenáz termékek össz mennyiségét. Legjelentősebb hatást 10^{-5} M alkalmazásakor észleltünk (28024 ± 4203 -ról 17260 ± 1353 -ra csökkent). A lipoxigenáz termékek képződését nem befolyásolta. A ciklooxygenáz termékek közül 10^{-5} M kinurénsav hatására szignifikánsan csökkent az értágító PGD_2 (4816 ± 605 -ről 2822 ± 221 -re), PGE_2 (3687 ± 940 -ról 1807 ± 211 -re), a 12-hidroxi-heptadekatriénsav (6680 ± 1164 -ről 3496 ± 304 -re) és az érszűkítő PGDF_2 (2198 ± 195 -ről 1057 ± 51 -re) mennyisége. Kinurénsav jelenlétében a vérlemezkék érszűkítő tromboxán szintézise viszont nem változott jelentős mértékben.

Eredményeink arra utalnak, hogy a kinurénsav cerebrovaszkuláris hatásait az eikozanoid szintézis modulálásán keresztül fejtheti ki.

Készült az ETT (050/2003), OTKA (T043095), és RET (0814 OMFB 066/2005) támogatásával.

NIKOTIN HATÁSA A VÉRLEMEZKÉK ÉS AZ AORTA EIKOZANOID SZINTÉZISÉRE

Mezei Zsófia, Csányi Gábor, Flesch Tímea, Gecse Árpád, Szabó Gyula
SZTE ÁOK Kórélettani Intézet, Szeged

A kardiovaszkuláris megbetegedések rizikófaktorai közt vezető szerepet játszik a dohányzás. A dohányfüst számos összetevőjéről bebizonyították, hogy károsítja az erek endotélfüggő relaxációját, aktiválja a vérlemezkéket és fokozza a véralvadást.

Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy a dohányfüst egyik fő alkotója, a nikotin *in vitro* (akutan) miként befolyásolja a vérlemezkék és az aorta eikozanoid szintézisét.

Wistar hím patkányoktól (180-200 g) vett vért EDTA (5,8 mM) és glükóz (5,55 mM) tartalmú foszfát pufferrel (pH 7,4) kétszeresére hígítottuk. A centrifugálással nyert trombocita-dús plazmában maradt vörösvértesteket ammónium-kloriddal hemolizáltuk. Izolált és megtisztított hasi aorta darabot (10 mg) 1 ml TC medium 199-be helyeztük. A stimulálatlan vérlemezkéket (mintánként 10^8 sejt/ml TC Medium 199) 5, míg az aortát 10 percig 37 °C-on előinkubáltuk nikotin jelenlétében. $1\text{-}^{14}\text{C}$ -arachidonsavval (0,172 pmol/ml) történő 10, vagy 30 perces inkubálást követően az eikozanoidokat etilacetáttal extraháltuk, túlnyomásos vékonyréteg kromatográfiával szeparáltuk. Mennyiségüket (dpm) folyadék-szcintillációs készülékkel határoztuk meg. Az eredmények kiértékeléséhez variancia analízist követően módosított Student *t* tesztet használtunk. A szignifikancia szint értéke $P < 0,05$.

Az aorta ciklooxigenáz termékeinek összmennyisége már 10 ng/ml nikotin hatására mérséklődött (10347 ± 981 -ről 7701 ± 754 -re), 30 ng/ml nikotin viszont a ciklooxigenáz (6555 ± 512 -re) és a lipoxigenáz metabolitok képződését (9477 ± 667 -ről; 5220 ± 814 -re) egyaránt csökkentette. A ciklooxigenáz termékek közül jelentősen kisebb mennyiségben képződött az értágító hatású prosztaciklin (661 ± 44 -ről 507 ± 21 -re) és a 12-hidroxiheptadekatriénsav (4468 ± 584 -ről 2112 ± 248 -ra). Az érszűkítő és vérlemezke aggregáló eikozanoidok mennyisége nikotin hatására nem változott. Ellentétben az izolált aortán kapott eredményekkel, a vérlemezkék eikozanoid szintézisét az *in vitro* alkalmazott nikotin nem befolyásolta.

A nikotin már akut kezelés során is képes az értágító és vérlemezke aggregációt gátló eikozanoidok szintézisét csökkenteni. Ennek szerepe lehet a passzív dohányosoknál fellépő érbetegségek kialakulásában.

Készült az ETT (050/2003), OTKA (T043095), és RET (0814 OMFB 066/2005) támogatásával.

A DEXAMETHASON ELLENTÉTES HATÁSA A FOKÁLIS HIPOXIÁS-ISZKÉMIÁS AGYÖDÉMA KIFEJLŐDÉSÉRE ÚJSZÜLÖTT ÉS FELNÖTT PATKÁNYOKBAN

Blaszó Gábor¹, Pásztor Mónika², Dombi György², Falkay György¹

Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet¹
Szegedi Tudományegyetem Gyógyszeranalitikai Intézet²

A hipoxiás-iszkémiás agyödéma gyógyszeres terápiája a neurológia egyik megoldatlan kérdése. Bár számos klinikai tanulmányban bizonyították a glükokortikoid terápia előnyös hatásait, a legújabb eredmények azonban igen ellentmondásosak. Állatkísérletekben a glükokortikoidok agyödéma gátló hatása mellett leírták azt is, hogy ezek fokozzák vagy nem befolyásolják az ödéma mértékét, a neurológiai tünetek gyakoriságát és intenzitását, az infarktusos terület nagyságát és az állat túlélését. Vizsgálataink során arra a kérdésre kívántunk feleletet kapni, hogy a dexamethason miként képes befolyásolni 1 hetes és 12 hetes patkányokban a fokális hipoxiás-iszkémiás agyödéma vaszkuláris és citotoxikus fázisát, ill. az antiglükokortikoid mifepriszon képes-e gátolni a szteroid hatásait.

Kísérleteinkben fokális hipoxiás-iszkémiás agyödémát féloldali a. carotis communis lekötéssel és 0.5 – 2 órán át hipoxiás kamrában való tartással váltottuk ki. Az állatokat artéria lekötés utáni 24. órában túlaltattuk, az agyat kipreparáltuk, a féltekéket szétválasztottuk és meghatároztuk azok víz, nátrium-, kálium- és kalciumtartalmát.

Eredményeink azt mutatták, hogy a hipoxiás-iszkémiás féltekében a dexamethason 1 hetes patkányokban jelentősen gátolta a citotoxikus és a vaszkuláris agyödéma kifejlődését, amely hatásokat mifepriszonnal antagonizálni tudtunk. Ezzel ellentétes eredményeket kaptunk 12 hetes állatokban, amelyekben a glükokortikoid szignifikáns mértékben fokozta a hipoxiás-iszkémiás félteke víztartalmát. Azt találtuk továbbá, hogy az egyhetes patkányokban tapasztaltakkal ellentétben a szer nem gátolta, hanem jelentős mértékben fokozta az agy Ca tartalmát, melyet mifepriszonnal nem tudtunk befolyásolni. Ez arra utal, hogy idősebb állatokban a citotoxikus agyödéma fokozó hatás nem a glükokortikoid receptorokon keresztül fejlődik ki. Eredményeink alapján úgy gondoljuk, hogy a citoszol akut szabad kalciumszintjének emelkedése elősegíti a kalcium beáramlást a mitokondriumba, megszüntetve ezzel a mitokondriális membrán potenciált és a normális metabolizmust, mely sejthalálhoz vezet.

PATKÁNYOK IDEGEN KÖRNYEZETRE ADOTT VÁLASZAI MEGHATÁROZZÁK AZ ALFA-2A NORADRENERG RECEPTOR ANAGONISTA GUANFACINE MAGATARTÁSI HATÁSAIT

B Uzsocki, M Tóth, G Vas, L Kovács, T Atlasz, I Hernádi

Pécsi Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Kísérletes Állattani és Neurobiológiai Tanszék, 7624 Pécs, Ifjúság u. 6

A patkányok "open field"-ben, mint idegen környezetben mért lokomotoros aktivitása alapján két csoportot lehet elkülöníteni bármely Wistar tenyészetben. Az új környezetre magasán (HR) és alacsonyan (LR) reagáló patkányok jelentősen különböznek neurokémiai felépítésükben, hormon-, és immunrendszerükben, és néhány farmakonra adott reakcióikban.

Kísérleteinkben vizsgáltuk HR és LR patkányok viselkedési paramétereit operáns kondicionálási feladatban (OC) és emelt kereszt palló esetén (elevated plus maze, EPM). Majd egyéni különbségek azonosítására törekedtünk az alfa-2A receptor agonista guanfacine (GUAN) prefrontális kéregbe történt beadását követően. Korábbi vizsgálatok szerint a GUAN javítja a prefrontális kéreg működéseit, szorongás-csökkentő, így terápiás szerként alkalmazzák poszt-traumás stressz szindrómánál.

Az OC feladatban HR állatok reakcióideje jelentősen rövidebb volt, mint az LReké, de a viselkedés egyéb komponenseiben nem különbözött a két csoport kontrol körülmények között. GUAN hatására hosszabb lett HR patkányok reakcióideje, sőt a GUAN nagyobb dózisa rontották a tanulási rátájukat is. Ugyanakkor LR állatokban GUAN hatására csökkent a reakcióidő, de ez nem volt hatással a tanulási teljesítményekre.

EPM vizsgálatokban HR állatok jelentősebb explorációt mutattak, és GUAN csökkentette szorongásukat. Ugyanakkor GUAN kis és nagy koncentrációi szorongáskeltőnek bizonyultak LR patkányokban.

Vizsgált állat-csoportjaink GUAN-ra adott eltérő válaszai utalhatnak különbségekre a receptor-eloszlásban, és változó noradrenalin szintekre a prefrontális kéregben. Kísérleteink további bizonyítékkal szolgálnak az egyéni különbségek jelentőségére, mint a farmakonok terápiájában megfigyelhető ellentmondások okaira.

A kísérleteket az MTA-PTE Adaptáció-biológiai Kutatócsoport támogatta.

EGY NMDA AGONISTA ÉS EGY NMDA ANTAGONISTA AZONNALI ADÁSÁT KÖVETŐ MAGATARTÁSTOXIKOLÓGIAI VÁLTOZÁSOK VIZSGÁLATA PATKÁNYBAN

Szabó Andrea, Lukács Anita, Vezér Tünde, Nagymajtényi László

SZTE ÁOK Népegészségügyi Intézet, Szeged

A 3-nitropropionsav (3-NP) egy NMDA-agonista mitokondriális toxin, mely szisztémás adagolásban a striatum, a hippocampus és a thalamus degenerációját hozza létre. Az MK-801 egy szelektív nem-kompetitív NMDA-antagonista, mely bizonyos magatartástoxikológiai elváltozásokat hoz létre, ám terápiás alkalmazhatósága is ismert. Az MK-801 feltételezhetően ellensúlyozza a 3-NP neurodegeneratív hatását. Kísérletünkben a 3-NP és az MK-801 kombinációs kölcsönhatását vizsgáltuk.

Wistar patkányoknál 30 perccel a kezelés után figyeltük a spontán locomotors aktivitást, az akusztikus ijesztési reflexet (ASR) és ennek prepulse gátlását, ezen kívül rota-rod tesztet végeztünk. Az első csoportot 20 mg/ttkg 3-NP-val, a második csoportot 0.8 mg/ttkg MK-801-gyel kezeltük intraperitoneálisan. A harmadik csoportot MK-801 i.p. egyszeri adását 30 perccel követő 3-NP egyszeri adagjával injektáltuk a fenti dózisokkal. Ugyanezen két anyag fordított sorrendben került beadásra a negyedik csoportnak. A kontroll csoport i.p. fiziológiás sóoldatot kapott.

Az open-field készülékben a 3-NP csökkentette a horizontális és a lokális aktivitást, míg az MK-801 szignifikáns hiperaktivitást hozott létre. A két kombinációs kezelési sémában nagyfokú hipoaktivitást tapasztaltunk. Az ASR vizsgálatoknál a zaj-pozitív válaszok száma lecsökkent a 3-NP adását követően, ellenben az MK-801 és a kombinációs kezelés után nem történt jelentős változás. A rota-rod eredményekre csak kis mértékben volt hatással a 3-NP, ám azon kezelések alkalmazásával, amikor az MK-801-et önmagában vagy kombinációban adtuk be, a rota-rod tesztet nem lehetett kivitelezni a hipoaktivitás miatt.

Eredményeink tükrében az MK-801 nem védte ki 3-NP neurotoxicitásával olyan mértékben, mint amire számítottunk; amiből arra következtethetünk, hogy az MK-801 nem teljes funkcionális antagonistája a 3-NP-nek, hanem hatásmechanizmusa összetettebb, ám ennek kiderítése további kísérleteket igényel.

A KÖRNYEZETI HŐMÉRSÉKLET HATÁSA A POSTPRANDIALIS HYPERTHERMIÁRA

Pétervári Erika, Garami András, Hartman Mónika,
Jech-Mihálffy Andrea, Székely Miklós
PTE OEC ÁOK Kórleletani és Gerontológiai Intézet

A postprandialis anyagcsere- és testhőmérséklet-emelkedés nem csupán a kalóriabevitel következménye: patkányokban kalóriamentes keverék fogyasztását vagy a gyomrukba preimplantált szondán át törő befecskendezését követően is kialakult (bár nagyobb latenciával mint kalóriadús szuszpenzió esetén) (1). Az eltérő afferens szignálok hatására hasonló efferenciával jelentkeztek a postprandialis változások. A hyperthermiához nem társult vasoconstrictio, döntő az anyagcsere növekedése, amely – bár priméren nem a hőszabályozás érintett – hűvös környezetben hozzájárulhat a homeothermia megtartásához. A környezeti hőmérséklet, ill. a thermalis adaptációs állapot befolyásolhatja a postprandialis hyperthermia kifejlődését.

Hidegadaptált (CA) és nem-adaptált (NA) Wistar patkányokban preimplantált gyomorszondán át adott kalóriadús (FWG = fast weight gain keverék body buildingezőknél) vagy kalóriamentes (BaSO₄) szuszpenzió hyperthermiás hatásának módosíthatóságát vizsgáltuk 48 órás éhezést követően a környezeti hőmérséklet függvényében. Thermoneutralis (25-26 °C CA, 31-32 °C NA éhezett állatoknál) vagy hidegebb hőmérsékleten tartott anyagcserekamrában (10 °C-on CA, 28-30 °C-on NA patkányoknál) elemeztük az anyagcsere és a hőmérsékleti válaszokat. A kontrollok gyomrába azonos térfogatú vizet fecskendeztünk.

Thermoneutralis környezetben a postprandialis anyagcsere- és hőmérséklet-növekedés mértéke hasonló (0,7-0,9 °C), de dinamikája eltérő kalóriadús és kalóriamentes szuszpenzió intragastrikus injekcióját követően (utóbbi 1 órás latenciával fejtette ki hatását). A hatások kifejezettebbek voltak CA patkányokban. Hűvösebb környezetben BaSO₄ adására egyáltalán nem, FWG injekcióját követően csak késéssel jelentkezett a hyperthermia.

A postprandialis hyperthermia és hypermetabolismus csak termoneutrális, vagy melegebb környezetben figyelhető meg, hűvös környezetben energiaforgalom fokozódását elfedi a hideg miatti anyagcsere fokozódás.

1. Göbel Gy., Ember Á., Pétervári E., Kis A., Székely M.: Postalimentary hyperthermia: a role for gastrointestinal but not for caloric signals. J. Therm. Biol., 26: 519-523 (2001)

OREXINEK A KOMPLEX ENERGETIKAI SZABÁLYOZÁSBAN

Balaskó Márta, Pétervári Erika, Garami András, Soós Szilvia,
Székely Miklós
PTE OEC ÁOK Kórleletani és Gerontológiai Intézet

Az elmúlt évek számos vizsgálata bizonyította az orexineknek (hypocretin) a táplálékfelvételben betöltött fontos szerepét. Centrálisan adott orexin-A fokozza a spontán táplálékfelvételt, ill. felerősíti az éhezést által kiváltott re-feeding jelenséget. Állatkísérletekben igazolták az orexineknek a cardiovascularis, alvás/ébredés, endocrin és anyagcsere szabályozásban betöltött szerepét. Felvetődött lehetséges szerepük a hőszabályozásban is.

Jelen vizsgálataink során hidegadaptált (CA) és nem-adaptált (NA) Wistar patkányokban figyeltük meg a centrálisan alkalmazott orexin-A és B táplálékfelvételre és thermoneutralis (NA-30, CA-25°C), ill. hűvös környezetben (NA-20, CA-15 °C) a thermoregulációs gyakorolt hatását.

A táplálékfelvételi mérések során 0, 2, 10, 20 µg dózisú centrális orexin-A és B injekciót követően ad libitum táplált és 24 órát éhezett patkányokban 3 órán keresztül 30 percenként mértük a testtömeg alakulását, ill. a 3. óra végén a táplálékfelvétel nagyságát.

A thermoregulációs analízis részeként regisztráltuk a szabályozható hőmérsékletű anyagcserekamrába helyezett állatok anyagcseréjét, colon (maghőmérséklet) és farokbőr (hőleadás) hőmérsékletét. Teszteltük 10 µg peptid típusú NPY antagonist D-Tyr^{27,36}, DThr³²-NPY(27-36) centrális adagolásának hatását az orexin által indukált hőszabályozási változásokra.

Eredmények: 1. Az orexin-A intracerebroventricularis (ICV) injekcióját követően a kísérleti állatokban (CA, NA) rövidtávon (kb. 30 perc) a spontán táplálékfelvétel, ill. az éhezést által kiváltott re-feeding dózis-dependens növekedése figyelhető meg. Az orexin-B nem növelte sem a spontán táplálékfelvételt, sem a re-feeding hyperphagiát. 2. Hőszabályozási kísérletekben hűvös környezetben az orexin-A 2 µg centrális adagja CA és éhező NA állatokban a beadást követő 30 percen belül az anyagcsere csökkenését és hypothermiát idézett elő, ami termoneutrális környezetben nem volt észlelhető. 3. Az orexin-A hypothermiát okozó hatását NPY antagonist centrális alkalmazása kivédte. 4. Az orexin-B adagolása esetén hypothermiát nem, viszont szignifikáns hyperthermia megjelenését észleltük. 5. Az orexin-A, de nem az orexin-B hatásai energetikai szempontból koordináltak.

Támogatás: OTKA T049321, GVOP-3.2.1.-2004-0271/3.0.

CAPSAICIN KEZELÉS HATÁSA AZ ENDOTOXIN ÁLTAL INDUKÁLT ANOREXIÁRA PATKÁNYBAN

Garami András, Pákai Eszter, Székely Miklós, Pétervári Erika
PTE OEC ÁOK, Kórélettani és Gerontológiai Intézet

Endotoxin (lipopolysaccharid, LPS) adását követően a láz mellett különféle betegség-magatartás tünetek (étvágytalanság, aluszékonyság, szociális viselkedési változások, stb.) is kialakulnak (1).

Korábbi vizsgálatainkban felmerült, hogy a láz kezdetén perifériás idegi tényezők, elsősorban a hepaticus vagus afferens rostjain futó információ is szerepelhet, amit kis dózisu, helyi deszenzitizációt okozó intraperitonealis (i.p.), vagy az idegtörzs károsítását okozó perineuralis capsaicin kezeléssel próbáltunk módosítani. Az i.p. capsaicin-kezelt állatokban a kis dózisu LPS-t a szokásostól eltérő lázgörbe követte: a láz első fázisa (30-60 perccel az LPS adását követően) erősen attenuált volt (2). Perivagalis capsaicin kezelés azonban nem módosította a lázgörbét (3), ami a máj szerepére utal.

Jelen bevezető kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy az LPS által indukált anorexiát befolyásolja-e az i.p., vagy perineuralis capsaicin deszenzitizáció.

Wistar nőstény patkányokat használtunk. Az állatok 2+3 mg/kg capsaicint kaptak i.p., vagy az abdominalis vagus törzset a rekesz alatt 1% capsaicin oldatba áztatott vattával vettük körül 20 perc időtartamra. 5-10 nappal később pp10 kanült implantáltunk a v. jugularisba. Újabb 3 nap után 10 µg/kg E. coli LPS-t adtunk a kanülon át. Ezelőtt az állatokat 24 órán át éhezettük, majd az LPS-el egyidejűleg a táplálékot is visszaadtuk. Ezután 3 órán át félóránként mértük az állatok súlyát, annak növekedése a táplálékfelvétellel korrelált. Az eredményeket a megfelelő kontrollok táplálékfelvételével hasonlítottuk.

Míg a nem-éhezett állatok egyik csoportja sem evett, LPS nélkül mind a capsaicin-kezelt, mind a kontroll állatok hyperphagiásak voltak újraetetéskor. Kontrollokban az LPS-anorexia megakadályozta ezt a hyperphagiát. Az i.p. capsaicin-kezelt állatokban az LPS adás ellenére bekövetkezett a hyperphagia, viszont a perineuralis capsaicin előkezelés nem védte ki az anorexiát.

Adataink arra utalnak, hogy az i.p. capsaicin kezelés nem a vagusrostok deszenzitizálásával, hanem a májban fejt ki a hatását és a lázhoz hasonlóan a májból származnak az anorexiáért felelős ingerek is.

- 1) Szélenyi Z, Székely M: Front. Biosci. 9: 2447-2456 (2004)
- 2) Dogan MD, Patel S, Rudaya AY, Steiner AA, Székely M, Romanovsky AA: Brit. J. Pharmacol. 143: 1023-1032 (2004)
- 3) Pétervári E, Garami A, Pákai E, Székely M: J. Endotoxin Res. 11: 260-266 (2005)

KI A KÖVÉR?

Lelovics Zsuzsanna

Országos Élelmiszer-biztonsági és Táplálkozástudományi Intézet,
Budapest

Kérdésfeltevés: az elhízás és a túlsúly gyakorisága a különböző korú gyermekcsoportokban is és a felnőttek mintáiban is évről évre nő. A kialakult állapotot a megváltozott életmód és az élelmiszeripar hatékony marketingje következményének ítélik. A gyermekkorban kialakult túlsúly és elhízás többek fokozott figyelmet igényel, mert a veszélyeztetett gyermekek többsége felnőttkorában is túlsúlyos/elhízott lesz.

A kritikus testösszetétel meghatározható Cole és mtsai (1) ajánlásai szerint a naptári kornak megfelelő BMI, valamint a becsült relatív testzsírtartalom alapján, vagy például a test zsírtartalmának bőrredők alapján történő becslésekor Parizková (3) eljárási javaslatait követve. Lohman (2) kategorizálása szerint túlsúlyos a 25,0-29,9% közötti testzsírtartalommal bíró, elhízott a 30% testzsírtartalmat meghaladó gyermek. Az antropológiai besorolás, valamint az életmód szerinti besorolás különböző csoportokat eredményez. Ki tekinthető kövérnek?

Módszer: szerző középiskolás tanulókat (n=800) vizsgált, átlagos életkoruk 16,4 év (min. 14,4 év, max. 18,4 év). Mért antropometriai adatok: testmagasság; testtömeg; biceps feletti, triceps feletti, subscapularis, suprailiacalis és alszár bőrredő; humerus-, váll-, térd- és csípőcsőzélesség, mellkaskerület, felkarkerület nyújtva és behajlítva, alszárkerület. Erőnléti vizsgálatok: EUROFIT tesztrendszer. Az abszolút testösszetevők meghatározása Drinkwater és Ross négykomponensű antropometriai módszerével történt. Mindhárom említett módszerrel megtörtént a túlsúlyosak/elhízottak arányának meghatározása (khi²-próba).

Eredmények: a túlsúlyosak/elhízottak aránya a minősítéstől függően jelentékenyen eltérő, a túlsúlyosak relatív gyakorisága a testzsírtartalom alapján magasabb. Az elhízottak aránya 11,4% (F%) és 5,2% (BMI). A három alapon történő kategorizálás különbözőségét tovább árnyalja, ha a fizikai képességeket az adatsorok mellé rendeljük. Talán csak ennek ismeretében jelölhető majd pontos vagy kevésbé pontos minősítés. A BMI számolása egyszerű, elsősorban ezért alkalmas nagy elemszámú minták jellemzésére. A bőrredő-méréssel történő becslések közötti különbségek is gyakran nagyok, azonban az nem vitatható, hogy a bőrredőkben a raktárszír (a testösszetételben ez a kritikus komponens) egyik frakciója (a szubkután) jelenik meg.

AKUT INTERMITTENS PORFÍRIA GENETIKAI HÁTTÉRÉNEK VIZSGÁLATA

Bor Márta¹, Balogh Katalin², Berkes Enikő², Pusztai Ágnes¹, Székely Edit¹, Tasnádi Gyöngyi¹, Hunyady László²

¹MÁV Kórház és Központi Rendelőintézet, Budapest

²Semmelweis Egyetem Élettani Intézet, Budapest

Az akut intermittens porfíria (AIP) autoszomális domináns módon öröklődő megbetegedés, melyet a hidroximetilbilán szintetáz (HMBS) gén mutációi okoznak. A betegséget hordozó egyének korai azonosítása fontos, mert így megelőzhető az életveszélyes akut shub kialakulása. A genetikai szűrés azért szükséges, mert biokémiai módszerekkel gyakran nem azonosíthatók a tünetmentes hordozók. Akut shubon átesett 25 (14 nő, 11 férfi), egymással rokonságban nem lévő betegnél diagnosztizáltunk AIP-ot biokémiai módszerekkel. Az akut shubot okozó külső stresszorok között 9 fiatal nőbetegnél fogamzásgátló tabletta szedése szerepelt. Genetikai analízist végeztünk mind a 25 beteg esetében a HMBS gén 10, 12 és 14-es exonján, melyek a mutációk előfordulásának leggyakoribb helyei. Gyors szűrőmodszereként hőmérsékletgrádiens elektroforézist alkalmaztunk, majd DNS szekvenálással azonosítottuk a genetikai eltérést. 11 betegnél (44%) 7 különböző mutációt találtunk, melyek közül 4 már ismert volt (R167W, R173W, R173Q, Q292X), 3 bizonyult újnak (IVS11-2a>c, nt744del8, nt911delA). A betegség genetikai heterogenitása miatt a népesség genetikai szűrése nehezen kivitelezhető, azonban az AIP gyanúja fel kell merüljön minden esetben, amikor új gyógyszer bevezetését követően hasi fájdalmak jelentkeznek, különösen fiatal nőknél fogamzásgátló tabletta szedése esetén.

A munka elvégzését az ETT 314/2003 számú grant támogatta.

GRANULOCITA-TROMBOCITA KOMPLEXEK MENNYISÉGI VÁLTOZÁSA VÉRTELENSÉGBEN VÉGZETT VÉGTAJMŰTÉTEK SORÁN

Bihari P^{1,2}, Fent J², Lakatos Zs², Schweitzer K², Lojek A³, Ciz M³, Fűrész J², Hamar J¹.

¹Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet, ²MH Egészségvédelmi Intézet,

³Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno

A granulocita-trombocita komplexek kialakulása többek között a granulociták aktiválódását eredményezi. Az aktiválódott granulociták által termelt szabadgyökök viszont jelentős szerepet játszanak az ischémia-reperfúziós károsodás kialakulásában. Ezért vértelenségben végzett végtag műtétek során vizsgáltuk a granulocita-trombocita aggregátumok mennyiségi változását, a granulociták és trombociták aktiválódását valamint az oxidatív stressz paramétereit a szisztémás keringésben.

Vértelenségben végzett végtagműtéten áteső betegektől a könyökvénából a műtét előtt és a műtét után 1, 3, 24 és 48 órával vért vettünk. A citrátos vérmintákból flow cytometriával határoztuk meg a granulocita-trombocita aggregátumok mennyiségét, kemilumineszcenciával a granulociták szabadgyök termelő képességét. A trombociták kollagénnel ill. ADP-vel indukált aggregációs készségét mind teljes vérben, mind trombocita dús plazmában megmértük (14 beteg). Továbbá plazma malondialdehid koncentrációméréssel meghatároztuk a lipidperoxidáció mértékét, és mértük az antioxidáns kapacitást (35 beteg).

A trombocita-granulocita aggregátumok koncentrációja rövid (<40-60 perc) ischémias idők esetében a műtét utáni első órában növekedett, hosszabb ischémias idők esetében csökkenést tapasztaltunk. A granulocita szám emelkedéssel összhangban a plazma malondialdehid koncentrációja a műtét utáni 3. és 24. órában pozitívan, az antioxidáns kapacitás a műtét utáni 24. órában negatívan korrelált az ischémias idő hosszával. A granulociták egy sejtre számított szabadgyök termelő képessége a műtét utáni 24. órában pozitívan korrelált az ischémias idő hosszával. A trombociták aggregációs készségében nem találtunk eltérést.

Az ischémia ideje döntően befolyásolja a trombocita-granulocita komplexek mennyiségét. Az ischémias idővel korreláló granulocita szabadgyöktermelés, malondialdehid koncentráció és antioxidáns kapacitás az ischémias idő hossza és a kialakuló oxidatív stressz közötti korrelációt támasztja alá.

A MEDENCE ASZIMMETRIÁK ÉS A SÚLYVISELÉS

Bornemisza Éva*, Preszneré Domján Andrea*, Barnai Mária*, Nagy Edit*, Horváth Gyöngyi*⁺

*SZTE, EFK, Fizioterápiás Tanszék, +ÁOK, Élettani Intézet, Szeged

Bevezetés: Tanulmányunkban arra kerestük a választ, hogy a medence aszimmetriák és az aszimmetriákhoz társuló esetleges sacroiliacalis (SI) ízületi fájdalom hogyan és milyen mértékben befolyásolják a súlyviselést.

Módszer: 32 gyógytornászhallgatót (31 nő - 1 férfi, átlagéletkoruk: 21 év) mértünk fel. Fizikális vizsgálat során a medence csontorientációs pontjainak meghatározásával állapítottuk meg a két csípőlapát egymáshoz viszonyított helyzetét. A diszfunkció oldalát az előzési teszttel és a spine teszttel határoztuk meg. A fizikális vizsgálat után Neurocom Basic Balance Master segítségével mértük meg a hallgatók súlyviselését két lábon álláskor, extendált és flektált (30°, 60°, 90°) térdizület mellett. Az adatfeldolgozás során variancia analízist alkalmaztunk.

Eredmények: A 32 hallgatóból 6 kifejezett SI-izületi fájdalomról (SIF csoport) panaszkodott. A maradék 26 hallgató közül 4-nél szimmetrikus medencét találtunk (kontroll csoport), a többi esetben megfigyelhető volt az aszimmetria (SI csoport) azonban fájdalom nélkül. A három csoport adatait összehasonlítva nem találtunk lényeges eltérést a súlyviselésben extendált térdizület mellett. A SIF csoport tagjai 30°-os térdizületi flexióban szignifikánsan kevésbé terhelték az SI-izület érintettségével azonos oldali alsóvégtagot. Ugyanez a tendencia volt megfigyelhető 60°-os flexió esetén is. Ha a flexiót tovább növeltük (90°), akkor a két alsóvégtag terhelése közel azonosra vált. Nem volt eltérés a terhelés mértékében a két végtag között a másik két csoportban.

Megbeszélés: Az adatokból kitűnik, hogy a fájdalom jelenléte befolyásolja a súlyviselést, a 30°-os térdizületi flexió helyzet, ami funkció (járás) szempontjából a legfontosabb izületi szöghelyzet, illetve a 60°-os flexió helyzet bizonyult a legérzékenyebbnek. A kontroll csoportban és az SI csoportban nem találtunk szignifikáns különbséget a két alsóvégtag terhelése között. Az egyértelműen kijelenthető, hogy 90°-s térdizületi flexióban a súlyviselés minden esetben közel azonosra válik a két oldalon. Az SI-izület súlyviselésben betöltött szerepének tisztázására még további, részletesebb vizsgálatok szükségesek.

A HELYREÁLLÁSI IDŐT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK

Barnai Mária*, Várhelyi Georgina*, Nagy Edit*, Horváth Gyöngyi*⁺

*SZTE EFK Fizioterápiás Tanszék, +ÁOK Élettani Intézet, Szeged

Bevezetés: A fizikai terhelést követő helyreállási idő (recovery time - RT) hossza egyénenként változó. Kutatásainkban arra kerestük a választ, hogy eltérő fizikai kondíció mellett hogyan változik az RT, és milyen összefüggés mutatható ki az RT és a terhelés-élettani mutatók között.

Módszer: A tanulmányban 32 önkéntes vett részt, akiket fizikai aktivitásuk alapján 4 csoportba osztottunk (hosszútávfutók, versenysportolók - kézilabdázók, szabadidő sportolók és nem sportolók).

Vizsgálatok: felmértük a résztvevők antropometriai adatait és légzésfunkcióját. A terhelés-élettani paramétereket spiroergometeren, progresszíven emelkedő terheléssel vizsgáltuk. Az RT-t a terhelés után, a gázcsere hányados (RQ) = 1 elérésénél határoztuk meg.

Statisztikai analízis: Pearson-féle korreláció analízissel vizsgáltuk az összefüggéseket az RT és a ventiláció, az oxigénfogyasztás, a maximális RQ, a teljesítmény és az anaerob küszöb elérésének ideje között, valamint variancia analízissel összehasonlítottuk az egyes csoportok eredményeit.

Eredmények: Statisztikailag szignifikáns korrelációt találtunk a teljesítményre vonatkoztatott RT (RT/P, s/watt/kg) és a teljesítménymutatók, a ventiláció, valamint a maximális gázcsere hányados (RQ_{max}) között. A legnagyobb terhelést a hosszútávfutók érték el, s ennek megfelelően az RT náluk volt a leghosszabb. A teljesítményre vonatkoztatott RT azonban ennél a csoportnál sokkal rövidebb volt, mint a szabadidő sportolóknál és nem sportolóknál. Az RT/P a kézilabdázóknál bizonyult a legrövidebbnek.

Összefoglalás: Eredményeink azt mutatják, hogy a teljesítmény függvényében mért helyreállási idő tükrözi a teljesítmény mutatóit. Úgy tűnik, hogy az RT/P a legedzettebb sportolóknál a legkisebb, ami véleményünk szerint, az anyagcsere gyors helyreállítását bizonyítja. A versenysportolóknál mért legrövidebb RTP azt mutatja, hogy a helyreállási időt a sport jellege is befolyásolja.

AZ EGYENSÚLY MEGTARTÁSÁNAK VIZSGÁLATA BALETT-TÁNCOSOKON

***Petőfi Áron** **Ángyán Lajos

**PTE, ÁOK, Mozgástani Intézet; **PTE, FEEK, Mozgástani Kutatócsoport*

A gazdag mozgáskészlettel rendelkező balett-táncosok számára meghatározó jelentőségű az egyensúlyt megtartó képességük fejlettsége.

Jelen vizsgálatsorozatunkban összehasonlítottuk a professzionális balett-táncosok és labdajátékos sportolók egyensúlyt megtartó képességét. A vizsgálatokban 10 balett-táncos és 10 labdajátékos nő vett részt. A balett-táncosok életkora 18 ± 1.4 év, a sportolóké 18.3 ± 1.2 év volt. A testtömeg, a testmagasság, s a testzsír (%) mérése után kiszámítottuk a testtömeg-indexet. Az egyensúly megtartását három módszerrel mértük: (1) egy lábon állással egy 50 cm hosszú, 4 cm magas és 3 cm széles sínen. Számoltuk a talajra történt lelépéseket egy perc alatt. (2) A dinamikus egyensúly mérésére 6 m hosszú, 5 cm széles, és 8 cm magas gerendán kellett végigmenni. Itt is a lelépéseket számoltuk. (3) Számítógéphez csatlakoztatott stabilométeren mértük a billenések nagyságát 30 másodpercig. A méréseket megismételtük terhelés (20 m-es ingafutás) után is. A terhelés előtt és után megmértük a vérnyomást és a pulzusszámot. Kicsi, de statisztikailag szignifikáns különbséget találtunk a balett-táncosok és a sportolók testtömeg-indexe között (19.2 , illetve 21 , $p < 0.04$). A balett-táncosok szignifikánsan jobban teljesítették az egyensúly-próbákat, mint a kontroll csoport. Nem volt szignifikáns különbség a két csoport vérnyomása és pulzusszáma között. A terhelés előtt és után mért adatok között sem találtunk szignifikáns különbséget.

Eredményeink azt mutatják, hogy a statikus és a dinamikus egyensúly megtartásában is jobban teljesítettek a balett-táncosok, mint a sportolók. Továbbá az alkalmazott terhelés, nem rontotta a test egyensúlyának megtartását.

A TOLLTÉPÉS HATÁSA A NÖVENDÉK LIBÁK VÉRPLAZMA KORTIKOSZTERON SZINTRJÉRE

J. Janan és Tóth P.

Szent István Egyetem, Alkalmazott Etológia Tanszék, 2103, Gödöllő, Páter K. u. 1.

Magyarország számára az exportorientált lúdártermelés jelentős deviza-bevételi forrás. A liba nyerstoll-termelésben és -forgalmazásban csak Kína előzi meg Magyarországot, de csak mennyiségben, a minőségi libatoll termelés tekintetében Magyarország van vezető pozícióban.

A magyar lúdártermelés eddigi szerkezete egyértelműen az élve tépésre alapul. Azonban a tépés állatvédelmi szempontból kifogásolható, elsősorban a tépés okozta stressz és sérülések miatt.

Az irodalomból tudjuk, hogy a stressz hatására a hypothalamus-hypophysis-mellékvese rendszer lép működésbe. Ennek hatására a mellékvesekéreg kortikoidokat juttat a keringésbe. A fenti tényeket figyelembe véve a tépésnek és a vele járó stressznek, illetve a stresszt kivédő vitaminoknak a vérplazma kortikoszteron szintjére gyakorolt hatását vizsgáltuk a lúdfajban.

Vizsgálatainkat 9 hetes babati magyar nemesített fajtájú növendékludakon végeztük. A kísérlet alatt az állatokat 5 csoportba osztottuk: 1. csoport: tépésre került, 2. csoport: stresszvédő (vitaminokat, ásványi anyagokat és aminosavakat tartalmazó) szert kapott + tépés, 3. csoport: látszólagos tépés, 4. csoport: természetes vedlés (kontroll), 5. csoport: stresszvédő anyagot kapott + látszólagos tépés.

A látszólagos tépés alatt azt értjük, hogy a libákat a tépéshez hasonlóan kezeltük kézbe fogtuk, stb., de magához a tollazathoz nem nyúlunk.

A kísérlet során vért vettünk a ludaktól tépés és látszólagos tépés előtt (alap vérvétel), alatt (tépés közben) és a tépés után 5 perccel, 1 órával és 3 órával. A mintákat centrifugálás után -20 °C-on mélyfagyasztottuk. A vérplazma kortikoszteron szintjét az ÁOTE Élettani és Biokémiai Tanszéken határoztuk meg.

Eredményeink azt mutatják, hogy az első vérvételhez képest a vérplazma kortikoszteron szintje nem emelkedik szignifikánsan a következő vérvételeknél, sőt alacsonyabb a hormon szint a következő vérvételeknél minden csoportban.

Jelen kísérletünk megerősíti korábbi – vér glükózra vonatkozó – eredményeinket, így megállapíthatjuk, hogy a tépés nem okoz nagyobb stresszt, mint az állat kézbe fogása. Az állatok kézbevétele vérvételhez ill. oltásokhoz elkerülhetetlen. Ez azonban olyan mértékű stressz, ami az állatok egészségét nem befolyásolja. A fenti és korábbi munkáink alapján elmondható, hogy a tépés megfelelő tartási feltételek mellett (elsősorban a tépés idejének kellő megválasztása esetén!) nem okoz olyan mértékű stresszt, amely a ludak egészségét vagy komfort érzését megengedhetetlen módon befolyásolná.

CSIRKE MÁJ KETTES TÍPUSÚ DEJODÁZ AKTIVITÁSA KÜLÖNFÉLE THYROID STÁTUSZ ÉS ÉHEZÉS ESETÉN

Győrffy Andrea, Frenyó V. László, **Rudas Péter**, Bartha Tibor

Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar Élettani és Biokémiai Tanszék

A pajzsmirigy elsősorban egy előhormont, thyroxint (T4) termel. A biológiai hatásért elsősorban felelős pajzsmirigyhormon, a trijód-tironin (T3) zömében a perifériás szövetekben, dejodáz enzimek (D) közreműködésével keletkezik. Háromféle típusú dejodáz enzimet különböztetünk meg, amelyek közül a hormonaktiválásért az egyes (D1) és a kettes (D2) típusú, míg a hormonlebontásért a hármas (D3) típusú a felelős. Amíg a D2 elsősorban az agyban fordul elő, és az agyszövet T3-ellátását biztosítja, a D1 főként a májban expresszálódik, kialakítja a keringő vér T3-szintjét, és ez által biztosítja a többi szerv T3-ellátását.

Csirkében a máj nem csak D1-et, hanem D2-t is tartalmaz. Felmerül a kérdés, hogy csirkében miként viselkedik a hepatikus D2?

A kísérletek során 3 hetes csirkéket 6 vagy 12 órán keresztül éheztetett és nem éheztetett, illetve normo-, hypo- vagy hyperthyroid csoportokba osztottunk. A kísérlet végén májmintákat vettünk, amelyekből radioimmunoassay eljárással meghatároztuk a hepatikus D2 aktivitását, valamint real-time PCR segítségével számszerűsítettük a D2 mRNS mennyiségének változását a különféleképp kezelt kísérleti csoportokban.

A normothyroid csoportban a 6 illetve a 12 órányi éhezés is a májbeli D2 mRNS-mennyiségének szignifikáns csökkenését eredményezte. A hypothyroid jóllakott és a hypothyroid éheztetett csoportokban egyaránt szignifikáns D2 mRNS-mennyiség-növekedést tapasztaltunk a kontroll csoporthoz képest. A hyperthyroid státuszú csirkékben 6 óra éheztetés esetén a D2 enzimaktivitásának szignifikáns csökkenését állapítottuk meg.

A fentiek alapján megállapítható, hogy csirke májában a D2 hasonlóképpen működik, mint az agyban, valamint, hogy éheztetés hatására az mRNS mennyisége lecsökken, tehát ekkor a csökkent hepatikus D2-aktivitás pretranszlációs szabályozás eredménye.

A munka a Gazdasági Versenyképesség Operatív Program GVOP-3.2.1.-2004-04-0225/3.0 projekt keretében és támogatásával zajlott.

A POSZTURÁLIS KONTROLL JELLEGZETESSÉGEI

1 TÍPUSÚ DIABETES MELLITUS ESETÉN

Nagy Edit*, Fehérné Kiss, Anna*, Várkonyi Tamás[#], Lengyel Csaba[#], Horváth Gyöngyi*⁺

**SZTE, EFK, Fizioterápiás Tanszék, [#]ÁOK, I. sz. Belgyógyászati Klinika, ⁺ÁOK, Élettani Intézet, Szeged*

Bevezetés: A testtartás kontrollban a szomatoszenzoros információk, az idegek állapota kiemelten fontos szerepet játszanak, amelyek 1-es típusú Diabetes Mellitus (DM) esetén károsodhatnak a jól ismert neuropathia következtében. Mindezek jelentősen befolyásolhatják a testtömeg középpont kilengésének (TKK) mértékét. A tanulmány célja hogy feltárjuk a betegek poszturális kontrolljának jellemzőit és az egészséges kontroll csoporthoz viszonyított különbségeket, amelyek utalhatnak az eltérés jellegére.

Módszer: A tanulmányban 9 1-es típusú DM-es beteg (életkor (átlag $\pm$ SE) 47 ± 5.5 év) és 9 egészséges kontroll személy (életkor (átlag $\pm$ SE) 43 ± 4.2 év) vett részt. A TKK mértékét stabilométer segítségével mértük nyitott és csukott szemmel Romberg helyzetben. Először a lengési utat határoztuk meg anteroposterior (AP) és medio-laterális (ML) irányokban, majd az adatokat Fourier analízis segítségével elemeztük négy különböző frekvencia tartományban (0.1-0.3 Hz; 0.3-1 Hz; 1-3 Hz; 3-8 Hz). Az adatfeldolgozás során variancia analízist alkalmaztunk.

Eredmények: A diabéteszes csoport AP lengési útja szignifikánsan hosszabb, mint a kontroll csoporté csukott szem esetén, ez a tendencia megfigyelhető ML irányban is, de az eltérés nem szignifikáns. A szem becsukása szignifikánsan megnöveli a lengési utat a diabéteszes, de nem a kontroll csoportban. Az alacsony és közép alacsony frekvencia tartományban mind AP és ML irányokban a vizuális kontroll hiánya szignifikánsan növeli a lengési-energiát, továbbá a diabéteszes csoport szignifikánsan magasabb értékeket mutat csukott szemmel a kontroll csoporthoz képest. A magasabb frekvencia tartományokban azonban csak az AP irányban láthatók szignifikánsan magasabb értékek csukott szemmel.

Megbeszélés: A diabéteszes csoportnál látható szignifikánsan magasabb értékek vizuális kontroll nélkül alátámasztják a diabéteszes polyneuropathia jelenlétét, mivel a megnövelt kilengés a szomatoszenzoros rendszer károsodására utal. A frekvencia analízis felfedte, hogy az AP irányú kilengés növekedés minden frekvencia tartományban jelen volt, míg a ML irányú kilengés növekedés csak a két alacsonyabb frekvencia tartományban volt jellemző. Eredményeink azt igazolták, hogy a frekvencia analízis jobban megvilágítja a poszturális eltéréseket a diabéteszes neuropátiában.

SZELEKTÍV CRF-RECEPTOR ANTAGONISTÁK HATÁSA AZ ELEKTROMOSAN INGERELT ÉS CRF-FEL VAGY UROKORTINNAL KEZELT PATKÁNY STRIÁTUMRA

Bagosi Zsolt¹, Jászberényi Miklós¹, Szabó Gyula¹,
Telegdy Gyula²

¹ SZTE, Kórélettani Intézet, Szeged

² MTA, Neurohomorális Kutatócsoport, Szeged

A corticotropin-releasing faktor (CRF) neuromodulátorként fontos szerepet tölt be a hypothalamus-hypofízis-mellékvese tengely működésében, valamint neurotranszmitterként is részt vesz a szervezet stresszre adott válaszában, befolyásolva az endokrin és a magatartási reakciókat. A CRF-hez kapcsolódó peptid-család tagjai, az urokortin I (Ucn I), az urokortin II (Ucn II) és az urokortin III (Ucn III), strukturálisan hasonlóak a CRF-hez, farmakológiailag azonban különböznek egymástól. Hatásaikat két különböző receptoron (CRFR1 és CRFR2) keresztül és a G-fehérjéhez kötötten fejtik ki. Előzőleg kimutatták, hogy a CRF dózis-függő módon növeli a dopamin (DA) szintézist a bazális ganglionokban. Ez a hatást blokkolta a nem szelektív CRF antagonistá alfa-helical CRF (9-41). Jelenlegi kísérleteinkben szuperfúziós készüléket és elektromos ingerlést alkalmaztunk a CRF és az urokortinok a striatális dopaminra való hatásának a kimutatására. Ennek érdekében patkány agy striátum szeleteket és tritiummal jelölt DA-t használtunk. A különböző receptorok részvételének kimutatására specifikus CRFR antagonistákat, antalarmin (szelektív CRFR1 antagonistá) és astressin-2B-t (szelektív CRFR2 antagonistá) adminisztráltunk. Az equimoláris dózissal (100 nM) CRF és Ucn I növelte a striátumból elektromos ingerlést követően felszabaduló DA mennyiségét, míg a Ucn II és Ucn III hatástalannak bizonyult. A hasonló dózissal antalarminnal való előkezelés blokkolta, az astressin-2B viszont nem befolyásolta a CRF és az Ucn I előzőleg gyakorolt hatását. Eredményeink bizonyítják, hogy a CRF és az Ucn I dopamin-release-t növelő hatását a CRFR1 közvetíti. Az Ucn II és az Ucn III nem befolyásolja a bazális ganglionokból történő dopamin felszabadulást.

A VAZOPRESSZIN SZEREPE A SZOPTATÁS HATÁSÁRA KIALAKULÓ KRÓNIKUS HIPOTALAMO-HIPOFÍZIS- MELLÉKVESE TENGEY AKTIVÁCIÓBAN

Zelena Dóra, Csabai Katalin, Domokos Ágnes, Barna István,
Makara B. Gábor

A terhesség és szoptatás krónikus megterhelést jelent a szervezetnek. Vizsgálatunkban azt a hipotézist próbáltuk alátámasztani, hogy a vazopresszin (AVP) alapvetően fontos a szoptatás során kialakuló krónikus stresszre jellemző hipotalamo-hipofízis-mellékvese (HHM) tengely változásokban.

AVP hiányos (di/di) nőstény Brattleboro patkányokat pároztattunk és a terhesség, valamint 20-22 napos szoptatás után az állatokat dekapitáltuk. Kontrollként szűz nőstények, illetve heterozigóta (di/+) állatok szolgáltak. A patkányok test és szervsúlyait megmértük, a vérükből radioimmún módszerrel hormonmeghatározásokat végeztünk, a hipofízisből POMC mRNS szinteket mértünk in situ hibridizációval.

A szoptató anyák test és mellékvese súlya nagyobb, csecsemőmirigyének súlya kisebb volt, mint a kontrolloké. Az AVP hiányában a mellékvesék súlyának emelkedése elmaradt. A nyugalmi állapotban mért ACTH szintek nem különböztek, míg a kortikoszteron szintek emelkedettek voltak a szoptató kontrollokban, de AVP hiányában ez az emelkedés elmaradt. A prolaktin szintek nagyfokú variabilitást mutattak csoportok közötti különbségek nélkül. Az adenohipofízis POMC mRNS szintje magasabb volt mind a szoptató anyákban, mind az AVP hiányában. Az AVP hiányos szoptató nőstények POMC mRNS szintje tovább emelkedett. A közti lebeny POMC mRNS szintje az AVP hiányos szűz és szoptató állatokban egyaránt magasabb volt a szoptatás jelentős hatása nélkül.

Eredményeink alátámasztják, hogy a terhesség és szoptatás során a nőstényekben kialakulnak a krónikus stresszre jellemző változások (csecsemőmirigy súlyának csökkenése, mellékvesék súlyának emelkedése, nyugalmi kortikoszteron plazma-szint és adenohipofízis POMC mRNS szint emelkedés). Az AVP krónikus HHM tengely aktivitásban betöltött szerepét csak a mellékvesék vonatkozásában (súly és kortikoszteron produkció) tudtuk igazolni. Az AVP hiányában az egész hipofízisben megemelkedett POMC mRNS szintek alátámasztják a korábban Brattleboro hímekben megfigyelt fokozott POMC termékek képződését, habár az elválasztás oldalán (ACTH és prolaktin plazma szintek) nem voltak láthatóak ezek a különbségek, valószínűleg a szintézis és elválasztás más lépéseinek megváltozása miatt.

AZ UROCORTIN III ENDOKRIN ES VISELKEDÉSI HATÁSAINAK VIZSGÁLATA

Jászberényi Miklós, Szabó Gyula, Telegdy Gyula

*Szegedi Tudományegyetem., Kórélettani Intézet, MTA Neurohumorális
Kutatócsoport, Szeged*

Az corticotrop releasing factor (CRF) család emlősökben kifejeződő legfontosabb tagjai a CRF, az urocortin I, II és III. Ezen ligandok 2 különböző szerkezetű és eloszlású receptoron (CRFR1 és CRFR2) keresztül fejtik ki hatásait. Mivel a CRFR2 receptor közvetítette hatások a legfrissebb kutatások alapján gyakran épp ellentétesek a CRFR1 kiváltotta válaszokkal, vizsgálatunkban a legújabban felfedezett és CRFR2 szelektív urocortin III hatásait vizsgáltuk „open-field” rendszer és különböző stressz modellek segítségével, hím Wistar patkányokon. Az intracerebroventriculárisan adagolt urocortin III a különböző stressz formák kiváltotta kortikoszteron kibocsátást stresszor szelektíven befolyásolta. Míg az éter hatását nem változtatta meg, addig az elektromos lábsokk hatását a peptid csökkentette. Ezen utóbbi hatást a CRF2 receptor antagonistásként a stresszin-2B sikeresen kivedte. A neuropeptid „open-field” rendszerben dóziszfüggően növelte mind a horizontális mind a vertikális aktivitást. Annak eldöntésére hogy ez direkt a bazális ganglionokra gyakorolt motoros hatás, vagy a stressz válasz befolyásolásához kapcsolható magatartási folyamat, *in vitro* szuperfúziós rendszerben patkány striátum szeletek elektromos impulzus kiváltotta dopamin kibocsátását vizsgáltuk a CRF család különböző tagjaival történő előkezelés után. Az urocortin III előkezelés hatástalannak bizonyult ami indirekt hatásra utal. Eredményeink tehát alátámasztják hogy a két CRF receptor markánsan eltérő hatásokat közvetíthet és hogy az urocortin III szerepet játszhat a stressz válasz egyedre káros hatásainak mérséklésében az ún „stress-coping”-ban.

AZ ÖSZTROGÉN GONADOTRÓP HORMONOK SZABÁLYOZÁSÁBAN JÁTSZOTT SZEREPE FŐEMLŐSÖKBEN: A HYPOTHALAMICUS SZINAPTIKUS PLASZTICITÁS VIZSGÁLATA.

Zsarnovszky Attila¹, Horvath L. Tamas², Luis M. Garcia-Segura³, Frederick Naftolin²

*¹Department of Physiology and Biochemistry, Szent Istvan University
Faculty of Veterinary Science, Budapest, Hungary, ²Department of
Obstetrics and Gynecology, Yale University School of Medicine, New
Haven, CT, USA;*

³Cajal Institute, CSIC, Madrid, Spain

Vizsgálataink során meghatároztuk a GnRH- és putatív GABA (P-GABA) neuronok GABAerg és immunhisztokémiailag nem azonosított afferentációját ovariectomizált (OVX) és ovariectomia után ösztradiol-benzoáttal (EB) kezelt majmokban (*Cercopithecus aethiops*). A hipotalamikus nucleus arcuatus (AN) szinaptológiai státusát 24- és 48 órával, valamint 8 nappal az egyszeri EB-kezelés után vizsgáltuk. A szinapszisok számának, típusának és ezeken belül az időbeli változásoknak az analízisét összevetettük az említett időpontokban mért plazma ösztrogén- és luteinizáló hormon koncentrációkkal.

Eredményeink egyértelműen mutatják, hogy GnRH és P-GABA sejtek szinaptikus státusa mind a kísérleti, mind pedig a kontrol csoportban meghatározott minőségi és időbeli mintát követ. A nőivarú primátések nucleus arcuatusának jelen szinaptológiai vizsgálata rámutat a hipotalamikus ösztrogén-érzékeny neuronhálózat plaszticitásának az ösztrogén-hullám által indukált pozitív-, és az ezt követő negatív feedback szabályozásában játszott szerepére.

PURINERG GÁTLÓ VÁLASZ HUMÁN ILEUMON

Undi Sarolta¹, Wolf Mátyás¹, Benkó Rita¹, Illényi László², Cseke László², Kassai Miklós², Vereczkei András², Horváth Örs Péter², Antal András³, Barthó Loránd¹

¹PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, ²PTE Sebészeti Klinika, ³Nagyatádi Megyei Kórház

Ismert, hogy a nitrogén-monoxid (NO) és az extracelluláris ATP együttesen közvetítik az elektromos téringerléssel kiváltott nem-adrenerg, nem-kolinerg (NANC) relaxációt számos emlős bélpreparátumon. Irodalmi adatok egyértelműen utalnak a „nitregerg” neuronok NANC relaxációban való részvételére humán bélrendszerben. Az ATP („purinerg” idegek) szerepéről kevés a megbízható adat. Jelen kísérlet sorozatban vizsgáltuk a „purinerg” idegek lehetséges szerepét a NANC relaxáció „nem-nitregerg” komponensében humán ileum körkörösizom preparátumokon két P₂ purinoceptor antagonistá (50 μM PPADS, 100 μM Suramin) segítségével *in vitro*.

Módszerek: Operációs anyagból származó humán ileumból körkörösizom preparátumokat készítettünk, szervfürdőbe helyeztük és mozgásaikat izotóniásan regisztráltuk. Az idegeket elektromos téringerléssel (1 Hz 20s, 10 Hz 20s) aktiváltuk 1 μM atropin, 3 μM guanethidin és 100 μM N^G-nitro-L-arginin (L-NOARG) jelenlétében. Az exogén ATP (200 μM) relaxációs hatását is vizsgáltuk.

Eredmények: Az előkontrahált preparátumokon az elektromos ingerlés (1 v. 10 Hz) NANC elernyedést okozott. Ezt a választ a két P₂ purinoceptor antagonistá 1 Hz frekvencián együttesen jelentősen (70%-ig), külön-külön adva mérsékelten (50%-ig) gátolta, 10 Hz esetén a két antagonistá kombinációja 35 %-os gátlást okozott. A két antagonistá együtt az exogén ATP hatását is jelentősen gátolta (70%).

Következtetések: Humán ileum körkörösizom preparátumon a „nitregerg” és „purinerg” idegek együttesen közvetítik a NANC relaxációs választ.

Kutatásainkat az ETT, OTKA és NKFP támogatja.

FEKETE RETEK-KÉSZÍTMÉNY HATÁSA AZ VÖRÖSVÉRTEST ELEM-TARTAMÁRA COLITIS ULCEROSABAN

Szentmihályi Klára¹, Kovács Ágota², Rapavi Erika³, Váli László³, Székely Edit⁴, Blázovics Anna³

¹MTA KK Anyag- és Környezetkémia Intézet, szklari@chemres.hu;

²Péterfy Kórház, ³SE, II. Belgyógyászati Klinika; ⁴MÁV Kórház Porfíria Centrum

IBD-ben az esszenciális elemek homeosztázisa megváltozik, ami nagymértékben hozzájárul a szabadgyökös folyamatok megnövekedéséhez és a súlyos mellékhatások kialakulásához. Ezért kíváncsiak voltunk, hogy az antioxidánsokban gazdag fekete retekéből készült gyógytermék a Raphacol granulátum milyen hatással van a fémlelem-metabolizmusra és a redox-homeostasisra.

Induktíven csatolt plazma optikai emissziós spektrométerrel (ICP-OES) megmértük 15 kaukázusi rasszhoz tartozó egészséges önkéntes, 15 colitis ulcerosában (CU) szenvedő beteg, és 12, a szükséges kezelés mellett Raphacol granulátumot (0,2 g/6 hónap) is fogyasztó CU beteg vörösvértest Al-, Ca-, Cu-, Fe-, Mg-, Mn-, P-, S- és Zn-tartalmát. A rutin laboratoriumi vizsgálatok mellett a vörösvértest össz-scavenger kapacitás (TSC) mérését is elvégeztük.

Csökkent vörösvértest Ca- (0,975±0,440 μg/g), Mg- (1,02±0,24 μg/g) és Zn-koncentrációt (0,776±0,482 μg/g) mértünk a CU betegekben a kontrollokhoz képest (2,90±2,25, 18,28±9,66 és 1,05±0,48 μg/g). A három hónapos Raphacol-kezelés nem változtatta meg a fémlelem-státuszt. Hat hónapos Raphacol-kezelés hatására a vörösvértest Ca- (2,24±1,36 μg/g), Mg- (1,53±0,27 μg/g) és P-koncentráció (33,76±3,23 μg/g) szignifikánsan megnőtt. A Raphacol-kezelés befejezése után hat hónappal a megemelkedett Ca-koncentráció (7,99±1,88 μg/g) még megmaradt. Hat hónapos Raphacol-kezelés hatására a vörösvértest TSC javult, majd a 12. hónapra visszatért az eredeti állapot.

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy hosszú időtartamú Raphacol-kezelés megváltoztatta az elem- és az antioxidáns státuszt. A hat hónapos Raphacol-kezelés hatására a vörösvértest össz-scavenger kapacitás és a Ca-szint szignifikánsan megemelkedett. A megnőtt Ca-koncentráció a kezelés befejezése után hat hónappal is megmaradt.

Támogatás: NKFP-1B/047, 1/A/005/2004, ETT 002/2003.

EGY GUANILÁT-CIKLÁZ GÁTLÓ VEGYÜLET HATÁSA AZ ELEKTROMOS TÉRINGERLÉSSSEL KIVÁLTOTT SIMAIZOM-VÁLASZOKRA ÉS A PERISZTALTIKUS REFLEXRE

Wolf Mátvás, Undi Sarolta, Benkó Rita, Magyar Klára, Tóvölgyi Zsuzsanna, Barthó Loránd

PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Pécs

Ismert, hogy a nitrogén-monoxid (NO) a szolubilis guanilát-cikláz aktivációján keresztül vált ki simaizom relaxációt. A jelen kísérletsorozatban a nitrogén-monoxid szintézist gátló L-nitroarginin (L-NOA, 100 μ M) és a guanilát-cikláz gátló ODQ (1 μ M) közötti lehetséges interakciókat vizsgáltuk intesztinális simaizom preparátumokon *in vitro*. A feltevés alapján, miszerint az L-NOA alkalmazása után adott ODQ további hatást vált ki egy preparátumon, felmerülhet egy nitrogén-monoxidtól eltérő guanilát-cikláz aktiváló transzmitter szerepe a válaszban. Kísérleteinkben kontroll válaszhoz képest vizsgáltuk az L-NOA valamint az L-NOA és ODQ együttes hatását két állatfaj és az ember intesztinális simaizom preparátumain. Atropin-kezelt és előkonrahált patkány ileum hosszanti izom-plexus myentericus strip készítményen az L-NOA szignifikánsan gátolta a 10 Hz-es elektromos téringerléssel kiváltott relaxációt, ODQ hozzáadása nem okozott további gátlást. Hasonlóképpen atropin-kezelt humán szigmabél körkörös izomzatán (műtéti anyag) az ODQ nem okozott további gátlást L-NOA jelenlétében 1 vagy 10 Hz-es frekvencián. A fenti eredmények nem támasztják alá az NO-n kívüli egyéb guanilát-cikláz aktiváló mediátor szerepét a válaszokban.

Tengerimalac ileumon reflexes perisztaltikus kontrakciókat váltottunk ki az intraluminális nyomás emelésével. Folyamatosan fizioiógias oldatot áramoltattunk a bél lumenébe az orális vég felől alacsony sebességgel. Azt a küszöbnyomást, melynél a perisztaltikus kontrakció létrejött, az L-NOA 32%-kal csökkentette (ld. Barthó és Holzer, NS Arch. Pharmac. 353: 102, 1995). Ha az L-NOA mellé ODQ-t adtunk nem észleltünk további nyomásküszöb csökkenést. Fordított sorrendben az ODQ elsőként adva stimuláló hatást váltott ki, majd L-NOA hozzáadása nem okozott további változást. Megállapíthatjuk, hogy az NO ODQ-érzékeny mechanizmuson keresztül modulálja a perisztaltikus reflexet, és más guanilát-cikláz stimuláns nem vesz részt a folyamatban.

Kutatásainkat az OTKA, ETT és az NKFP támogatta.

AZ NF-KB ÉS A GYULLADÁSKELTŐ MEDIÁTOROK CSÖKKENTÉSE A GLIKOGÉN SZINTETÁZ KINÁZ-3B GÁTLÁSÁVAL A PATKÁNYOK VASTAGBELÉBEN.

^a**Cs. Varga**, ^aA. Berkó, ^aK., Horváth, ^aA. Pósa, ^aA. Molnár,
^bM. Collin, ^bC. Thiemermann and ^bB.J.R. Whittle

*aÖsszehasonlító Élettani Tanszék, Szegedi Tudományegyetem, Szeged és
bWilliam Harvey Research Institute, Barts and the London, Queen Mary's School of Medicine, London, U.K.*

A glikogén szintetáz kináz-3 β (GSK-3 β) egy szerin-threonin kináz, mely számos kulcsfontosságú biológiai folyamatban, mint pl. a sejtosztódás és az apoptózis menetében is szerepet játszik. Szintén hat a nukleáris faktor- κ B (NF- κ B) aktivitására, s így számos gyulladáskeltő mediátor (citokinek és az indukálható nitrogén-monoxid szintetáz enzim (iNOS)) kulcs transzkripciós faktora. Fentiek alapján a GSK-3 β valószínűleg jelentős endogén modulátora a bélgyulladások folyamatainak, ezért két szelektív GSK-3 β inhibitor (TDZD-8 és SB 415286) hatását is megvizsgáltuk kísérletes gyulladásos bélbetegség modellben.

Kísérleteinkben hím Wistar patkányokat alkalmaztunk. A gyulladást a 2,4,6-trinitro-benzén-szulfonsav (TNBS; 10 mg, intracolónálisan – i.c.) segítségével idéztük elő az állatok vastagbelében. A kezelést követő 3. napon vizsgáltuk a gyulladások kiterjedését és a gyulladásra jellemző biomarkerek (MPO, TNF- α és iNOS) mennyiségét. A TDZD-8 vagy az SB 415286 kezelése (0,1, 0,33 vagy 1,0 mg/kg/nap s.c.) dózisfüggő módon csökkentette a vastagbél gyulladások kiterjedését (60 ± 2 %-ról 44 ± 6 % ill. 45 ± 4 %-ra; a legnagyobb dózisoknál, $n = 8$, $P < 0,05$).

A fokozott myeloperxidáz enzim aktivitást (MPO), mely a neutrofil infiltráció indexe, szintén dózisfüggő módon gátolta a TDZD 8 vagy az SB 415286 (48 % ill. 59 %-al, $p < 0,01$). A gyulladt colon által termelt markerek mennyisége is szignifikánsan csökkent (a TNF- α 46 % ill. 51 %-al, $p < 0,01$; az iNOS expresszió pedig 43 % ill. 33%-al). A TNBS kiváltotta NF- κ B p65 alegységének fokozott expresszióját jelentősen csökkentette a TDZD 8 vagy az SB 415286 (56 %-al ill. 66 %-al, $p < 0,01$) kezelés.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy a két eltérő kémiai szerkezetű GSK-3 β inhibitor lecsökkentette a szöveti gyulladások mértékét és a gyulladásra jellemző emelkedett MPO, TNF- α és iNOS markerek mennyiségét. Gyulladáscsökkentő hatásuk valószínűleg a gyulladáskeltő mediátorok serkentésében szerepet játszó NF- κ B aktivitásának gátlásán keresztül zajlik.

PATKÁNY HÚGYHÓLYAGMŰKÖDÉS SZABÁLYOZÁSÁNAK ÉLETKOR- ÉS HÓLYAGTERÜLET-FÜGGÉSE

Jenes Ágnes¹, Ruzsnavszky Ferenc¹, Széll Enikő², Varga Attila³
Csernoch László¹, Szigeti Gyula Péter¹

*Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum,
¹Élettani Intézet, ²Gyermecklinika, ³Urológiai Klinika*

Újszülött patkányokban a vizeletürítést egy primitív somato-visceralis reflex szabályozza, melyet az egyedfejlődés során egy akaratlagosan szabályozott supraspinalis mechanizmus vált fel. Ez a módosulás a harmadik héten következik be, mellyel egyidőben receptorális szintű változások is végbemennek. A funkcionális átalakulás kiemelt jelentőségű a hólyag urethrayíláshoz közeli, ún. bázis területén, ahol vizeletürítéskor a simaizomsejtek relaxálnak, ellentétben a kupola kontraháló sejtjeivel. Tudjuk, hogy a húgyhólyag kiürülését –bár befolyásolják különböző adrenerg, szerotoninerg hatások–, leginkább a gerincvelői vizeletürítési központból származó kolinerg és NANC (elsősorban purinerg) idegrostokból felszabaduló neurotranszmitterek szabályozzák.

Célunk éppen ezért a patkány húgyhólyag purinerg és kolinerg mechanizmusainak életkorfüggő vizsgálata volt, a lokalizációbeli különbségek figyelembevételével. A két mechanizmust, illetve egymásra hatásukat a két neurotranszmitter (ATP és acetilkolin) együttes adagolásával modelleztük. Kísérleteinkben primer simaizomsejt-tenyészetben végeztünk fluoreszcens Ca^{2+} -koncentráció mérést. A simaizomtenyészetben mind a purinoreceptorokat stimuláló ATP, mind a kolinerg jelátvitelt serkentő carbachol (cch) képes volt calciumszint emelkedést létrehozni. A válaszok nagysága azonban mind életkor-, mind hólyagterület-függést mutatott. További érdekességgént adódott, hogy a 20 napos, illetve annál idősebb patkányok hólyagjának bazális részéből, valamint az urethrából származó sejteken az ATP és a cch együttes adagolásakor gátló interakciót mutattunk ki a két jelátviteli rendszer között. Ez a gátlás sem a kifejlett állat hólyagjának csúcsi területein, sem a fiatalabb állatok hólyagjában (akár csúcsi, akár bazális területről) nincs jelen. Ilyen kapcsolatot azonban sikerült kimutatni egészen fiatal (5 napos) állat urethrájában.

Kísérleteink klinikai jelentőségét az adja, hogy a 2-3 hetes patkány húgyhólyag elfogadott modellje a humán „túlstimulált” hólyagnak. A patkány hólyag szabályozási folyamatainak feltérképezése így alapvető jelentőségű lehet a kórkép mechanizmusainak megismerésében és terápiájának továbbfejlesztésében.

A TREK-1 CSATORNA, MINT LEHETSÉGES TERÁPIÁS CÉLPONT TÚLÉRZÉKENY HÚGYHÓLYAG-BETEGSÉGBEN

Gönczi Mónika, Szentandrassy Norbert, Csernoch László

Debreceni Egyetem, OEC, Élettani Intézet

Mint a legtöbb szerv simaizomsejtjein, húgyhólyag esetében is különböző kálium csatornákat tartanak felelősnek a sejtek ingerlékenységéért és kontraktilitásáért. Ezen csatornák megnyílása hiperpolarizálja a sejteket és végeredményben a hólyag simaizom relaxációját eredményezi. Az ikerpórusú kálium csatornák (K2P) szerepe ezen folyamatokban egyre szélesebb körben igazolt. Humán húgyhólyagban is kimutatták ezen csoport egyik tagjának, a TREK-1 csatornának igen magas expresszióját.

Jelen munkánkban a TREK-1 csatornák egy potenciális aktiválószerét, a BL-1249 anyagot teszteltük TREK-1 cDNS-el stabilan transzfektált HEK293 sejteken. A szer hatásának vizsgálatát whole-cell patch-clamp mérésekkel végeztük. A HEK sejtekben szintetizált csatornafehérjék jelenlétét molekuláris biológiai módszerekkel igazoltuk, míg funkcionális működésüket az irodalomban szereplő TREK-1 aktiváló- (arachidonsav; 10 mikrom) és gátlószerekkel (fluoxetin; 33 mikrom) bizonyítottuk. A TREK-1 csatornák sejtfelszíni kifejeződése egy kifelé egyenirányító, lényeges inaktivációt nem mutató kálium áramot produkált. Az arachidonsav 130 $\pm$ 50 %-os (n=8) áram növekedést váltott ki. Ugyancsak az áram fokozódását (145 $\pm$ 25 %; n=13) okozta bikarbonát tartalmú oldat adagolása, mellyel az intracelluláris acidózis hatását vizsgáltuk. Fluoxetin alkalmazása a TREK-1 áramot 91 $\pm$ 2 %-al (n=13) gátolta. A BL-1249 anyagot különböző koncentrációban használva azt tapasztaltuk, hogy a szer a TREK-1 csatornákat aktiválta koncentrációfüggő módon. A változások reverzibilisnek bizonyultak. Az általunk alkalmazott koncentrációkból a félhatásos dózis 1,5 mikrom-nak adódott.

Bár a BL-1249 specifikusságának és simaizomsejteken való hatásosságának bizonyítása további kísérleteket feltételez, az eddig publikált eredményeket tekintve az anyag hatásos terápiás szer lehet túlműködéssel jellemezhető húgyhólyag betegségek esetében.

A VANILLOID RECEPTOR-1 (TRPV1) VIZSGÁLATA WILMS TUMORBAN

Vasas Krisztina¹, Marincsák Rita¹, Oláh Attila¹, Szabó Tamás²,
Bíró Tamás¹

Debreceni Egyetem, OEC, ¹Élettani Intézet és ²Gyermecklinika

A vanilloid receptor-1 (TRPV1) a fájdalom kialakulásának egyik központi molekulája. Az utóbbi időben a receptort ugyanakkor számos nem-neuronális sejtfeleségen (pl. bőr és húgyhólyag epitheliális sejtek, harántcsíkt- és simaizomsejtek, hízósejtek) is leírták, ahol felmerült a TRPV1 esetleges szerepe a sejtproliferáció szabályozásában. Jelen kísérleteinkben az igen agresszív növekedéssel jellemezhető Wilms tumorokból származó mintákban, valamint tumoreredetű sejtvonalban (G-401) vizsgáltuk a TRPV1 kifejeződését és funkcionális szerepét.

Ép veseszövetet immunhisztokémia segítségével igen kifejezett, TRPV1-specifikus immunpozitivitást találtunk a tubuláris epitheliális sejtekben, míg a glomerulusokban nem tapasztaltunk festődést. Az alacsony patológiai grádusú (jó prognózis, magas differenciáltság) tumorokban a tubuláris pozitívítás mellett enyhe immunreaktivitás tapasztaltunk a blastema-sejtekben és a stromában is, ugyanakkor a rhabdoid irányba differenciálódott sejtek igen kifejezett TRPV1 expressziót mutattak. A magas patológiai grádusú (rossz prognózis, differenciáció hiánya) mintákban a tubuláris epitheliális komponensek igen alacsony, míg a blastema és stromaelemek rendkívül kifejezett TRPV1-specifikus immunreaktivitással voltak jellemezhetők.

A G-401 sejtvonal tanulmányozása során, immuncitokémia és „real-time” Q-PCR technikák alkalmazásával, sikerrel azonosítottuk a TRPV1 mRNS és protein szintű jelenlétét. MTT kolorimetriás proliferációs/életképesség assay segítségével emellett megállapítottuk, hogy a TRPV1 agonista kapszaicin dózis- (1 nM–30 microM) és időfüggő, valamint TRPV1-specifikus (azaz az antagonistá kapszazepinnel kivédhető) módon csökkentette a sejtek proliferációját, illetve életképességét.

Mindezen új adataink felvetik a TRPV1 potenciális prognosztikai és terápiás jelentőségét a Wilms tumor diagnosztikájában és klinikumában.

EGÉSZTEST PLETIZMOGRÁFIÁS LÉGZÉSVIZSGÁLAT VALIDÁLÁSA MORFINNAL ÉBER PATKÁNYON. VAJON EZ AZ ADEKVÁT MÓDSZER LÉGZÉSDEPRESSZIÓ MÉRÉSÉRE? **Csekő Csongor**, Farkas Sándor

Richter Gedeon Rt, Általános Farmakológiai Kutatólaboratórium

Az egésztest pletizmográfias légzésvizsgálatot - frekvencia (f), légzési térfogat (TV=tidal volume), percvolumen (MV=minute volume) mérésével - kiterjedten használják éber patkányon preklinikai biztonságfarmakológiai tesztként. Ezért mi is megkíséreltük a módszer validálását a légzésdepressziót okozó morfinnal (morfin-HCl, 20 mg/kg, iv.).

Kísérleteinket hím Wistar (304±5 g) patkányokon, nappali fény mellett végeztük. **1.** A „folyamatos” protokoll esetében az állatokat a kezelés előtt 60 perccel a pletizmográfias kamrába helyeztük, majd a morfin kezelést követően újabb 180 percre tettük vissza őket. **2.** Az „intermittáló” protokoll esetében az állatokat csak kiválasztott időpontokban (-16, 22, 52, 172 és 352 perc) 16 perces időtartamra helyeztük a kamrába. A légzés paramétereit a kamrában töltött időtartamok alatt (f, TV, MV) regisztráltuk.

1. A „folyamatos” protokollnál az állatok a kamrába helyezés után mozogtak, szimatoltak 2,5-3-szor magasabb légzésfrekvenciát mutatva, mint kb. 50 perccel később, amikor megnyugodtak és aludtak. A morfinnal kezelt állatok erős szedáció jeleit mutatták és légzésük egyenletessé vált a kontroll állatoknál megfigyelhető mozgással, szimatolással összefüggő kiugrások nélkül. Ugyanakkor ez az egyenletes légzés (f: 111±15/perc) 30 perccel a kezelést követően a kontroll állatokénál (f: 78±8/perc) nagyobb frekvenciájú volt. **2.** Az „intermittáló” protokoll esetén 30 perccel a kezelés után a kontroll állatok légzése a nyugalmi szint felett volt (f: 180±18/perc), míg a morfinos állatoknál a légzésfrekvencia egyenletesen 110±11/perc volt. A TV mindkét protokoll során stabil volt és a morfin hatására sem változott. Bár az „intermittáló” protokoll esetében úgy tűnhet, hogy a morfin légzésdeprimáló hatása kimutatható, az állatok megfigyelése, a kétféle protokollal kapott eredmények összevetése, és a légzésaktivitás mintázata mind azt mutatják, hogy a pletizmográfba helyezéssel rendszeresen stressznek kitett állatoknál megfigyelhető frekvencia csökkenés oka a morfin szedatív hatása.

Eredményeinkből arra következtethetünk, hogy az éber, szabadon mozgó, egészséges patkányokon végzett egésztest pletizmográfias vizsgálat nem alkalmas a morfin okozta légzésdepresszió mérésére. Feltételezzük, hogy hiperkapniás körülmények között a légzésdepresszió kimérhető, aminek bizonyítására további kísérleteket tervezünk.

**SZÓJA-EREDETŰ ISOFLAVONOIDOK HATÁSA
BAKTERIÁLIS ENDOTOXIN ÁLTAL INDUKÁLT LÉGÚTI
GYULLADÁSOS EGÉRMODELLBEN**

Soós Szilvia¹, Garai János¹, Helyes Zsuzsanna², Elekes Krisztián², Kereskai László³, Balaskó Márta¹

¹Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Kórélettani és Gerontológiai Intézet, ²Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, ³Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Patológiai Intézet

A táplálék-eredetű polyphenolok egészségre gyakorolt kedvező hatása jól ismert: összefüggést találtak a magas diétás flavonoid bevitel és a cardiovascularis halálozás, az agyi keringési zavarok, az asthma bronchiale, az obstruktív tüdőbetegségek, egyes malignus tumorok és a 2-es típusú diabetes mellitus incidenciájának csökkenése között. A polyphenolok antioxidáns, gyulladáscsökkentő, ill. oestrogen-szerű hatásai kapcsán felmerül, hogy fokozott diétás bevitelük előnyös lehet egyes nagy népegészségügyi problémát jelentő krónikus betegségek, köztük a krónikus obstruktív tüdőbetegségek, ill. az asthma bronchiale esetében

Vizsgálataink szója-eredetű isoflavonoidoknak endotoxin (LPS) által indukált légúti gyulladásos egérmodellben a légúti hyperreaktivásra, ill. a légúti/szöveti gyulladás mértékére gyakorolt hatásaira irányultak.

Kísérleteink során nőstény CD1 egerekben 24 órával 60 µl 12,5 mg/ml koncentrációjú E. coli LPS oldat, ill. fiziológiás só intranasalis instillatioja után Buxco teljes-test plethysmograph segítségével határoztuk meg a növekvő koncentrációjú, porlasztott carbachol oldat (5,5, 11, 22, 44 mM) által kiváltott légúti hyperreaktivást. Vizsgáltuk a tüdőben kialakult szövettani elváltozásokat, ill. a tüdőszövet homogenisatum myeloperoxidase (MPO) aktivitását. Az LPS-sel párhuzamosan szója-eredetű isoflavonoid kivonat fiziológiás sóoldatát vagy fiziológiás sóoldatot intraperitoneálisan (4 x 10 mg/kg/24 h) adva teszteltük ezek hatását az LPS által kiváltott gyulladásra. Ovariectomizált nőstény egerekben a méhsúlyok mérésével vizsgáltuk az isoflavonoidok esetleges oestrogen-szerű hatását.

Vizsgálataink eredményeként azt tapasztaltuk, hogy: 1. A szója-eredetű isoflavonoidok az általunk alkalmazott dózisban szignifikáns mértékben csökkentették az LPS által kiváltott légúti hyperreaktivást. 2. A tüdőszövet MPO aktivitása szintén csökkent az isoflavonoidokkal kezelt csoportban. 3. A vizsgált polyphenolok gyulladáscsökkentő hatását a szövettani eredmények is alátámasztják. 4. Az általunk alkalmazott adagban a vizsgált isoflavonoidok nem mutattak számottevő oestrogen-szerű hatást. *Támogatás: EU 6th Research Framework Programme, GVOP-3.2.1.-2004-0420/3.0*

**KUPFFER SEJT BLOKÁD HATÁSA A BILIÁRIS
CIRRHOISIS KIFEJLŐDÉSÉRE**

Lázár György¹, Husztik Erzsébet¹, Hegedűs Hajnalka², Lázár István¹, Szakács Júlia¹, és Ifj. Lázár György³
Szegedi Tudományegyetem Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum 1Kórélettani Intézet, 2Anatómiai, Szövet- és Fejldéstani Intézet és 3Sebészeti Klinika, Szeged, Magyarország

A májfibrosis az extracelluláris matrix (ECM) fehérjék, beleértve a kollagént is, nagyfokú felszaporodása, mely a legtöbb krónikus májbetegségben létrejön. Így májfibrosishoz, illetve annak progressziójaként májcirrrosishoz vezethet az alkoholos májbetegség, a B és C vírushepatitis, a nem-alkoholos steatohepatitis, autoimmun hepatitis, a gyógyszer-kiváltotta májkárosodás, a biliáris rendszer betegsége, a veseszűletett tárolási betegség. Az utóbbi időben ismereteink a májfibrosisban szerepet játszó celluláris és molekuláris mechanizmusokról sokat fejlődtek. A máj csillag sejtje (Ito sejt, zsírtároló sejt, perisinusoidális sejt) a fibrogenesisben fontos szerepet játszik és számos faktor stimulálja e sejt proliferációját, mely a fibrogenesis fokozódásához vezet. Korábbi tanulmányainkban kimutattuk, hogy a ritka földfémek, köztük a gadolínium klorid (GdCl₃) gátolja a reticuloendotheliális rendszert, szelektíven gátolva a Kupffer sejtek aktivitását (Lázár, Experientia. 1973; 29: 818-319; Husztik et al., Int. J exp. pathol. 1980; 61: 624-30) Feltételeztük, hogy a Kupffer sejtek aktiválódásának gátlása megszakítja azon események láncolatát, melyek májkárosodáshoz, májfibrosishoz, végül cirrrosishoz vezetnek. Patkányokban végzett vizsgálatainkban kimutattuk, hogy az epeút lekötésével előidézett biliaris cirrhosis kifejlődése jelentősen gátlható gadolínium klorid (GdCl₃) kezeléssel kiváltott Kupffer sejt-blokáddal. Az epeút-lekötött állatokban, három hónappal a közös epevezeték lekötele után (a máj hydroxyprolin tartalma alapján) a máj kollagén tartalma jelentősen emelkedett, mely elmaradt, ha az állatok krónikus (heti egy alkalommal 1 mg/100 g testsúly dózisban, iv) GdCl₃ kezelésben részesültek. Szövettani vizsgálataink szerint, Syrius red festéssel az epeút-lekötött állatok májában a kollagén rostok száma jelentősen megnőtt, amely egyidejű GdCl₃ kezelés hatására elmaradt.