

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

***BELSŐ SZERVEK EXTRINSZIK ÉS INTRINSZIK
IDEGEINEK INGERÜLETÁTVIVŐ ANYAGAI
(FUNKCIONÁLIS BIZONYÍTÉKOK)***

Dr. Benkó Rita

**Gyógyszertudományok Doktori Iskola
Vezetője: Dr. Barthó Loránd, egyetemi tanár**

**Program: Vegetatív és szenzoros idegek zsigeri működése és
farmakológiája**

**Program- és témavezető: Dr. Barthó Loránd
egyetemi tanár**

**Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet**

Pécs

2006

BEVEZETÉS

Mind a belső szervek, mind a kültakaró efferens beidegzése két forrásból származik, ezek: a vegetatív idegrendszer, valamint a szomatikus rendszer. Mind a kültakaró, mind a zsigerek tartalmaznak afferens idegeket is. A belső szervekben található idegelemeket többféle módon osztályozhatjuk. Az egyik fajta osztályozás szerint ezek az idegelemek lehetnek intrinszik neuronok (amelyeknek a sejttestje és nyúlványrendszere az adott szervben belül helyezkedik el) és extrinszik idegek, amelyeknek csak a nyúlványai jutnak el a szervhez. A jelen munka a bélhuzammal és a húgyhólyaggal foglalkozik. Míg a gasztrointesztinális traktus hatalmas kiterjedésű és komplexitású intrinszik idegrendszert tartalmaz („a bél idegrendszere”, ld. lejjebb), addig a hólyag falában inkább elszórt idegsejtek képviselik az intrinszik idegeket. Az extrinszik idegelemek részben vegetatív efferensek (paraszimpatikus preganglionáris, ill. szimpatikus posztganglionáris rostok), részben zsigeri afferensek, amelyek azonban szintén képesek lehetnek transzmitterek kibocsátására a periférián.

Langley és később mások megfigyelései és osztályozása alapján az *enterális idegrendszert* a szimpatikus és paraszimpatikus rendszerek mellett a vegetatív idegrendszer harmadik tagjaként tartjuk számon (1994; Wood). Az enterális idegrendszer igen kiterjedt, kb. 10^7 - 10^8 neuront tartalmaz, ami nagyságrendileg a gerincvelői neuronszámhoz hasonlítható. A tápcsatorna idegi szabályozásában részt vesznek külső idegek is, de ezen neuronok hatásai többnyire indirekt módon jutnak érvényre az enterális intrinszik neuronok közvetítésével. A bélhuzam teljes extrinszik idegellátását átvágva a funkciók meglepően kevésbé károsodnak, ami arra utal, hogy az enterális idegrendszer önmagában is képes a legtöbb funkció vezérlésére.

Az intrinszik neuronok a bélfal két fő ganglionokat tartalmazó idegi plexusában találhatók (plexus myentericus és plexus submucosus). Ezen neuronok részint más idegsejteket izgatnak vagy gátolnak a belőlük felszabaduló transzmitteranyagok segítségével, de jelentős részük a körkörös és/vagy hosszanti simaizomzatot kontrahálja vagy relaxálja. Ez utóbbiak az *enterális motoneuronok*. Az izgató motoneuronok legjelentősebb transzmittere a muszkarin receptorokon ható *acetil-kolin*. A muszkarin receptorok blokkolása után is marad a válaszokban további izgató komponens, amelyért *tachykininek* (P-anyag, neurokinin A) tehetők felelőssé. Az enterális gátló neuronok legfontosabb transzmittere a *nitrogén-monoxid* (NO), de bizonyítékok vannak még ATP, vazóaktív intesztinális polipeptid (VIP), pituitaer

adenilát cikláz aktiváló polipeptid (PACAP), kalcitonin gén-rokon peptid (CGRP) és szén-monoxid (CO) transzmitter szerepére is (Goyal és Hirano, 1996).

A különféle gasztrointesztinális simaizmokban az egyik leginkább bizonyított NANC gátló transzmitter az NO (ld. Lecci és mtsai, 2002). Az NO neurotranszmitterként játszik szerepet záróizmok nyitásában, a perisztaltikus reflexben a leszálló gátlásban, valamint a gyomor relaxációjában. A vékony- és vastagbélben elektromos ingerlés hatására létrejött NANC relaxációban és a spontán tónus szabályozásában is szerepet tulajdonítanak az NO-nak számos fajban (ld. Whittle, 1994). Az NO képes izgató válaszokat is kiváltani a bélrendszerben. Ez bizonyos preparátumokon az idegelemek izgatása révén jön létre (Barthó és Lefebvre, 1994). Leírtak NO-okozta primer kontrakciót simaizom-támadásponttal is (Lefebvre és Barthó, 1997).

Az *ATP* intracelluláris szerepe mellett a sejtek közötti kommunikációban közreműködve extracelluláris funkciókkal is bír. Az *ATP*-t felszabadító idegek „purinerg” elnevezése Burnstocktól származik (1972). Számos bizonyíték gyűlt össze arra vonatkozóan, hogy az *ATP* neuromuszkuláris transzmitterként működik a vegetatív idegrendszerben. Az *ATP* ko-transzmitterként és neuromodulátorként is szerepet játszik az idegi működésekben (Burnstock, 1997; Hoyle, 1992). Az extracelluláris *ATP* receptorainak sok altípusa létezik, jelenleg a P_{2X} receptoroknak 7, a P_{2Y} receptoroknak 8 altípusa létezik (ld. British J. Pharmacol.: Guide to Receptors and Channels, 2nd edition, 2006). Az *ATP* izgató és gátló hatásokat is mediál: részt vehet az erek simaizmainak NANC összehúzóadásában ill. elernyedésében, a vas deferens izomzatának kontrakciójában, a coecum taenia relaxációjában. Gasztrointesztinális preparátumokban vannak olyan gátló válaszok is, amelyeket *ATP* és NO együtt közvetít (ld. Barthó és mtsai, 1998). Humán szerveken eddig még nem találtak erre bizonyítékot.

Az *enterális érző neuronok* szintén az intrinszik és extrinszik kategóriákba sorolhatók. A bélfal saját érző neuronjai érzékelik pl. a feszülést vagy más ingert, az ingerületet pedig interneuronoknak és ezek közvetítésével motoneuronoknak adják át, amelyek létrehozzák „a bél törvénye” néven számontartott körkörösizom-összehúzódást az ingertől orálisan és elernyedést az ingertől análisan (Bayliss és Starling, 1899). A külső érző neuronok a n. vagus-szal vagy a gerincvelőből érkeznek. A gerincvelői afferenseknek egy speciális csoportját képezik a kapszaicin-érzékeny neuronok (Szolcsányi, 1984). A kapszaicin a paprika (*Capsicum annum*) csípős anyaga, mely egy specifikus, ioncsatornához kötött receptort izgat. Ezt az érző idegvégződéseken elhelyezkedő receptort régebben vanilloid VR1 receptornak, ma „transient receptor potential vanilloid type receptor1”-nek (TRPV1) nevezik

(ld. Caterina és Julius, 2001; Clapham és mtsai, 2003). Közismert, hogy a kapszaicin a nyálkahártyákon égő érzést és erythemát okoz. Ha a kapszaicin kötődik a receptorához, a csatorna megnyílik és az idegvégződés (varicositas) depolarizálódik. Ahhoz, hogy a szer ingerelje a szenzoros idegek végződéseit (és belőle biológiailag aktív anyagokat szabadítson fel), nem szükséges a feszültségfüggő gyors Na^+ -csatornák működése, így a válaszok rezisztensek tetrodotoxinra (TTX) és rezisztensek a neuronális feszültségfüggő Ca^{2+} -csatornák blokkolására is.

A kapszaicin-érzékeny primer afferensek érző funkciójuk mellett ún. "helyi efferens" ill. szisztémás neurohumorális funkciót is ellátnak. Ezek az idegek neuropeptideket (CGRP, P-anyag, neurokinin A) szabadítanak fel, de felmerült más anyagok szenzoros neurotranszmitter szerepe is (pl. NO, ATP). A kapszaicin-érzékeny érző neuronok perifériás végződéseikből felszabaduló biológiailag aktív anyagok változatos szöveti válaszokat hozhatnak létre (pl. értágulat, az érpermeabilitás fokozódása, simaizom kontrakció, relaxáció) (Jancsó és mtsai, 1967, 1968; Szolcsányi, 1984; Barthó és mtsai, 2004). A szenzoros neurotranszmitterek azonosításában hasznos eszköz a kapszaicin zsigeri hatásainak tanulmányozása. A kapszaicinnal történő *in vitro* deszenzitizáció széles körben elterjedt eszközzé vált az izolált szervi vizsgálatokban.

Az alsó és felső húgyutakat szintén bőségesen beidegzik a kapszaicin-érzékeny primer afferens neuronok perifériás nyúlványai. Az itt neurotranszmitterként működő CGRP és tachykininek döntő része ezekből az idegvégződésekből származik (Maggi, 1995; Barthó és mtsai, 2004). A húgyhólyag kapszaicin-érzékeny motoros válaszait széles körben tanulmányozták. Ezek a válaszok eltérnek az egyes fajok közt és a vizsgált hólyag régiók (detrúzor izom, hólyagnyak) közt is. Érdekes és sokat tanulmányozott terület a légutak és a vaszkuláris rendszer simaizomzatának kapszaicin-érzékeny beidegzése is, ez azonban nem képezi a jelen munka tárgyát.

CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálatainkban szeretnénk volna *in vitro*, izolált szervi kísérletek segítségével minél jobban megismerni a zsigeri szervek (gyomor-bélhuzam, urogenitalis traktus) motoros válaszainak mechanizmusait, hangsúlyt fektetve a kísérleti állatokon kapott eredmények humán preparátumokkal való összevetésére. Minél többet meg kívántunk tudni szenzoros és más eredetű NANC transzmitteranyagok részvételéről a zsigeri válaszokban, interakcióikról és gyógyszeres befolyásolhatóságukról (stimuláció, antagonizmus, moduláció) élettani ill. kóros állapotokban (pl. kísérletes diabétesz).

A beidegzett simaizom-preparátumok mozgásválaszainak kiváltására kémiai ingerként a szenzoros izgató kapszaicint vagy az idegek nem-szelektív "tér"-ingerlését használjuk. Az ingerület-átvivő anyagok azonosításának kritériumai közül "a hatás azonosságát" előfeltételnek, „az antagonizmus azonosságát” pedig perdöntőnek tekintjük. Tehát az általunk beadott gyanúba vett transzmitter hatása és specifikus receptorális gátolhatósága egyezzen meg az ingerléssel létrehozott válasszal, ill. annak gátolhatóságával. Utóbbival egyenértékű argumentumként kezeljük bizonyos transzmitterek (NO) szintézisének gátlását, ill. a genetikailag módosított, génkioltott (KO) állatokon kapott eredményeket.

A kísérleti állatok preparátumain végzett vizsgálatok mellett számos kísérletet végeztünk humán, operációs anyagból származó készítményeken. A humán szövetek (vékony és vastagbél, appendix) tanulmányozására egyedülálló lehetőséget nyújt a PTE I. sz. Sebészeti Klinikával folyó kollaborációnk.

A kísérletek és várható eredményeik alapkutatói jellegűek: közelebb visznek a belső szervek ép és kóros működésének megértéséhez, ami hosszabb távon potenciálisan hasznos lehet a diagnosztika és terápia számára. A kolinerg és NANC transzmitter-rendszerek jobb megismerése más területeken (pl. központi idegrendszer) hasznosítható ismereteket is eredményezhet. Mivel az érző neuronok központi idegrendszeri végződéseiből, a gerincvelő hátsó szarvában föltehetően ugyanazok a transzmitterek szabadulnak fel, mint a periférián, így a zsigeri szervekben nyert adatok relevanciával bírnak a nociceptio/fájdalomcsillapítás tekintetében is. A "klasszikus" neurotranszmitter-rendszerekre (adrenerg, kolinerg) ható gyógyszerek ma fontos szereplői terápiás eszköztárunknak. Hasonló felemelkedés előtt állnak a nem-adrenerg, nem-kolinerg transzmitterekre ható szerek is (sőt közülük a szerotonerg rendszer már ma is fontos gyógyszerek célpontja). A NANC rendszerek funkciójának tisztázása (egyebek között farmakológiai eszközökkel) nagyban elősegíti a rájuk ható szerek kifejlesztését és indikációs területük megtalálását.

Kísérleteinkben az alábbi témakörökkel foglalkoztunk:

1. Megvizsgáltuk a kapszaicin hatását és annak mechanizmusát humán bél különböző szakaszainak körkörös izomzatán, külön hangsúlyt fektetve az NO – guanilát-cikláz rendszer gátlóinak hatására. Arra is kerestük a választ, vajon a kapszaicin NO-mediált gátló hatása megfigyelhető-e más fajok (tengerimalac, egér) vastagbél preparátumain is.

2. Vizsgáltuk az endokannabinoid anandamid hatását humán szigmabél preparátumon és lehetséges interakcióját a colon kapszaicin-érzékeny beidegzésével.

3. Két bélpreparátumon (humán szigmabél körkörös izomzat, patkány vékonybél hosszanti izomzat-plexus myentericus csík) megvizsgáltuk egy NO-szintáz bénító és purinoceptor-antagonisták együttes hatását az intrinszik idegek által közvetített NANC relaxációra.

4. Több preparátumon megvizsgáltuk, vajon a NANC válaszokban szerepet játszik-e az NO mellett más olyan anyag, amely a cGMP-n keresztül fejti ki hatását.

5. A húgyhólyag beidegzését farmakológiai eszközök segítségével tanulmányoztuk. Amennyire lehetséges volt, gyógyszeresen szétválasztottuk egymástól a különböző ingerületátvivők által közvetített válaszokat.

6. *In vitro* rendszerben megvizsgáltuk a kísérletes diabétesz hatását a patkány húgyhólyag kapszaicin-érzékeny, kolinerg és “purinerg” idegműködéseire és ugyanezen a preparátumon a kapszaicin-indukálta választ farmakológiailag jellemeztük.

KÍSÉRLETES MUNKA

A nitrogén-monoxid szerepe a kapszaicin által kiváltott mozgásválaszban különbféle fajok bél körkörösizom preparátumain

Bevezetés

A különféle fajok intesztinális preparátumai eltérően reagálnak kapszaicinre. Tengerimalac ileumon a kapszaicin ideg-közvetítette kontrakciót hoz létre (ld. többek közt Barthó és Szolcsányi, 1978; Szolcsányi és Barthó, 1978; Barthó és mtsai, 1994, 1999c, 2000). Ugyanakkor atropin-kezelt, előkontrahált készítményeken a kapszaicin képes relaxációt is kiváltani (Barthó és mtsai, 1987). A gátló hatásokért a CGRP-t tartják felelősnek (Barthó és mtsai, 1987; 1991). Humán bél simaizomzaton a kapszaicin gátló hatást vált ki (Maggi és mtsai, 1988, 1990a,b), amelyért nem a CGRP tehető felelőssé. A kapszaicin-okozta elernyedés TTX-rezisztens. Funkcionális (immun-neutralizációs) és neurokémiai kísérletek a VIP ill. valamely rokon peptid részvételét látszanak igazolni a kapszaicin hatásában (Maggi és mtsai, 1989c, 1990a,b).

A jelen kísérletsorozat célja az volt, hogy megvizsgáljuk a kapszaicin hatását és hatásmechanizmusát humán szigmbél, egyéb humán gasztrointesztinális készítmények, továbbá tengerimalac és egér colon körkörös izomzatán, külön hangsúlyt fektetve az NO-guanilát-cikláz rendszer gátlóinak hatására és a P₂ purinoceptorok szerepére. Próbáltunk arra is választ keresni, hogy az endokannabinoid anandamid képes-e utánozni vagy módosítani a kapszaicin hatását a humán colonon. Irodalmi adatok szerint ugyanis az anandamid képes hatást kiváltani a kapszaicin TRPV1 receptorain (ld. Smart és mtsai, 2000), jóllehet főhatásait kannabinoid receptorokon fejti ki (ld. Szolcsányi, 2000).

Módszerek

A kísérletekhez hím CD-1 vagy C57BL/6 egereket (20-25 g) és mindkét nemű tengerimalacokat (420-500 g) használtunk. Az állatok leölése után a megfelelő colonszakaszokat eltávolítottuk, átmostuk Krebs-oldattal és Petri csészébe helyeztük. A tengerimalac proximális colonjából kb. 2 mm széles gyűrűt kivágtunk, a mesenterialis oldalánál felnyitottuk és a nyálkahártyát óvatosan eltávolítottuk (Maggi és mtsai, 1996). Az egér distalis colon kb. 1,5 cm-es darabját a mesenterialis oldalánál felnyitottuk és körkörös irányú, 4-tagú cikkcakk preparátumot készítettünk belőle, amelyről a nyálkahártyát nem

távolítottuk el. A humán colont, ileumot és appendixet bélcarcinoma miatt eltávolított bélszakasz marginális, még nem infiltrált részéről kaptuk. A nyálkahártyát eltávolítottuk és az izomrétegekből körkörös irányú kb. 2 x 20 mm-es preparátumokat készítettünk.

A preparátumokat 5 ml-es, Krebs-oldatot tartalmazó szervfürdőkbe helyeztük (37°C-on) és folyamatosan oxigenizáltuk 95 % O₂ és 5 % CO₂ elegyével. A mozgásokat izotóniás jelátalakító (elmozdulásmérő) segítségével, kompenzográfion regisztráltuk. Tengerimalac és egér colon esetén 2 mN, humán preparátumok esetén 10 mN feszítést alkalmaztunk. Atropin (1 μmol/l) és guanetidín (3 μmol/l) végig jelen volt a szervfürdőkben. A kapszaicin-okozta relaxáció hangsúlyozására szubmaximális, tónusos kontrakciót hoztunk létre 1 μmol/l acetil-kolin vagy muszkarin segítségével, kivéve humán appendixen és tengerimalac colonon, melyeknek spazmogének nélkül is magas tónusa volt. A válaszokat izoprenalinnal (8 μmol/l) kiváltott maximális elernyedés százalékában adtuk meg. A kapszaicint csak egyszer adtuk minden egyes preparátumnak a tachyphylaxia elkerülése végett.

Eredmények

Minden preparátum esetén előzetes kísérletekben meghatározott, hatásos de nem túl magas kapszaicin koncentrációt alkalmaztunk a relaxáció kiváltására (humán colon, ileum és appendix esetén 300 nmol/l, egéرنél 1 μmol/l, tengerimalacnál 2 μmol/l kapszaicint alkalmaztunk).

Humán szigtabélen mind a NOS-gátló L-NOARG (100 μmol/l), mind az ODQ jelű szolubilis guanilát-cikláz gátló vegyület (1 μmol/l) szignifikánsan csökkentette a kapszaicin-okozta választ (az L-NOARG kb. 70 %-os, az ODQ kb. 45 %-os gátlást okozott). 5 mmol/l L-arginin a 20 μmol/l koncentrációban alkalmazott L-NOARG hatását teljesen, a 100 μmol/l-ét részben visszaállította. Az L-NOARG (100 μmol/l) nem befolyásolta sem az izoprenalín (30-240 nmol/l), sem a nátrium-nitroprusszid (100-500 nmol/l) félmaximális elernyesztő hatását. Az L-NOARG mérsékelt (kb. 50 %-os) tónusos kontrakciót okozott (a megelőző 1 μmol/l acetil-kolin százalékában kifejezve), de az azt követő acetil-kolin kontrakció mértékét ez nem befolyásolta. Az ODQ (1 μmol/l) 73 %-kal gátolta a nátrium-nitroprusszid (500 nmol/l-1 μmol/l) által kiváltott félmaximális relaxációt. Az ODQ is kontrakciót okozott (kb. 40 % az acetil-kolinhoz viszonyítva), de ez sem befolyásolta az acetil-kolin-okozta összehúzóást. A gyors Na⁺ csatorna blokkoló TTX (1 μmol/l) nem befolyásolta a kapszaicin-okozta elernyedést.

A többi humán preparátumon és az egér colonon a NOS-gátló L-NOARG (100 $\mu\text{mol/l}$) szignifikánsan csökkentette a kapszaicin hatását (több mint 70 %-os gátlás humán ileumon és colon ascendens, teljes gátlás humán appendixen, kb. 50 %-os gátlás egér colonon). Csak a tengerimalac colonon nem gátolta az L-NOARG a kapszaicin- okozta relaxációt.

A TTX (1 $\mu\text{mol/l}$) nem befolyásolta a kapszaicin- okozta relaxációt tengerimalac colonon és humán preparátumokon, viszont részleges gátlást okozott (kb. 45%) egér colonon. Egér colonon az L-NOARG és TTX kombinált adása sem okozott nagyobb gátlást, mint a két szer külön-külön alkalmazva. Ugyanez a kombináció tengerimalac colonon nem befolyásolta a kapszaicin relaxáló hatását.

Humán szigmbélen a kapszaicin által kiváltott relaxációt nem befolyásolta a P_2 purinoceptor antagonist PPADS (50 $\mu\text{mol/l}$). A PPADS gátolta az α,β -meATP (10-30 $\mu\text{mol/l}$)-okozta relaxációt ($37,6 \pm 5,6$ % előtte és $15,5 \pm 6,2$ % utána; $p < 0,05$, $n=6$).

Az endogén kannabinoid receptor agonista anandamid (1, 10, 100 vagy 300 $\mu\text{mol/l}$) nem váltott ki relaxációt az előkontrahált szigmbélen.

Egy külön kísérletsorozatban megvizsgáltuk a kapszaicin (1 $\mu\text{mol/l}$) hatását vad típusú és TRPV1 receptor knockout C57BL/6 egereken (Davis és mtsai, 2000). A vad típusú egerek colonján a kapszaicin hasonló mértékű relaxációt váltott ki, mint CD-1 egereken, viszont a knockout csoporton minimális elernyedést kaptunk ($45,3 \pm 5,6$ % vad típuson, $5,1 \pm 3,3$ % knockout állatokon; $p < 0,001$; $n=6$ ill. 7).

Megbeszélés

Eredményeink szerint az NO jelentős szerepet játszik a kapszaicin- okozta elernyedésben humán szigmbél és colon ascendens, humán ileum, humán appendix és egér colon körkörös izomzatán, tehát a kapszaicin- okozta NO-felszabadulás valószínűleg elterjedt jelenség. Humán készítményeken mindezidáig nem írtak le olyan zsigeri motoros választ, melyet a szenzoros idegekből felszabaduló NO közvetítene.

A megfigyelt kapszaicin hatások specifikussága mellett szól a viszonylag alacsony koncentrációk alkalmazása és a tachyphylaxia jelenléte is, továbbá az, hogy a kapszaicin csak minimális hatást váltott ki TRPV1 receptor knockout egereken, de jelentős relaxációt okozott a vad típusú kontroll csoporton. A kísérleteinkben használt L-NOARG ebben a koncentrációban nem okoz nem-specifikus hatásokat mivel (1) az L-NOARG nem befolyásolta az alacsony koncentrációjú izoprenalin által kiváltott elernyedést és (2) egyik szer sem változtatta meg az acetyl-kolin által kiváltott összehúzó mértékét. A kapszaicin-

okozta relaxáció mechanizmusa úgy tűnik némileg különböző az egyes preparátumokon. A gyors Na^+ csatorna blokkoló tetrodotoxin szignifikánsan csökkentette a kapszaicin hatását egér colonon, viszont humán preparátumokon nem okozott gátlást. Számos bizonyíték található arra nézve, hogy a kapszaicin hatására történő transzmitter felszabadulás az érző idegvégződésekből TTX-rezisztens folyamat. Egér colon esetén több lehetőség is fennállhat: (1) a kapszaicin-érzékeny idegvégzések aktiválják az intrinszik enterális neuronokat, így az NO származhat a kapszaicin-érzékeny extrinszik neuronokból, az enterális neuronokból vagy mindkettőből; (2) “nitrerg” kapcsolat áll fenn a szenzoros és enterális neuronok közt és az utóbbi más gátló transzmittereket is tartalmazhat; (3) a kapszaicin a szenzoros idegvégzések egy részét direkt módon izgatja (TRPV1 receptorokon keresztül) és ezek aktiválhatnak más további érző idegvégzéseket indirekt úton, axon-reflex közvetítésével (axon-reflex létrejöttéhez szükséges TTX-érzékeny ingerületvezetés).

Humán szigmbélen kapott eredményeink arra utalnak, hogy PPADS-érzékeny purinoceptorok nem vesznek részt a kapszaicin-okozta elernyedésben.

A jelen eredmények az NO részvétele ellen szólnak a kapszaicin-okozta relaxációban tengerimalac colonon, mivel az L-NOARG nem gátolta a kapszaicin-okozta választ.

Kétoldalú kapcsolatot feltételeznek az endokannabinoid anandamid és a kapszaicin-érzékeny mechanizmusok között. Egyrészt az anandamid stimulálja a TRPV1 kapszaicin receptorokat (de hasonlóan a kapszaicinhez, hosszú ideig, nagy koncentrációban adva gátolja is a TRPV1 receptorokat). Másrészt az anandamid gátolhatja a kapszaicin-érzékeny idegek működését kannabinoid receptorokon keresztül (Smart és mtsai, 2000; Szolcsányi, 2000). Az első esetben az anandamid utánozza a kapszaicin hatását, míg a másodikban gátolja. A jelen kísérletben (humán szigmbélen) nem kaptunk bizonyítékot az anandamid egyik hatására sem, széles koncentrációtartomány alkalmazása ellenére. A kapott negatív eredmény magyarázatául szolgálhat, hogy az anandamid felvétele az érző idegvégződésbe nem tökéletes, márpedig ez szükséges ahhoz, hogy a szer kifejtse a hatását a TRPV1 kapszaicin receptorokon (De Petrocellis és mtsai, 2001).

“Nitrerg-purinerg” interakciók humán és patkány bélpreparátumokon

Bevezetés

A gasztrointesztinális simaizomzat NANC válaszait – köztük a nem-szelektív idegingerléssel kiváltott NANC elernyedést – döntő mértékben a bélfal saját (intrinszik) neuronjai közvetítik,

amelyek főleg a plexus myentericusban helyezkednek el és nem érzékenyek kapszaicinre. Mind az extracelluláris ATP, mind az NO számontartott NANC transzmitterek a gyomor-bélhuzamban. Az NO-kutatás korai fázisában kifejlesztett specifikus szintézisgátló L-arginin-analógok óriási lendületet adtak az NO-val kapcsolatos funkcionális kutatásoknak. Ilyen hasznos szer a “purinerg” ingerületátvitel területén nem áll rendelkezésünkre. A “purinerg” neurotranszmisszió kiiktatására használható módszer az ATP deszenzibilizáció, az apamin és a purinoceptor antagonisták (pl. PPADS, suramin) alkalmazása.

A jelen kísérletsorozatok célja az volt, hogy két, jelentős NANC relaxációt mutató bélpreparátumon (humán colon körkörös izomzat, patkány vékonybél hosszanti izomzat-plexus myentericus csík) megvizsgáljuk egy NO-szintáz bénító és purinoceptor-antagonisták együttes hatását, továbbá a guanilat-cikláz bénításának befolyását a NANC elernyedésre. A megválaszolendő kérdések:

- (a) “Purinerg” idegek részt vesznek-e a válasz közvetítésében?
- (b) Ha igen, mi a viszonyuk a “nitregerg”-idegek szerepéhez, ill. a kettő együtt a válaszok egészét megmagyarázza-e?
- (c) A “nitregerg” idegek a guanilat-cikláz enzim közvetítésével hatnak-e, ill. részt vesz-e a válaszban más, a guanilat-ciklazon keresztül ható ingerületátvivő anyag?

Módszerek

Wistar patkányok ileumát (az állatok leölése után) kimetszettük és kb. 3 cm-es darabokból Paton és Vizi (1969) módszerét követve hosszanti izom-plexus myentericus csík preparátumokat készítettünk. A preparátumok elkészítéséhez viszonylag nagy testtömegű patkányok ideálisak, ezért 400-500 g tömegű állatokat használtunk a kísérletekhez.

A humán szigmabél preparátumokat carcinoma miatti bélműtéten átesett páciensek eltávolított ép bélszakaszaiból készítettük. Körkörös irányú kb. 2 x 20 mm méretű preparátumokat készítettünk, melyekről a nyálkahártyát lemetsztettük.

A készítményeket 5 ml-es szervfürdőkben, 37 °C-os, oxigenizált (95 % O₂ + 5% CO₂) Krebs-oldatban függesztettük fel. A mozgásokat izotóniásan regisztráltuk. A patkány ileum preparátumok esetén 2 mN-os, humán szigmabél esetén 10 mN-os feszítést alkalmaztunk.

Az idegeket elektromos téringerléssel (EFS; Paton és Vizi, 1969) aktiváltuk atropin (1 μmol/l) és guanetidín (3 μmol/l) jelenlétében. *Patkány ileum* esetén 1 óra inkubációs periódus után a preparátumokat prosztaglandin F_{2α}-val (0,1 μmol/l) szubmaximálisan előkontraháltuk és idegengerlést (EFS) vagy valamilyen relaxáló ágenszt (ATP, α,β-meATP, adenzin,

nitroglicerín, nátrium-nitroprusszid vagy izoprenalin; kontaktus idő 3 perc) alkalmaztunk. Az EFS paraméterei: amplitúdó 60 V, impulzusszélesség 0,2 ms, 10 Hz-es frekvencia 20 s-ig.

A *humán szigmabél* preparátumokat a szintén 1 óra inkubációs periódus letelte után hisztaminnal (5 $\mu\text{mol/l}$) előkontraháltuk, majd EFS-t vagy valamely relaxáló anyagot (izoprenalin, $\alpha,\beta\text{-meATP}$) alkalmaztunk. Az EFS paraméterei: amplitúdó 80 V, impulzus szélesség 0,1 ms, 1 ill. 10 Hz-es frekvencia 20 s-ig. Ezt követően a fürdőben a folyadékot lecseréltük és 40 perces inkubációs idő után a folyamatot ismételtük mindkét preparátum esetén. Az EFS 3 ciklusban ismételhetőnek bizonyult.

Eredmények

Patkány ileum hosszanti izom-plexus myentericus preparátumok

Előkontrahált preparátumokon az EFS gyors relaxációt váltott ki, melyet a TTX (1 $\mu\text{mol/l}$) teljesen kivédett. A relaxációs válasz L-NOARG (100 $\mu\text{mol/l}$) jelenlétében részben megmaradt (L-NOARG előtt $38,2 \pm 3,4 \%$, utána $25,8 \pm 1,9 \%$, $n=13$). Apamin (0,3 $\mu\text{mol/l}$) önmagában csak mérsékelt (kb. 30 %-os) gátlást okozott. Apamin és L-NOARG kombinált alkalmazása már kb. 85 %-os gátlást eredményezett.

Az L-NOARG-kezelt preparátumokon mind a suramin (100 $\mu\text{mol/l}$), mind a PPADS (50 $\mu\text{mol/l}$) szinte teljesen kivédte az EFS által kiváltott relaxációt. A PPADS önmagában csak mérsékelt (kb. 30 %-os) gátlást váltott ki. A PPADS-kezelt preparátumokon az L-NOARG teljes gátlást eredményezett.

A guanilát-cikláz gátló ODQ (1 $\mu\text{mol/l}$) nem növelte tovább az L-NOARG (100 $\mu\text{mol/l}$) gátló hatását az EFS-okozta relaxációra (L-NOARG előtt $40,6 \pm 6,4 \%$, L-NOARG jelenlétében $29,9 \pm 2,7 \%$, L-NOARG plusz ODQ jelenlétében $29,8 \pm 5,6 \%$, $n=7$). Az ODQ (1 $\mu\text{mol/l}$) 85 %-kal gátolta a nitroglicerín (13 $\mu\text{mol/l}$) relaxáló hatását.

Az ATP (0,1–500 $\mu\text{mol/l}$) elernyedést okozott. A szer független adásával (1 preparátumnak 1 beadás) nagyjából harang alakú dózis-hatás görbét kaptunk. A PPADS (50 $\mu\text{mol/l}$) kb. 60 %-kal gátolta az ATP (1 $\mu\text{mol/l}$) relaxáló hatását. Az $\alpha,\beta\text{-meATP}$ szintén koncentráció-függő elernyedést okozott patkány ileumon 1–100 $\mu\text{mol/l}$ -es koncentráció tartományban. Az $\alpha,\beta\text{-meATP}$ (10 $\mu\text{mol/l}$) relaxáló hatását a PPADS (50 $\mu\text{mol/l}$) kivédte. A PPADS (50 $\mu\text{mol/l}$) plusz suramin (100 $\mu\text{mol/l}$) együtt nem befolyásolta az izoprenalin (5–10 nmol/l) által kiváltott félmaximális elernyedést.

Humán szigmbél preparátumok

A hisztaminnal előkontrahált humán szigmbélen elektromos téringerléssel NANC relaxációt váltottunk ki, melyet a TTX (1 $\mu\text{mol/l}$) mindkét alkalmazott frekvencián (1 és 10 Hz) kivédett. Az L-NOARG (100 $\mu\text{mol/l}$) gátolta az idegingerléssel kiváltott NANC relaxációt humán szigmbélen; 1 Hz-en több mint 40 %-os, 10 Hz-en kb. 50 %-os gátlást okozott. Az L-NOARG-kezelt preparátumokon a purinoceptor antagonistá PPADS (50 $\mu\text{mol/l}$) plusz suramin (100 $\mu\text{mol/l}$) kombinációja jelentős (1 Hz-nél 64 %-os, 10 Hz-nél 54 %-os) gátlást eredményezett, de ha a két purinoceptor antagonistát külön adtuk a fürdőbe, semmilyen vagy csak minimális hatást észleltünk.

Kontroll preparátumokon a PPADS plusz suramin kombinált adása nem gátolta az 1 ill. 10 Hz-es idegingerléssel kiváltott NANC relaxációt, míg a purinoceptor antagonisták jelenlétében ingerelve az L-NOARG majdnem teljesen kivédte az elernyedést (kb. 80 %-os gátlás 1 Hz-en, 90 %-os gátlás 10 Hz-en). Az α,β -meATP (5 $\mu\text{mol/l}$) elernyesztő hatását a PPADS plusz suramin együtt jelentősen gátolta, míg a PPADS önmagában mérsékelt gátlást okozott. A suramin önmagában nem volt hatással a relaxációra. A purinoceptor antagonisták kombinációja nem befolyásolta sem az izoprenalinnal (30–200 nmol/l) sem a nifedipinnel (3 $\mu\text{mol/l}$) kiváltott elernyedést.

A guanilat-cikláz gátló ODQ (3 $\mu\text{mol/l}$) kb. 30 %-kal gátolta a NANC relaxációt. L-NOARG-kezelt preparátumokon az ODQ hatástalan volt. Fordított sorrendben alkalmazva, ODQ kezelés után az L-NOARG enyhe gátló hatást váltott ki a NANC relaxációra.

Megbeszélés

Eredményeink szerint a “nitroerg” és “purinerg” idegek együtt közvetítik az EFS-okozta relaxációt *patkány ileum hosszanti izom-plexus myentericus preparátumon*. A P_2 purinoceptor antagonistá PPADS ill. suramin gátolta a NANC relaxáció nem “nitroerg” részét, az L-NOARG pedig kivédte a P_2 purinoceptor antagonisták jelenlétében kapott választ. Ez azt is jelenti, hogy az L-NOARG jelenlétében kiváltott válasz teljesen “purinerg”, míg a PPADS jelenlétében kiváltott válasz teljesen “nitroerg” természetű.

Smits és Lefebvre (1996) eredményei szerint *patkány ileum hosszanti izomzatán* az EFS-kiváltotta elernyedést az ATP tachyphylaxia gátolja, és ez a gátló hatás nem adódik hozzá a NOS-gátlóval kiváltott gátláshoz. Két P_2 purinoceptor antagonistá (suramin és reactive blue 2) nem gátolta az idegingerléssel kiváltott relaxációt NOS gátlóval előzetesen nem kezelt preparátumokon (Smits és Lefebvre, 1996). Kombinált NOS gátló-purinoceptor

antagonista kezelést nem végeztek. Arra a következtetésre jutottak, hogy az ATP-n és NO-n kívül még legalább egy másik transzmitter is részt vesz a relaxáció közvetítésében. Saját eredményeink szerint a PPADS szelektíven gátolta az exogén ATP-vel vagy α,β -meATP-vel kiváltott elernyedést. Eredményeink szerint azonban a purinoceptor antagonisták nem csak L-NOARG jelenlétében váltottak ki gátló hatást; a PPADS önmagában kb. 30 %-os gátlást eredményezett, ami nem sokkal marad el az L-NOARG által kifejtett gátlástól (ez utóbbi kb. 40 %). A suramin önmagában szintén részleges gátlást hozott létre. A suramin csökkentette a prosztaglandin $F_{2\alpha}$ -val kiváltott előkontrakciót (ld. Smits és Lefebvre, 1996 közleményét is), ezért a továbbiakban csak a PPADS hatását vizsgáltuk. A PPADS specifikusnak bizonyult, nem befolyásolta sem az előkontrakció mértékét, sem a nátrium-nitroprussziddal vagy izoprenalinnal kiváltott elernyedést.

Az apamin NANC relaxációra kifejtett erős gátló hatása L-NOARG jelenlétében azt jelenti, hogy a válasz "nem-nitreg" része főként apamin-érzékeny K^+ csatornák aktivációján keresztül jön létre. Az apamin-érzékenység mindazonáltal nem azonosítható teljes mértékben a "purinerg" válasszal, pl. több neuropeptid is képes apamin-érzékeny válasz kiváltására.

Humán szigmabél körkörös izomzatán kapott eredményeink szerint az ATP vagy valamely rokon vegyület részt vesz az elektromos téringerléssel kiváltott NANC relaxáció közvetítésében. Ezen a preparátumon is megvizsgáltuk a két P_2 purinoceptor antagonistának (PPADS és suramin) a NANC relaxáció L-NOARG-rezisztens részére kifejtett hatását, de külön-külön adva csak minimális hatást kaptunk. Meglepetéssel tapasztaltuk, hogy a két antagonisták kombinációja viszont erősen gátolta a NANC relaxációt. Valószínű, hogy a két antagonisták együtt a P_2 purinoceptorok szélesebb skáláját gátolja, mint külön-külön alkalmazva őket. Ha a NOS-gátló nélkül vizsgáltuk a két P_2 purinoceptor antagonisták NANC relaxációra kifejtett hatását, akkor a két szer együtt sem okozott gátlást. Mindebből arra következtettünk, hogy ezen a preparátumon a NOS-gátló L-NOARG és a purinoceptor antagonisták gátló hatása szupra-additív viszonyban áll egymással.

A másik kérdés, amire kísérleteink során választ kerestünk, hogy vajon a guanilát-cikláz bénítása ODQ-val befolyásolja-e az L-NOARG-rezisztens NANC relaxációt. Az ODQ nem okozott további gátló hatást L-NOARG jelenlétében sem humán szigmabélen, sem patkány ileum preparátumon. Ez arra utal, hogy az idegingerléssel kiváltott NANC relaxációban az NO-n kívül más szolubilis guanilát-ciklázon keresztül ható transzmitter nem vesz részt. Az irodalomban már ismert, hogy patkány ileumon az ODQ gátolja az EFS-okozta elernyedést (Tanovic és mtsai, 2001), ami várható is, mivel a válasz jelentős része NO-mediált. Humán colonon az ODQ önmagában jelentős de részleges, P_2 purinoceptor

antagonistákkal kombinálva pedig teljes gátlást hozott létre a NANC válaszon, ami megerősíti az NO-ATP együttthatást.

A kísérletes diabétesz hatása az elektromos téringerléssel vagy kapszaicinnal kiváltott kolinerg, “purinerg” és “peptiderg” motoros válaszokra izolált patkány húgyhólyagon

Bevezetés

Régóta ismert, hogy a “purinerg” neurotranszmisszió szerepet játszik emlősök húgyhólyag-működésében (ld. Hoyle, 1994; Burnstock, 1997). Más NANC neurotranszmitterek szerepére is található irodalmi adatok. A kapszaicin atropin-rezisztens kontrakciót vált ki patkány hólyagon, amely érzékeny előzetes kapszaicin kezelésre és tachykinin receptor antagonistákra, de TTX-rezisztens (Maggi és mtsai, 1991). Ez arra utal, hogy a kapszaicin izgatja az érző idegvégződéseket (TTX-rezisztens módon) és tachykinineket szabadít fel, amelyek kontrahálják a simaizomzatot.

In vitro funkcionális kísérletekben Meini és Maggi (1994) kimutatták tachykinin-mediált, kapszaicin-érzékeny komponens jelenlétét elektromos téringerléssel kiváltott NANC kontrakcióban patkány hólyag detrusor izomzatán. A válasz kiváltásához kellően hosszú idejű téringerlés alkalmazása szükséges. Ugyanezek a szerzők funkcionális bizonyítékot szolgáltatottak P-anyag és neurokinin A részvételére a kapszaicin-okozta kontrakcióban (Meini és Maggi, 1994).

A diabéteszes neuropátia egyaránt érinti a vegetatív, szomatomotoros és érző idegeket. A neuropátia egyik megjelenési formája a hólyag diszfunkciója. A kapszaicin-érzékeny idegek is érintve lehetnek a hólyagműködés károsodása során. Patkány hólyag detrusor izomzatán ellentmondásos eredmények található arra nézve, hogy a kísérletesen létrehozott diabétesz hogyan befolyásolja a kapszaicin-okozta kontrakciót. Egyes eredmények csökkenést mutattak a kapszaicin hatásában diabéteszes patkányok hólyagján (Kamata és mtsai, 1992; Pinna és mtsai, 1994), míg mások nem találtak eltérést a diabéteszes és kontroll csoport között (Santicioli és mtsai, 1987; Dahlstrand és mtsai, 1992).

A jelen munka célja az volt, hogy *in vitro* rendszerben megvizsgáljuk a kísérletes diabétesz hatását a patkány húgyhólyag kapszaicin-érzékeny, kolinerg és “purinerg” idegműködéseire. Farmakológiai eszközök segítségével minden eddiginél jobban elkülönítettük ezeket a komponenseket. A kapszaicin-érzékeny válaszokat kapszaicin vagy

hosszú idejű téringerlés alkalmazásával vizsgáltuk. A kapszaicin-létrehozta választ farmakológiailag jellemeztük. Megvizsgáltuk továbbá, hogy a kapszaicin-érzékeny idegek képesek-e relaxáció kiváltására ill. képesek-e gátolni a kolinerg vagy “purinerg” neurotranszmissziót.

Módszerek

Streptozotocin-kezelés

A kísérletek előtt 8 héttel hím Wistar patkányokat streptozotocinnal (50 mg/kg) vagy oldószerével kezeltünk (a kezelést dr. Pórszász Róbert végezte). Az állatokat standard körülmények között tartottuk, szabadon fogyasztottak táplálékot és ivóvizet. Nyolc hét elteltével csak azokat az állatokat használtuk fel a kísérletekhez, amelyeknek vércukor koncentrációja legalább 13 mmol/l volt, az ez alattiakat kizártuk.

In vitro kísérletek

A streptozotocinnal kezelt, oldószerrel kezelt és kezeletlen hím patkányokat (370-500 g) tarkóütéssel leöltük és kivérettük. A húgyhólyagot eltávolítottuk és sagittalisan félbe vágtuk, majd két detrusor-preparátumot készítettünk belőle (kb. 20 mm hosszú és 2 mm széles). A preparátumokat oxigenizált, 37°C-os Krebs-oldatot tartalmazó szervfürdőben 5 mN-os feszítés mellett felfüggesztettük. Izotóniás jelátalakító segítségével a mozgásokat kompenzográfion regisztráltuk. Elektromos téringerlést végeztünk, melynek paraméterei a következők voltak: a négyszögimpulzus amplitúdója 120 V, szélessége 0,1 ms; az ingerlés frekvenciája 0,1 Hz (“egyes impulzusok”), ill. 1 Hz (30 másodpercig) vagy 10 Hz (40 másodpercig).

A viszonylag szelektív kolinerg válaszok kiváltásakor P₂ purinoceptor antagonistá PPADS (50 μmol/l) plusz suramin (100 μmol/l) volt a fürdőben, a “purinerg” mechanizmusokat pedig atropin (1 μmol/l) jelenlétében vizsgáltuk. Atropin, PPADS és suramin együttes jelenlétében vizsgáltuk a hosszú idejű téringerléssel (10 Hz 40 s) kiváltott kapszaicin-érzékeny kontrakciót ill. a kapszaicin hatását (30 nmol/l vagy 1 μmol/l). Guanetidín (3 μmol/l) végig jelen volt a fürdőben a szimpatikus válaszok kiiktatására.

Eredmények

Elektromos téringerlés purinoceptor antagonisták jelenlétében

Kontroll állatokból készült preparátumokon PPADS (50 μmol/l) + suramin (100 μmol/l) jelenlétében az egyes impulzusok rövid “twitch”-szerű válaszokat hoztak létre, az 1 Hz 30 s-

es ingerlés pedig tónusos kontrakciót okozott ($17,2 \pm 1,9$ ill. $45,9 \pm 5,7$; $n=6$). Atropin ($1 \mu\text{mol/l}$) szignifikánsan, kb. 70 %-kal csökkentette ezeket a válaszokat. Ugyanilyen körülmények között a *diabéteszes* állatok preparátumai hasonló válaszokat adtak ($20,7 \pm 1,0$ ill. $49,2 \pm 3,0$; $n=8$), melyeket az atropin ($1 \mu\text{mol/l}$) szintén szignifikánsan kb 50 %-kal csökkentett.

Külön kísérletsorozatban megvizsgáltuk a kapszaicin tachyphylaxia ($1 \mu\text{mol/l}$ kapszaicin 40 percre, mosás nélkül) és a TTX hatását a PPADS plusz suramin-kezelt kontroll preparátumokon. A kapszaicin tachyphylaxia nem okozott eltérést sem az egyes impulzusok, sem az 1 Hz-es ingerlés amplitúdójában. Az $1 \mu\text{mol/l}$ TTX teljesen kivédte mindkét ingerléstípus hatását.

Elektromos téringerlés atropin jelenlétében

A *kontroll* állatokból atropin ($1 \mu\text{mol/l}$) jelenlétében kapott válaszok nagysága megközelítően azonos volt a purinoceptor blokkolók jelenlétében kapott válaszokéval ($14,6 \pm 1,0$ ill. $39,5 \pm 4,3$; $n=6$). A *diabéteszes* állatokból készített preparátumokon szignifikánsan nagyobb kontrakciókat kaptunk mindkét frekvenciánál az oldószer kontrollhoz képest ($25,7 \pm 2,8$ ill. $53,3 \pm 4,7$; $n=8$). Ettől eltekintve a válaszok alakja hasonló volt. PPADS ($50 \mu\text{mol/l}$) plusz suramin ($100 \mu\text{mol/l}$) megközelítően 50 %-os gátlást eredményezett mindkét vizsgált csoportban, mindkét alkalmazott frekvencián.

Külön kísérletsorozatban vizsgáltuk kezeletlen kontroll csoporton az emelt dózisban alkalmazott purinoceptor antagonisták hatását. $100 \mu\text{mol/l}$ PPADS plusz $200 \mu\text{mol/l}$ suramin sem védte ki teljesen az idegingerlésre kapott válaszokat. A TTX ($1 \mu\text{mol/l}$) a kontrakciókat teljesen kivédte, míg a kapszaicin tachyphylaxia nem befolyásolta egyik frekvencián kapott választ sem.

A hosszú időtartamú elektromos téringerlés

Kontroll preparátumokon atropin ($1 \mu\text{mol/l}$), PPADS ($50 \mu\text{mol/l}$) plusz suramin ($100 \mu\text{mol/l}$) jelenléte esetén a 10 Hz 40 s-os idegingerlés jellegzetes kontrakciós választ eredményezett: a kezdeti gyors kontrakciót tónusos, lassú válasz követte. TTX ($1 \mu\text{mol/l}$) 91 %-kal csökkentette a gyors választ és teljesen kivédte a tónusos komponensét. Kapszaicin előkezelés ($1 \mu\text{mol/l}$ 40 percre, mosás nélkül) a gyors választ kb. 20 %-kal csökkentette, viszont a tónusos komponens jelentősebb (80 % körüli) gátlást eredményezett (oldószerrel kezelt csoport). *Diabéteszes* állatok hólyagján kapott eredmények kapszaicin kezelés előtt jelentősen eltértek a kontroll csoporttól: a tónusos komponens kb. 60 %-kal kisebb volt a kontrollénál, míg a kezdeti gyors válasz kis mértékben nagyobb. A kapszaicin tachyphylaxia azonos

mértékben csökkentette a gyors komponensét, mint az oldószer-kezelt csoporton. A tónusos válasz gyakorlatilag eltűnt kapszaicin kezelés után (1. táblázat).

1. táblázat. A kapszaicin tachyphylaxia hatása a 10 Hz 40 s-os idegingerléssel kiváltott kontrakcióra patkány hólyag detrusor izomzatán. A válasz gyors és tónusos komponensét külön értékeltük. Átlag \pm SEM. * – szignifikáns eltérés a kontroll válaszhoz képest (Wilcoxon teszt); # – szignifikáns eltérés az oldószerrel kezelt és diabéteszes csoport között (Mann-Whitney teszt). n: elemszám.

	Kontroll 10 Hz 40 s	Kapszaicin tachyphylaxia (1 μmol/l)	n
<i>Oldószerrel kezelt csoport</i>			
gyors	26,1 \pm 4,0	19,7 \pm 2,7*	12
tónusos	25,2 \pm 4,5	4,7 \pm 1,6*	12
<i>Diabéteszes csoport</i>			
gyors	40,3 \pm 3,2 [#]	31,4 \pm 4,0* [#]	12
tónusos	10,4 \pm 2,5 [#]	1,3 \pm 0,9*	12

A kapszaicin-okozta kontrakció

Atropin (1 μ mol/l), PPADS (50 μ mol/l) + suramin (100 μ mol/l) jelenlétében vizsgáltuk a kapszaicin-okozta kontrakciót oldószerrel kezelt és diabéteszes állatok hólyagján. 30 nmol/l és 1 μ mol/l kapszaicint alkalmaztunk kumulatíván 3-3 percre. A diabéteszes csoportban kb. 20 %-kal kisebb válaszokat kaptunk mindkét vizsgált koncentráció esetén. Statisztikailag szignifikáns különbséget csak 1 μ mol/l kapszaicin esetén kaptunk. Az előzetes kapszaicin tachyphylaxia teljesen kivédte a 30 nmol/l és 1 μ mol/l kapszaicin kontraháló hatását. Utóbbi egyaránt igaz kezeletlen, oldószerrel kezelt és diabéteszes állatokra.

Külön kezeletlen állatcsoporton megvizsgáltuk a kapszaicin-okozta kontrakció farmakológiáját. A szub-maximális (300 nmol/l) kapszaicin-okozta izgató választ sem a TTX (1 μ mol/l), sem 1 μ mol/l TTX plusz ω -konotoxin GVIA (500 nmol/l) nem befolyásolta. A tachykinin receptor antagonistá SR 140 333 (200 nmol/l; NK₁ receptor blokkoló) ill. SR 48 968 (200 nmol/l; NK₂ receptor blokkoló) külön-külön adva nem okozott szignifikáns gátlást. A két antagonistá együttes adása viszont erősen gátolta a kapszaicinnal kiváltott kontrakciót (kb. 80 %-os gátlás).

A kapszaicin nem relaxálja a hólyagot

Megvizsgáltuk annak a lehetőségét, hogy a kapszaicin esetleg gátló hatásokat is kiválthat a “purinerg” ill. kolinerg neurotranszmisszióra, amit azonban az izgató hatás maszkíroz. 1 μ mol/l kapszaicint adtunk 2 perccel az elektromos ingerlések előtt (egyed impulzusok és 1 Hz

30 s-os ingerlés; PPADS + suramin ill. atropin jelenlétében). A kapszaicin nem okozott eltérést az ingerlésre kapott válaszokban a megelőző kontroll válaszokhoz képest. Acetil-kolinnal (1 $\mu\text{mol/l}$) előkontrahált preparátumokon az 1 $\mu\text{mol/l}$ kapszaicin nem váltott ki relaxációt. Ezeket a kísérleteket kezeletlen állatcsoporton végeztük és mindvégig jelen volt a két tachykinin antagonistá, hogy a kapszaicin kontraháló hatását kivédjük.

A P_2 purinoceptor antagonisták hatása az ATP-okozta kontrakcióra hólyagon

Megvizsgáltuk a PPADS (50 $\mu\text{mol/l}$) + suramin (100 $\mu\text{mol/l}$) hatását az ATP-vel kiváltott kontrakcióra. Különböző ATP-koncentrációkat alkalmaztunk, de minden preparátum esetén csak egy adott ATP-koncentrációt vizsgáltunk. Az antagonisták minden vizsgált koncentrációnál (1-100 $\mu\text{mol/l}$) erős gátlást fejtettek ki az ATP-okozta kontrakcióra.

Megbeszélés

A jelen kísérletsorozatban kísérletet tettünk arra, hogy farmakológiai eszközökkel elkülönítsük a patkány hólyag válaszainak kolinerg, "purinerg" és "peptiderg" összetevőit. PPADS és suramin jelenlétében kiváltott egyes impulzusokat és az 1 Hz-es idegingerlésre kapott válaszokat az atropin erősen (több mint 50 %-ig) gátolta, ez a válasz tehát jelentős mértékben kolinerg. A megmaradó válasz eredete eddig ismeretlen. Úgy tűnik, hogy a kolinerg (és az ismeretlen) neuronok relatíve érzéketlenek a kísérletes diabétesz károsító hatására, mivel a diabéteszes állatok hólyagján kapott válaszok nem tértek el az oldószerrel kezelt csoporttól.

Az atropin jelenlétében kapott válaszok szignifikánsan gátolhatók PPADS és suramin kombinációjával, ami a válaszok részben "purinerg" természetét bizonyítja. Eredményeink szerint a PPADS plusz suramin erősen (valószínűleg nem kompetitív módon) gátolta az exogén ATP hatását. A P_2 purinoceptor antagonisták gátló hatása az ATP-re nézve erősebb volt, mint az elektromos téringerlés esetén. Mindebből valószínűnek tűnik, hogy az atropin és a purinoceptor antagonisták jelenlétében megmaradó válasz nem "purinerg" természetű, bár a PPADS- és suramin-érzékeny purinoceptorok szerepe sem zárható ki teljesen.

Az irodalomban ismert, hogy patkány húgyhólyagon a kapszaicin kontraháló hatását tachykininek közvetítik (Maggi és mtsai, 1991). Ezt mi is alátámasztottuk receptor altípus-specifikus antagonisták, az SR 140 333 (NK_1 receptor blokkoló) és SR 48 968 (NK_2 receptor blokkoló) segítségével. A tachykinin NK_1 és NK_2 receptorok tehát szupra-additív (potencírozó) módon működnek közre a kapszaicin által kiváltott válaszban. Mivel a kapszaicin-kiváltotta kontrakció rezisztens TTX-re, valószínűtlen, hogy a tachykininek neuronális izgató hatást váltanának ki, hacsak nem az idegek terminális, TTX-rezisztens

részét aktiválják. Az utóbbi feltevést valószínűtlenné teszi, hogy a válasz érzéketlen volt ω -konotoxin GVIA adására, mely az N-típusú Ca^{2+} csatornák blokkolója.

Az 1 $\mu\text{mol/l}$ -es kapszaicin előkezelés (tachyphylaxia kiváltása) erőteljesen gátolta a 10 Hz 40 s-os elektromos téringerlés hatását, viszont a kolinerg ill. "purinerg" (egy-impulzusok és 1 Hz) válaszokra nem volt befolyása. Nem találtunk bizonyítékot a kapszaicin rövid távú relaxáló hatására patkány hólyagon, még akkor sem, ha a kontraháló hatásokat kivédtük tachykinin antagonisták segítségével. Ez meglepő, mert számos simaizom-készítményen mind izgató, mind gátló kapszaicin-hatások kiválthatók.

Diabéteszes állatok hólyagján a kapszaicin-érzékeny hosszú idejű téringerlés (10 Hz 40 s) hatása jelentősen kisebb volt, mint a kontroll csoporton, míg a kapszaicin-okozta válaszok csak kis mértékben csökkentek. Mindezek valószínűleg arra utalnak, hogy diabétesz hatására a kapszaicin-érzékeny idegek és nem a simaizom károsodik. Ezen idegekből történő transzmitter kiáramlás elektromos ingerlés hatására valószínűleg sokkal összetettebb folyamat, mint kapszaicin hatására.

A DOLGOZATBAN BEMUTATOTT ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Kutatásaink az ember és laboratóriumi állatok zsigeri szerveinek mozgásait szabályozó mechanizmusok felderítésére és befolyásolására irányultak. Eredményeink rávilágítanak arra a tényre, hogy a kapszaicin hatásában bélen nagy species-különbségek vannak: míg tengerimalacban főleg *tachykinin*-mediált izgató hatást találunk, addig humán bélen gátló hatás dominál, amelyet nem az ismert szenzoros transzmitter, a cAMP-n keresztül ható *calcitonin gén-rokon peptid* (ld. Maggi, 1995), hanem – legalábbis részben – a nitrogén-monoxid közvetít.

Kimutattuk, hogy a szenzoros izgató kapszaicin NO közvetítésével okoz elernyedést humán szigmabél, felszálló vastagbél és appendix körkörös izomzatán. A vékonybéllel kapcsolatban is hasonló eredményekre jutottunk. Eszerint az, hogy a szenzoros izgató kapszaicin NO-mediált gátló választ vált ki, meglehetősen általános jelenség az emberi bélhuzamban. A válasz nem érzékeny az idegi vezetést gátló tetrodotoxinra, tehát nem valószínű, hogy az NO enterális neuronokból származna, amelyeket szenzoros

idegvégződések aktiválnak; fölvetődik annak lehetősége, hogy az NO magukból a kapszaicin-érzékeny érző idegvégződésekből szabadul fel. Ennek lehető tisztázására tervezzük, hogy neuronális NOS-gátlók hatását is vizsgáljuk a későbbiekben (a jelen kísérletekhez N^G-nitro-L-arginint használtunk, amely nem differenciál a NOS izoenzimek között).

Rágcsáló béltraktusán végzett kísérleteink is alátámasztják az NO szenzoros neurotransmitter szerepét. Egér vastagbélből készült körkörös „cikkcakk” készítményen a kapszaicin elernyedést okoz, amely részlegesen érzékeny mind az NO szintézis, mind az idegvezetés bénítására. Az NO a tengerimalac colonon viszont nem játszik szerepet a kapszaicin-okozta válaszban.

A vegetatív idegrendszerben meglehetősen általános a ko-transzmisszió jelensége, melyet jelen kísérletekben is kimutattunk. Elektromos téringerléssel kiváltott NANC elernyedés mechanizmusát vizsgáltuk humán szigmabél körkörös izomzatán. Kimutattuk, hogy a válaszban nemcsak a már ismert NO, hanem P₂ purinoceptor agonista (valószínűleg ATP) is részt vesz, de szerepe csak akkor válik nyilvánvalóvá, ha NOS-gátló is jelen van a rendszerben. Feltehetően supra-additív (potenciózó) viszony van a két transzmitter közt ezen a szervben. A P₂ purinoceptorok gátlására használt antagonistá-keverék (PPADS plusz suramin) jól és specifikusan gátolta az exogén purinoceptor-izgató α,β -meATP elernyesztő hatását.

Patkány izolált szervi készítményeken kimutattuk, hogy a vékonybél elektromos ideg ingerléssel kiváltott válaszait NO és ATP-szerű anyag együtt közvetíti. Ezen a preparátumon bebizonyítottuk, hogy nincs olyan összetevője a válasznak, amely harmadik NANC mediátor (pl. CO vagy neuropeptid) felszabadulásával volna magyarázható. A P₂ purinoceptorok bénítását itt is specifikus antagonistá (PPADS) segítségével végeztük.

Mindkét fent említett preparátumon megvizsgáltuk a guanilát-cikláz gátló ODQ jelű vegyület hatását olyan körülmények közt, hogy a NOS-t előzőleg bénítottuk. Az ODQ nem okozott további gátló hatást L-NOARG jelenlétében sem humán szigmabélen, sem patkány ileum preparátumon. Ez arra utal, hogy az ideg ingerléssel kiváltott NANC relaxációban az NO-n kívül más szolubilis guanilát-ciklazon keresztül ható transzmitter (pl. CO) nem vesz részt.

Patkány hólyagon kimutattuk, hogy a kapszaicin izgató hatását tachykinin NK₁ és NK₂ receptor antagonisták kombinációjával lehet gátolni, továbbá hogy a kísérletes diabétesz kizárólag a kapszaicin-érzékeny válaszokat gátolta. A kapszaicinre nem érzékeny zsigeri idegekkel kapcsolatban megállapítottuk, hogy kolinerg-, ill. purinoceptor-antagonisták és

kapszaicin-deszenzibilizáció segítségével a hólyagizomzatra ható vegetatív kolinerg, ill. „purinerg” hatások egymástól farmakológiailag jelentősen elkülöníthetők és befolyásolásuk külön-külön tanulmányozható.

A várakozással ellentétben eddig nem találtunk bizonyítékot arra, hogy az endokannabinoid anandamid humán bél-preparátumokon kapszaicin-szerű hatásokat fejtenek ki.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Őszinte köszönetemet fejezem ki *dr. Barthó Loránd* egyetemi tanár úrnak, témavezetőmnek, aki bevezetett a tudományos kutatómunka világába és mindvégig magas szintű szakmai tanácsaival irányította PhD munkámat. Köszönettel tartozom munkatársaimnak, *dr. Lázár Zsófiának*, *dr. Undi Saroltának* és *dr. Wolf Mátyásnak* a kísérletes munkában nyújtott baráti segítségükért, ill. volt kollégámnak *ifj. dr. Lénárd Lászlónak*, aki a kísérletes módszerek elsajátításában segítségemre volt. Köszönettel tartozom előbírálóimnak, *dr. Mózsik Gyula* egyetemi tanár úrnak és *dr. Király Ágnes* egyetemi docensnek, hogy hasznos tanácsaikkal segítették az értekezésem végleges formájának kialakítását. Végül, de nem utolsó sorban, köszönöm szüleimnek, hogy mindvégig támogattak tanulmányaim és munkám során.

IRODALOM

- Barthó L, Benkó R, Patacchini R, Pethő G, Holzer-Petsche U, Holzer P, Lázár Z, Undi S, Illényi L, Antal A, Horváth ÖP, 2004. Effects of capsaicin on visceral smooth muscle: a valuable tool for sensory neurotransmitter identification. *Eur. J. Pharmacol.* 500: 143-157.
- Barthó L, Kóczán G, Holzer P, Maggi CA, Szolcsányi J, 1991. Antagonism of the effects of calcitonin gene-related peptide and of capsaicin on the guinea-pig isolated ileum by human alpha-calcitonin gene-related peptide(8-37). *Neurosci. Lett.* 129: 156-159.
- Barthó L, Lázár Zs, Lénárd LJr, Benkó R, Tóth G, Penke B, Szolcsányi J, Maggi CA, 2000. Evidence for the involvement of ATP, but not of VIP/PACAP or nitric oxide, in the excitatory effect of capsaicin in the small intestine. *Eur. J. Pharmacol.* 392: 183-188.
- Barthó L, Lefebvre R, 1994. Nitric oxide induces acetylcholine-mediated contractions in the guinea-pig small intestine. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 350: 582-584.
- Barthó L, Lénárd LJr, Patacchini R, Halmi V, Wilhelm M, Holzer P, Maggi CA, 1999. Tachykinin receptors are involved in the "local efferent" motor response to capsaicin in the guinea-pig small intestine and oesophagus. *Neuroscience* 90: 221-228.
- Barthó L, Lénárd LJr, Szigeti R, 1998. Nitric oxide and ATP co-mediate the NANC relaxant response in the guinea-pig taenia caeci. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 358: 496-499.
- Barthó L, Pethő G, Antal A, Holzer P, Szolcsányi J, 1987. Two types of relaxation due to capsaicin in the guinea-pig ileum. *Neurosci. Lett.* 81:146-150.
- Barthó L, Szolcsányi J, 1978. The site of action of capsaicin on the guinea-pig isolated ileum. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 305: 75-81.
- Bayliss WM, Starling EH, 1899. The movements and innervation of the small intestine. *J. Physiol.* 24: 99-143.
- Burnstock G, 1972. Purinergic nerves. *Pharmacol Rev.* 24: 509-560.
- Burnstock G, 1997. The past, present and future of purine nucleotides as signalling molecules. *Neuropharmacol.* 36: 1127-1139.
- Caterina MJ, Julius D, 2001. The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. *Ann. Rev. Neurosci.* 24: 487-517.
- Clapham DE, Montell C, Schultz G, Julius D, 2003. International Union of Pharmacology. XLIII. Compendium of voltage-gated ion channels: transient receptor potential channels. *Pharmacol. Rev.* 55: 591-596.
- Dahlstrand C, Dahlström A, Ahlman H, Jonsson O, Lundstam S, Norlén L, Pettersson S, 1992. Effect of substance P on detrusor muscle in rats with diabetic cystopathy. *Br. J. Urol.* 70: 390-394.
- Davis JB, Gray J, Gunthorpe MJ, Hatcher JP, Davey PT, Overend P, Harries MH, Latcham J, Clapham C, Atkinson K, Hughes SA, Rance K, Grau E, Harper AJ, Pugh PL, Rogers DC, Bingham S, Randall A, Sheardown SA, 2000. Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal hyperalgesia. *Nature* 405: 183-187.
- De Petrocellis L, Bisogno T, Maccarrone M, Davis JB, Finazzi-Agro A, DiMarzo V, 2001. The activity of anandamide at vanilloid VR1 receptors requires facilitated transport across the cell membrane and is limited by intracellular metabolism. *J. Biol. Chem.* 276: 12856-12863.
- Goyal RK, Hirano I, 1996. The enteric nervous system. *New England J. Med.* 334: 1106-1115.
- Hoyle CH, 1992. Transmission: purines. In: *Autonomic Neuroeffector Mechanisms*, ed. Burnstock G, Hoyle CH; Harwood Academic Publishers, Chur, 1992, pp. 367-407.
- Hoyle CH, 1994. Non-adrenergic, non-cholinergic control of the urinary bladder. *World J. Urol.* 12: 233-244.
- Jancsó N, Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J, 1967. Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* 31: 138-151.
- Jancsó N, Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J, 1968. The role of sensory nerve endings in neurogenic inflammation induced in human skin and in the eye and paw of the rat. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* 33: 32-41.
- Kamata K, Inoue K, Kasuya Y, 1992. Changes in contractile responses of the urinary bladder to substance P in streptozotocin-induced diabetic rats. *Gen. Pharmacol.* 24: 547-553.
- Lecci A, Santicioli P, Maggi CA, 2002. Pharmacology of transmission to gastrointestinal muscle. *Curr. Op. Pharmacol.* 2: 630-641.
- Lefebvre RA, Barthó L, 1997. Mechanism of the nitric oxide-induced contraction in the rat isolated small intestine. *Br. J. Pharmacol.* 120: 975-981.
- Maggi CA, 1995. Tachykinins and calcitonin gene-related peptide (CGRP) as co-transmitters released from peripheral endings of sensory nerves. *Prog. Neurobiol.* 45: 1-98.
- Maggi CA, Giuliani S, Santicioli P, Patacchini R, Said SI, Theodorsson E, Turini D, Barbanti G, Giachetti A, Meli A, 1990a. Direct evidence for the involvement of vasoactive intestinal polypeptide in the motor response of the human isolated ileum to capsaicin. *Eur. J. Pharmacol.* 185: 169-178.

- Maggi CA, Giuliani S, Zagorodnyuk V, 1996. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the circular muscle of guinea-pig colon: role as inhibitory transmitter and mechanisms of relaxation. *Regulatory Peptides* 61: 27-36.
- Maggi CA, Patacchini R, Santicioli P, Giuliani S, 1991. Tachykinin antagonists and capsaicin-induced contraction of the rat isolated urinary bladder: evidence for tachykinin-mediated cotransmission. *Br. J. Pharmacol.* 103: 1535-1541.
- Maggi CA, Santicioli P, Del Bianco E, Geppetti P, Barbanti G, Turini D, Meli A, 1989. Release of VIP- but not CGRP-like immunoreactivity by capsaicin from the human isolated small intestine. *Neurosci. Lett.* 98: 317-320.
- Maggi CA, Theodorsson E, Santicioli P, Patacchini R, Barbanti G, Turini D, Renzi D, Giachetti A, 1990b. Motor response of the human isolated colon to capsaicin and its relationship to release of vasoactive intestinal polypeptide. *Neuroscience* 39: 833-841.
- Meini S, Maggi CA, 1994. Evidence for a capsaicin-sensitive, tachykinin-mediated, component in the NANC contraction of the rat urinary bladder to nerve stimulation. *Br. J. Pharmacol.* 112: 1123-1131.
- Paton WDM, Vizi ES, 1969. The inhibitory action of noradrenaline and adrenaline on acetylcholine output by guinea-pig ileum longitudinal muscle strip. *Br. J. Pharmacol.* 35: 10-20.
- Pinna C, Bolego C, Puglisi L, 1994. Effect of substance P and capsaicin on urinary bladder of diabetic rats and the role of the epithelium. *Eur. J. Pharmacol.* 271: 151-158.
- Santicioli P, Gamse R, Maggi CA, Meli A, 1987. Cystometric changes in the early phase of streptozotocin-induced diabetes in rats: evidence for sensory changes not correlated to diabetic neuropathy. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 335: 580-587.
- Smart D, Gunthorpe MJ, Jerman JC, Nasir S, Gray J, Muir AI, Chambers JK, Randall AD, Davis JB, 2000. The endogenous lipid anandamide is a full agonist at the human vanilloid receptor (hVR1). *Br. J. Pharmacol.* 129: 227-230.
- Smits GJM, Lefebvre RA, 1996. ATP and nitric oxide: inhibitory NANC neurotransmitters in the longitudinal muscle-myenteric plexus preparation of the rat ileum, *Br. J. Pharmacol.* 118: 695-703.
- Szolcsányi J, 1984. Capsaicin-sensitive chemoceptive neural system with dual sensory-efferent function. In: *Antidromic Vasodilatation and Neurogenic Inflammation*, ed. Chahl LA, Szolcsányi J, Lembeck F; Akadémiai Kiadó, Budapest, 1984, pp. 27-56.
- Szolcsányi J, 2000. Anandamide and the question of its functional role for activation of capsaicin receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 21: 203-204.
- Szolcsányi J, Barthó L, 1978. New type of nerve-mediated cholinergic contractions of the guinea-pig small intestine and its selective blockade by capsaicin. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 305: 83-90.
- Tanovic A, Jimenez M, Fernandez E, 2001. Actions of NO donors and endogenous nitric oxide on the longitudinal muscle of rat ileum *in vitro*: mechanisms involved. *Life Sci.* 69: 1143-1154.
- Whittle BJ, 1994. Nitric oxide in gastrointestinal physiology and pathology. In: Johnson, L.R. (Ed.) *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 3rd ed. Raven Press, New York, pp. 267-294.
- Wood JD, 1994. Physiology of the enteric nervous system. In: Johnson, L.R. (Ed.) *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 3rd ed. Raven Press, New York, pp. 423-475.

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

Barthó L, Benkó R, Lázár Z, Illényi L, Horváth ÖP, 2002, Nitric oxide is involved in the relaxant effect of capsaicin in the human sigmoid colon circular muscle. Naunyn-Schmiedebergs' Arch. Pharmacol. 366: 496-500. IF: 2,6

Benkó R Lázár Z, Pórszász R, Somogyi G, Barthó L, 2003, Effect of experimental diabetes on cholinergic, purinergic and peptidergic motor responses of the isolated rat bladder to electrical field stimulation or capsaicin. Eur. J. Pharmacol. 478: 73-80. IF: 2,4

Benkó R, Lázár Z, Undi S, Illényi L, Antal A, Horváth ÖP, Rumbus Z, Wolf M, Maggi CA, Barthó L, 2004, Inhibition of nitric oxide synthesis blocks the inhibitory response to capsaicin in intestinal circular muscle preparations from different species. Life Sci. 76: 2773-2782. IF: 2,2

Barthó L, Benkó R, Patacchini R, Pethő G, Holzer-Petsche U, Holzer P, Lázár Z, Undi S, Illényi L, Antal A, Horváth ÖP, 2004, Effects of capsaicin on visceral smooth muscle: a valuable tool for sensory neurotransmitter identification. Eur. J. Pharmacol. 500: 143-157. IF: 2,4

Benkó R, Undi S, Wolf M, Magyar K, Tóvölgyi Z, Rumbus Z, Barthó L, 2006, P₂ purinoceptors account for the non-nitregic NANC relaxation in the rat ileum. Naunyn-Schmiedebergs' Arch. Pharmacol. 4: 319-324. IF: 2,1

Közlésre való előkészítés alatt:

Benkó R, Undi S, Wolf M, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Horváth ÖP, Antal A, Magyar K, Tóvölgyi Z, Barthó L, 2006. P₂ purinoceptor antagonists inhibit the NANC relaxation of the human colon *in vitro*. Neuroscience.

A JELÖLT EGYÉB KÖZLEMÉNYEI

Lénárd L Jr, Lázár Z, Benkó R, Szigeti R, Báthori Z, Tóth GK, Penke B, Barthó L, 2000, Inhibitory effect of PACAP(6-38) on relaxations induced by PACAP, VIP and non-adrenergic, non-cholinergic nerve stimulation in the guinea-pig taenia caeci. Naunyn-Schmiedebergs' Arch. Pharmacol. 361: 492-497. IF: 2,9

Barthó L, Lázár Z, Lénárd L Jr, Benkó R, Tóth G, Penke B, Szolcsányi J, Maggi CA, 2000, Evidence for the involvement of ATP, but not of VIP/PACAP or nitric oxide, in the excitatory effect of capsaicin in the small intestine. Eur. J. Pharmacol. 392: 183-188.

IF: 2,2

- Rózsa B, Lázár Z, Benkó R, Barthó L, 2001, Inhibition of the NANC relaxation of the guinea-pig proximal colon longitudinal muscle by the purinoceptor antagonist PPADS, inhibition of nitric oxide synthase, but not by a PACAP/VIP antagonist. *Pharmacol. Res.* 43: 83-87. IF: 0,9
- Lázár Z, Shahbazian A, Benkó R, Tóth G, Penke B, Barthó L, Holzer P, 2001, PACAP(6-38) inhibits the effects of vasoactive intestinal polypeptide, but not PACAP, on the small intestinal circular muscle. *Eur. J. Pharmacol.* 431: 259-264. IF: 2,2
- Lázár Z, Benkó R, Bölskei K, Rumbus Z, Wolf M, Holzer P, Maggi CA, Barthó L, 2003, Actions of endothelin and corticotropin releasing factor in the guinea-pig ileum: no evidence for an interaction with capsaicin-sensitive neurons. *Neuropeptides* 37: 220-232. IF: 2,2
- Benkó R, Undi S, Wolf M, Barthó L, 2005, Effects of acute administration of and tachyphylaxis to α,β -methylene ATP in the guinea-pig small intestine. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 97: 369-373. IF: 1,5
- Barthó L, Undi S, Benkó R, Wolf M, 2005, Ideg-simaizom transzmitterek a gyomor-bélhuzamban: A motilitászavarok lehetséges háttere. *Praxis* 14 (12): 14-19.
- Barthó L, Undi S, Benkó R, Wolf M, Lázár Z, Lénárd L Jr, Maggi CA, 2006, Multiple motor effects of ATP and their inhibition by PPADS in the small intestine of the guinea-pig. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 98: 488-495. IF: 1,5
- Undi S, Benkó R, Wolf M, Illényi L, Horváth ÖP, Antal A, Csontos Z, Vereczkei A, Barthó L, 2006, Purinergic nerves mediate the non-nitroergic relaxation of the human ileum in response to electrical field stimulation. *Brain Res. Bulletin* (in press). IF: 2,5

Kongresszusi szereplések

- Lénárd LJr, Barthó L, Benkó R, Báthori Z, Tóth G, Penke B, PACAP-antagonista gátolja a nem-adrenerg, nem-kolinerg elernyedést a coecumban. MITT vándorgyűlés, Harkány, 1999. jan. 27-30. [**Abstract:** Neurobiology 7: 349-350, 1999]
- Barthó L, Lénárd LJr, Benkó R, Tóth G, Penke B, PACAP antagonist inhibits non-adrenergic, non-cholinergic (NANC) relaxation in the guinea-pig taenia caeci. Neuropeptides - Ferrara 1999 (9th Annual Meeting of the European Neuropeptide Club, Ferrara, Italy, 12-15 May, 1999. [**Abstract:** Regul. Pept. 80:146, 1999]
- Barthó L, Lénárd L Jr, Szigeti R, Benkó R, Báthori Z, Tóth G, Penke B, Nitric oxide, ATP and pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) mediate the relaxant response of the guinea-pig taenia caeci. Second European Congress of Pharmacology, July 3-7, 1999, Budapest, Hungary. [**Abstract:** Fundam. Clin. Pharmacol. 13/Suppl. 1, 1999, 77s]
- Lázár Z, Lénárd LJr, Benkó R, Tóth G, Penke B, Szolcsányi J, Maggi CA, Barthó L, Evidence for the participation of P₂ purinoceptors in the excitatory effect of capsaicin in the small intestine. The 6th European Congress of Pharmaceutical Sciences, September 16-19, 2000, Budapest, Hungary. [**Abstract:** Eur. J. Pharmaceutical Sci. 11/Suppl. 1, 2000, S113]
- Barthó L, Lázár Z, Lénárd LJr, Benkó R, Tóth G, Penke B, Szolcsányi J, Maggi CA, P₂ purinoceptors, but not vasoactive intestinal polypeptide/pituitary adenylate cyclase activating polypeptide or nitric oxide, play a role in the excitatory effect of capsaicin on myenteric neurons. Hung. Physiol. Soc./Br. Physiol. Soc. Meeting, Budapest, 27-29 May, 2000. [**Abstract:** J. Physiol. Lond. 526 P, 167 P.]
- Lázár Z, Benkó R, Barthó L, Nem nitrerg, nem VIP-erg gátló válasz légsőben. Magyar Idegtudományi Társaság (MITT) VIII. Konferenciája, Szeged, 2001. január 24-27.
- Barthó L, Benkó R, Lázár Z, Illényi L, Horváth ÖP, A kapszaicin mozgató hatása humán vastagbélben. A Magyar Élettani Társaság (MÉT) kongresszusa, Szeged, 2001. június 6-8.
- Barthó L, Benkó R, Lázár Z, Illényi L, Horváth ÖP, Motor effects of capsaicin in the human colon. 7th Meeting of the Austrian Neuroscience Association, Seggau/Leibnitz, Styria, Austria, 2-5 September, 2001.
- Lázár Z, Shahbazian A, Benkó R, Tóth G, Penke B, Barthó L, Holzer P, PACAP(6-38) inhibits the effects of VIP, but not PACAP, on the small intestinal circular muscle. 7th Meeting of the Austrian Neuroscience Association, Seggau/Leibnitz, Styria, Austria, 2-5 September, 2001.
- Benkó R, Lázár Z, Pórszász R, Barthó L, Csökkent zsigeri kapszaicin-érzékeny válaszok streptozotocin-diabéteszes patkányban. A Magyar Diabetes Társaság XVI. Kongresszusa, Debrecen, 2002. május 30-június 2. [**Abstract:** Diabetologia Hungarica 10, Suppl. 1, 10. old., 2002]
- Barthó L, Benkó R, Lázár Z, Illényi L, Horváth ÖP, Kapszaicin-érzékeny idegek lokális efferens hatásai humán colonon. A Magyar Gasztroenterológiai Társaság 44. Nagygyűlése, Balatonaliga, 2002 június 4-8. (Motilitási Szekció, június 6.)
- Benkó R, Lázár Z, Undi S, Rumbus Z, Wolf M, Barthó L, A nitrogén-monoxid szerepe a kapszaicin hatásában különböző fajok bél körkörös izomzatán. A Magyar Élettani Társaság (MÉT) kongresszusa, Debrecen, 2004. június 7-9.
- Benkó R, Undi S, Wolf M, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Barthó L, Nitrerg-purinerg interakciók tengerimalac-, patkány- és humán izolált bélben. A Magyar Élettani Társaság (MÉT) kongresszusa, Budapest, 2005.

- június 2-4. [**Extended abstract:** Nitroergic-purinergic interactions in the guinea-pig, rat, and human intestine. *Acta Physiol. Hung.* 92 (3-4): 244-245.]
- Barthó L, Benkó R, Undi S, Pethő G, Sensory neurotransmitters and modulators: the basis of analgesic research. 1st BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences, Siófok, Hungary, September 26-28, 2005.
- Undi S, Benkó R, Wolf M, Magyar K, Barthó L: A guanilát-cikláz gátló ODQ hatása az elektromos téringerléssel kiváltott simaizom-válaszokra és a perisztaltikus reflexre. A Magyar Experimentális Farmakológia Tavasz Szimpóziuma, Budapest, 2005. június 6-7. [**Abstract:** *Inflammopharmacology* 13: (5-6) 572-573.]
- Wolf M., Undi S, Benkó R, Magyar K, Tóvölgyi Z, Barthó L, Egy guanilát-cikláz gátló vegyület hatása az elektromos téringerléssel kiváltott simaizom-válaszokra és a perisztaltikus reflexre. A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXX. Vándorgyűlése, Szeged, 2006. június 7-9.
- Undi S, Wolf M, Benkó R, Illényi L, Cseke L, Kassai M, Vereczkei A, Horváth ÖP, Antal A, Barthó L, Purinerg gátló válasz humán ileumon. A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXX. Vándorgyűlése, Szeged, 2006. június 7-9.
- Undi S, Wolf M, Benkó R, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Antal A, Horváth ÖP, Barthó L, P₂ purinoceptor antagonisták gátló hatása human colon NANC relaxációjára *in vitro*. A Magyar Experimentális Farmakológia Szimpóziuma, Pécs, 2006. június 3.
- Benkó R, Undi S, Wolf M, Magyar K, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Horváth ÖP, Antal A, Barthó L, NO and ATP co-mediate the non-adrenergic, non-cholinergic (NANC) relaxation in the human colon and rat ileum. 15th World Congress of Pharmacology, IUPHAR, Peking, 2006. július 2-7. [**Abstract:** *Acta Pharmacologica Sinica*, 2006, Suppl. 1: P 110.]
- Undi S, Benkó R, Wolf M, Lázár Z, Lénárd L Jr., Maggi CA, Barthó L, Effects of ATP and alpha, beta-methylene ATP (ABMA) and their inhibition by PPADS in the non-stimulated and field-stimulated guinea-pig ileum. 15th World Congress of Pharmacology, IUPHAR, Peking, 2006. július 2-7. [**Abstract:** *Acta Pharmacologica Sinica*, 2006, Suppl. 1: P 111.]