

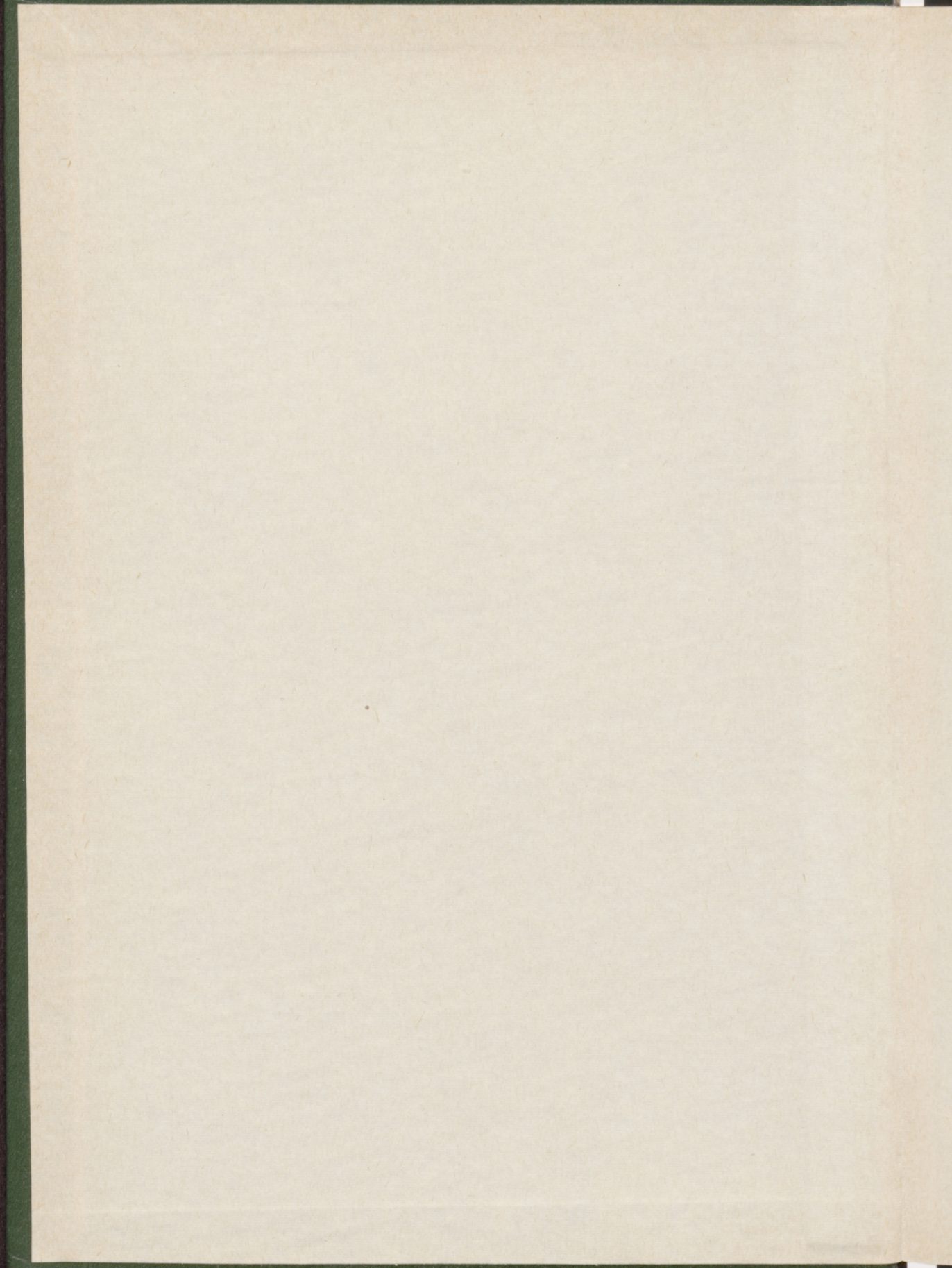
MC  
111.029

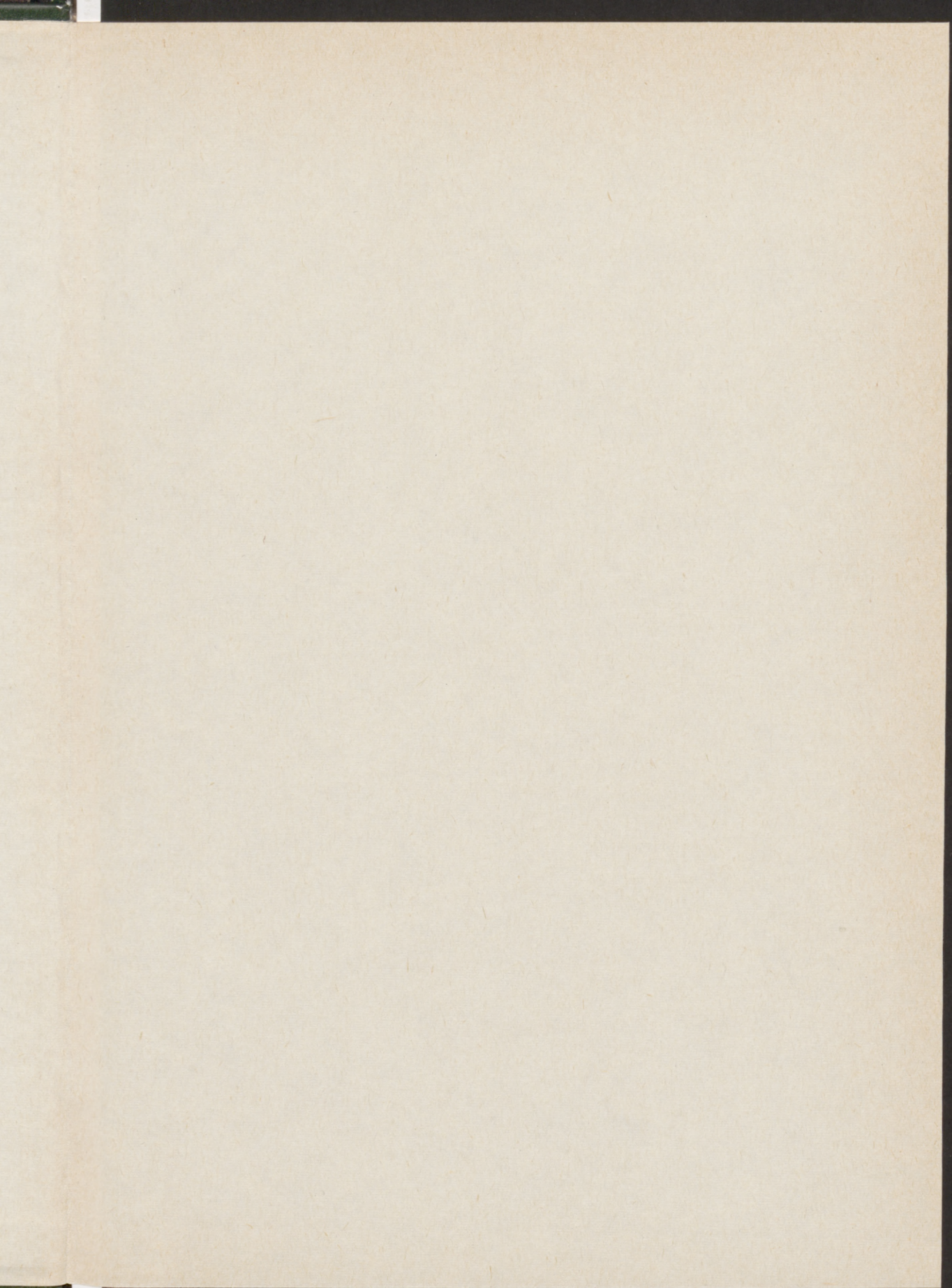
A  
KERINGÉS-  
FARMAKOLÓGIAI  
KUTATÁSOK  
ÚJABB  
EREDMÉNYEI

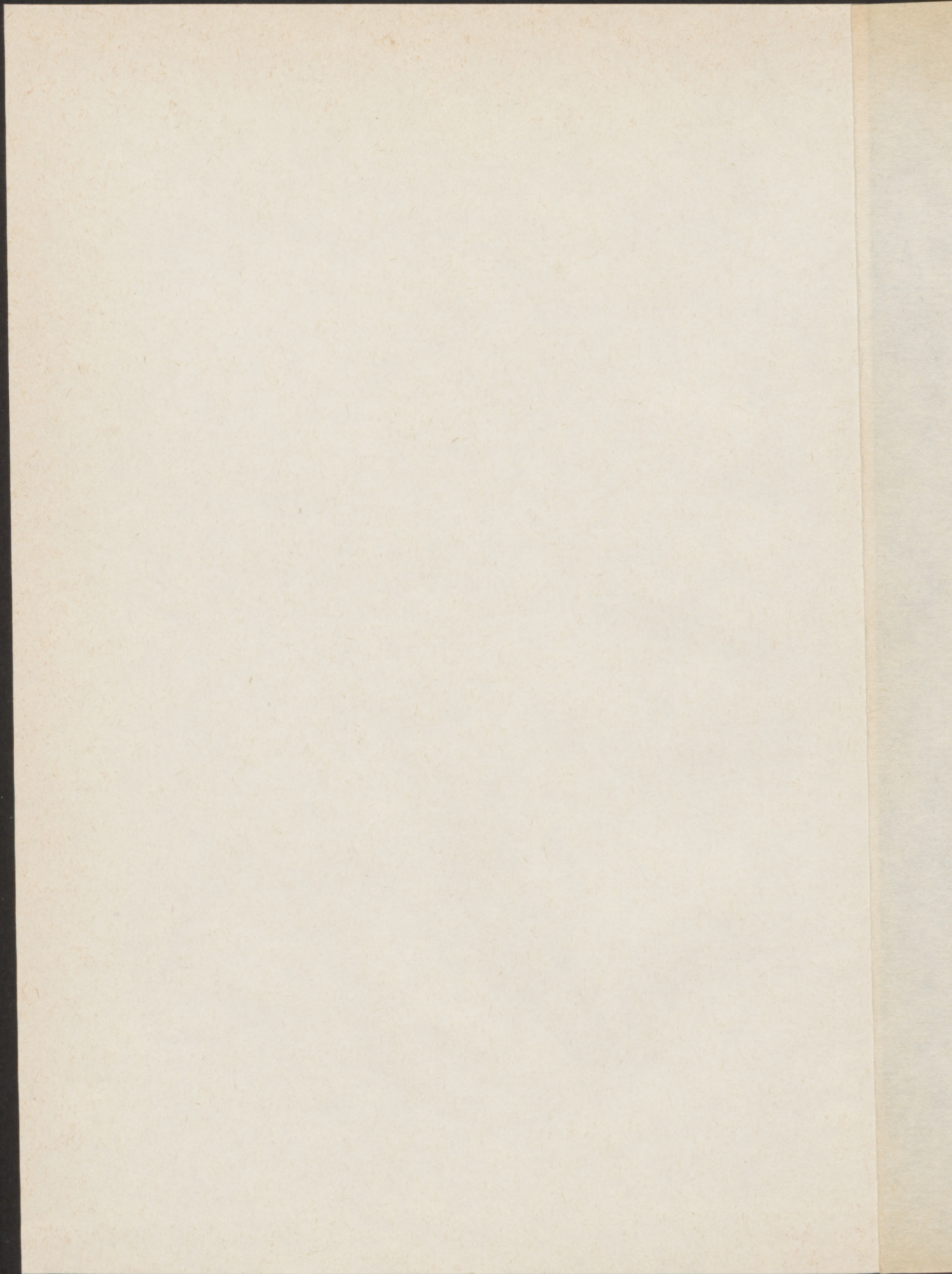


NOTE

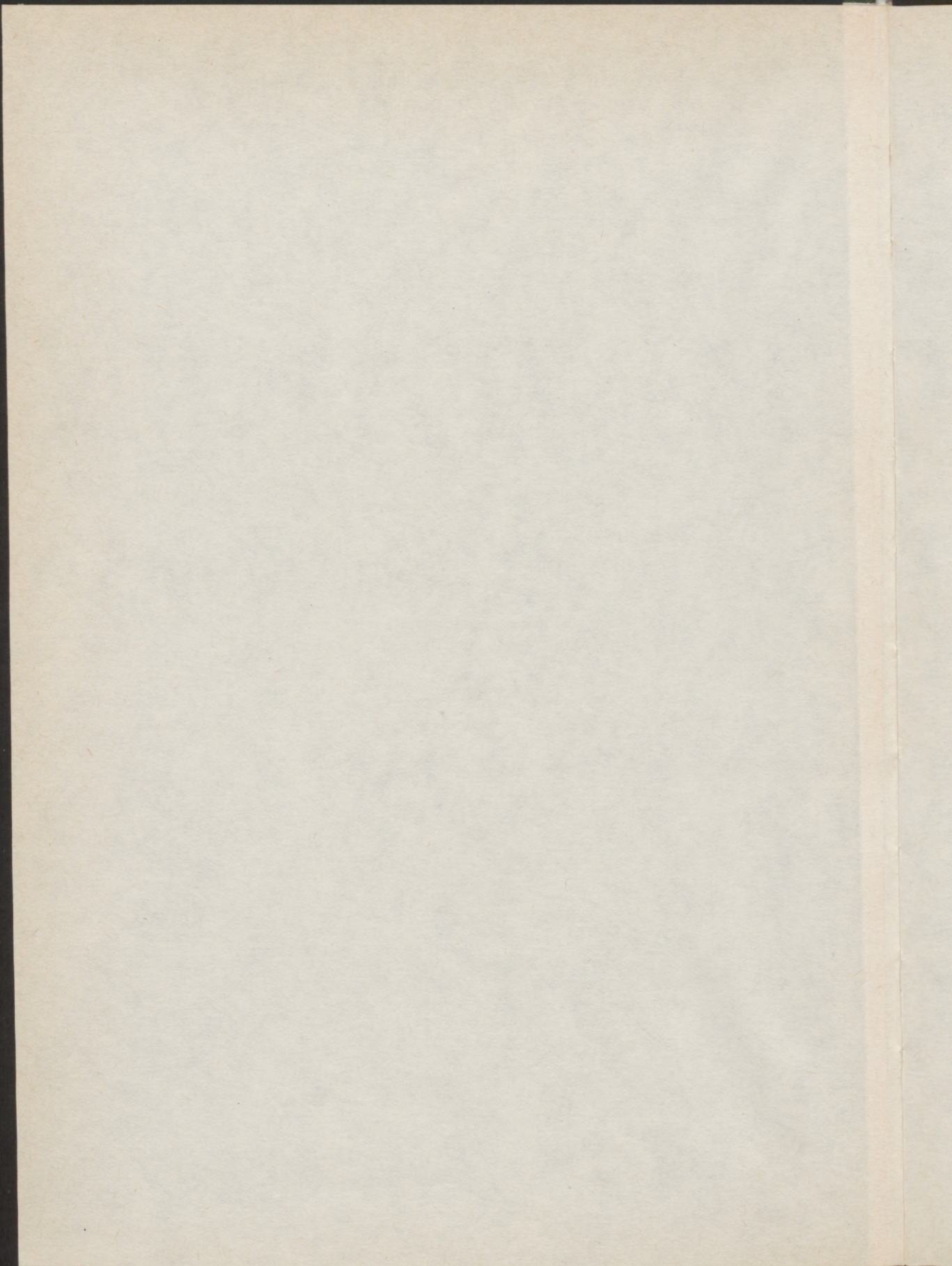
Szerkesztették:  
SZABÓ ZS. JUDIT  
SZENTMIKLÓSI A. JÓZSEF







A KERINGÉSFARMAKOLÓGIAI KUTATÁSOK  
ÚJABB EREDMÉNYEI



# A KERINGÉSFARMAKOLÓGIAI KUTATÁSOK ÚJABB EREDMÉNYEI

*Szerkesztette*

SZABÓ ZS. JUDIT  
SZENTMIKLÓSI A. JÓZSEF

NOTE · DEBRECEN, 1990

MC 117.029



1990

© Debreceni Orvostudományi Egyetem, Debrecen, 1990

ISBN 963 7286 24 1

A DOTE kiadványa.

Fedélterv: Schmidt Mária. Nyomta az Alföldi Nyomda. A nyomdai rendelés törzsszáma: 3314.66-11-1  
Készült Debrecenben, az 1990. évben. Felelős vezető: Szabó Viktor vezérigazgató



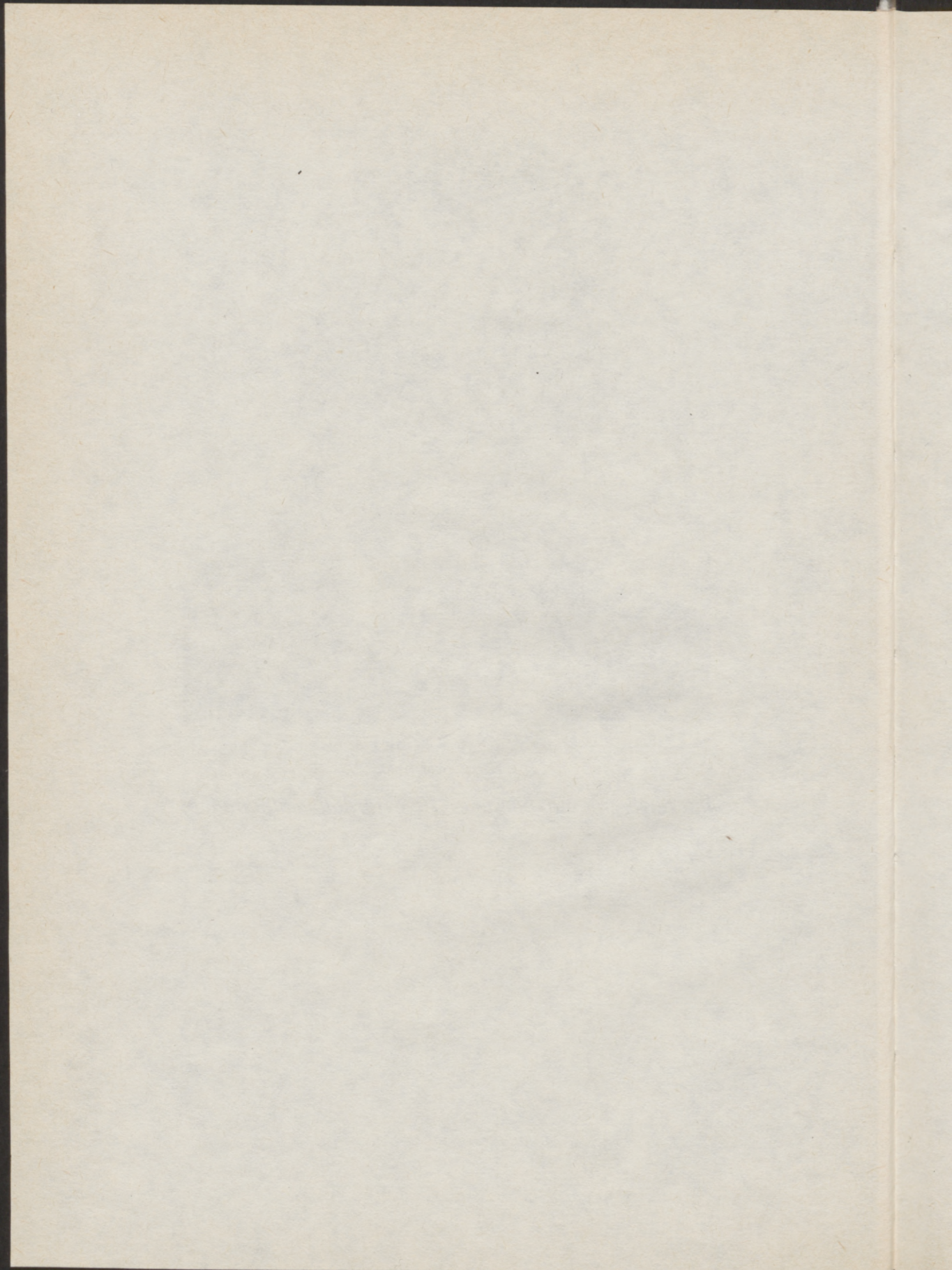


SZEGI JÓZSEF

egyetemi tanár úrnak

*intézetvezetői működésének 20. évfordulója alkalmából*





# TARTALOM

Előszó	9
A kötet szerzői	11
Köszönetnyilvánítás	13
I. ANTIARITMIÁS GYÓGYSZEREK: ELMÉLETI ÉS GYAKORLATI PROBLÉMÁK	15
Az antiaritmiás szerek aritmogén hatásáról	
SZEKERES LÁSZLÓ	17
Antiaritmiás szerek farmakológiájának új szempontjai elektrofiziológiai tulajdonságuk alapján	
KECSKEMÉTI VALÉRIA	25
II. MEDIÁTOROK A KERINGÉSI RENDSZER SZABÁLYOZÁSÁBAN: A HATÁSOK ELEMZÉSE A RECEPTOROK ÉS AZ IONTRANSPORT-MECHANIZMUSOK SZINTJÉN	41
Cholinerg izgató szerek hatása praenatális emberi szívben és postnatális humán myocardiumban	
PAPP GYULA	43
Kolinerg-noradrenerg kölcsönhatás szíven: izomrelaxánsok hatása	
VIZI E. SZILVESZTER, TÖRŐCSIK ANDRÁS, OBERFRANK FERENC, DÓDA MARGIT	63
Van-e a nátriumkonduktanciának endogén humorális szabályozása a szívizomsejtekben?	
KELEMEN KÁROLY, MARKÓ RAISZA	71
Perifériás noradrenerg transzmisszió és a nátrium-pumpa	
TÖRÖK TAMÁS, MAGYAR KÁLMÁN	81
A membrán kálium-transzport folyamatainak szerepe az adenozin miokardiális hatásaiban	
SZENTMIKLÓSI A. JÓZSEF, CSEPPENTŐ ÁGNES, KOVÁCS TIBOR	97
Endogén opioidok és a magas vérnyomás	
FARSANG CSABA	117
Az adenozin vazokonstriktor hatásának elemzése tengerimalac pulmonális artéria preparátumokon	
CSEPPENTŐ ÁGNES, SZENTMIKLÓSI A. JÓZSEF, SIPKA SÁNDOR, GAJDOS ANIKÓ	141
III. A KARDIOVASZKULÁRIS RENDSZER FUNKCIONÁLIS AKTIVITÁSÁNAK VÁLTOZÁSAI PATOLÓGIÁS KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT	159
Az atrialis natriuretikus peptid hatása a normál és ischaemiás koszorúeres keringésben	
JUHÁSZ-NAGY SÁNDOR, KÉKESI VIOLETTA, TÓTH MIKLÓS	161
Az eicosanoidok szerepe cukorbetegségben a koszorúér-keringés szabályozásában	
POGÁTSA GÁBOR	173
Az endothelium szerepe a diabetes mellitust kísérő érreaktivitás-változásában. Összefoglalás	
HADHÁZY PÁL, GEBREMEDHIN DEBEBE	189
Szív- és vázizmok Na-pumpa aktivitásának változása kísérletes diabetes mellitusban	
KOVÁCS TIBOR, SOMOGYI JÁNOS	199

A miozin könnyű lánc foszforiláció szerepe a szívizom összehúzódás szabályozásában SZABÓ ZS. JUDIT	215
Keringésfarmakológiai kutatás a Biogal farmakológiai osztályán TAKÁCS E. ILDIKÓ	233
IV. A HEMORHEOLÓGIAI KUTATÁSOK FARMAKOLÓGIAI JELENTŐSÉGE	245
Drotaverin-acefillinát (Depogen) és pentoxifillin (Trental) összehasonlító vizsgálata KAPUI ZOLTÁN, HERMECZ ISTVÁN, SARKADI BALÁZS, SZENTMIKLÓSI PÉTER, TARDOS LÁSZLÓ	247
V. A KÁLCIUM-PUMPA SZEREPE A MIOKARDIÁLIS FUNKCIÓKAT BEFOLYÁSOLÓ SZEREK HATÁSMECHANIZMUSÁBAN	265
CH-103 hatása a miokardiális membrán $Ca^{2+}$ -ATPáz aktivitására NOSZTRAY KLÁRA, VARGA EDIT, DARABOS GABRIELLA, SZENTMIKLÓSI A. JÓZSEF, SZABÓ ZS. JUDIT	267

# ELŐSZÓ

Az idén lesz 20 esztendeje annak, hogy dr. Szegi Józsefet, a Sszemelweis Orvostudományi Egyetem docensét tanszékvezető egyetemi tanárrá nevezték ki a Debreceni Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézetébe. Kinevezését követően az intézetben – korábbi szakterületének megfelelően – keringésfarmakológiai kutatásokat indított el a hagyományos kemoterápiái, toxikológiai és hormonológiai kutatások mellett. Ily módon az intézet olyan többprofilú oktató-kutatóhelyé vált, ahol a különböző farmakológiai szakterületek ütköztetése kölcsönösen ösztönözte egymás fejlődését.

Szegi professzor úr tudományos pályafutása a Budapesti Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézetében kezdődött, ahol 1951-től 1955-ig Issekutz akadémikus aspiránsaként dolgozott. Kezdetben a cukrok tápcsatornából történő felszívódását tanulmányozta, majd a szívglikozidok felszívódási viszonyaival foglalkozott. Ebből a témából 1956-ban védte meg kandidátusi értekezését. Ezt követően új felszintetikus morfin- és kodeinszármazékok hatásmechanismusát analizálta. 1960-tól kezdve két évig dolgozott Berlinben a Német Tudományos Akadémia Kísérletes Szív- és Érsebészeti Intézetében, ahol a koronáriakeringés és a szív működés hipoxia alatti változásaival foglalkozott. A Debreceni Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézetében az átszervezés nehéz periódusa után sikerült olyan keringésfarmakológiai munkacsoportot kialakítani, amellyel ezen a korábbi témáján kedvezőbb adottságok közepette dolgozhatott. Mindamelllett a kutatások új irányát képviselték az adrenerg béta-receptor blokkolók antiaritmiás, antianginás hatásaival, az atrófiás és hipertrófiás szívizom működésének farmakológiai befolyásolhatóságával, valamint a kardiovaszkuláris rendszer szabályozása szempontjából fontos purinerg receptormechanismusokkal kapcsolatos kutatások. Ezeket a területeken az elmúlt két évtizedben számos új eredmény születésének lehetünk szemtanúi, ill. részesei.

Szegi professzor 1979-ben „A szív működés és a coronaria-keringés hypoxiás változásainak elemzése és befolyásolása” című értekezésével elnyerte az orvostudomány doktora tudományos fokozatot. Tudományos aktivitását fémjelzi az eddig megjelent 153 közleménye és a hazai, valamint nemzetközi kongresszusokon tartott több mint száz előadása. Sokrétű tudományos közéleti tevékenységét tanúsítja, hogy két évtizede vezetőségi tagja a Magyar Farmakológiai Társaságnak, elnöke az Országos Szakképesítő Bizottság Gyógyszerhatástani Vizsgabizottságának. Egy évtizeden keresztül tevékenykedett a TMB Elméleti Orvosi Szakbizottságában. Szerkesztőségi tagja az „Acta Pharmaceutica Hungarica”, valamint a „Gyógyszerészet-tudomány” c. folyóiratoknak. Munkájának elismeréseként 1969-ben megkapta az Oktatásügy Kiváló Dolgozója kitüntetését, 1984-ben pedig elnyerte a Munka Érdemrend arany fokozatát. 1989-ben eddigi tudományos pályafutásának értékeléseként megkapta a farmakológusoknak adható legmagasabb hazai kitüntetését, az Issekutz-díjat.

Úgy éreztük, hogy Szegi professzor úr tanszékvezető egyetemi tanárrá történő kinevezésének 20. évfordulójáról méltóképpen egy olyan összeállítás megjelentetésével emlékezhetünk meg, amely – ha nem is a teljesség igényével, de – keresztmetszetét adja azoknak a keringésfarmakológiai kutatásoknak, amelyeknek hazánkban régi hagyományai vannak. A keringési betegségek fokozódó gyakorisága egyre sürgetőbbé teszi mindazokat a kutatásokat, amelyek akár egy-egy kardiovaszkuláris megbetegedés patomechanismusát igyekszik feltárni, akár azok gyógyszeres befolyásolhatóságát vizsgálja, hiszen ezek a törekvések végső soron valamilyen új típusú gyógyszer kifejlesztéséhez vezethetnek. A kötet megírásához olyan kutatókat kértünk fel, akik nemzetközi szinten is nagy respekussal rendelkező vezető szakemberek, barátok, egykori pályatársak vagy munkatársak. Mindamelllett szerepelnek a kötetben saját szerény dolgozataink is, amelyek jelenleg folyó kutatásainkból adnak némi ízelítőt. Ezúton szeretnénk hálás köszönetünket kifejezni mindazoknak, akik megtisztelték Szegi professzor urat és e könyv szerkesztőit azzal, hogy egy-egy közleménnyel hozzájárultak a kiadvány létrejöttéhez. Ugyancsak külön köszönettel tartozunk az anyagi támogatást nyújtó hazai

cégeknek, hiszen az ő hozzájárulásuk hiányában ez a könyv aligha jelenhetett volna meg. A kötet technikai kivitelezése az Alföldi Nyomda dolgozóinak gondos munkáját dicséri.

Végezetül mind a tanítványok, tisztelők, barátok, pályatársak és az intézet minden munkatársa nevében kívánunk Szegi professzor úrnak jó erőt, egészséget, töretlen munkakedvet, egyéni boldogságot és sok sikert további munkájában.

Debrecen, 1990 júniusában

*A szerkesztők*

## A KÖTET SZERZŐI

DR. CSEPPENTŐ ÁGNES

Debreceni Orvostudományi Egyetem  
Gyógyszertani Intézete, Debrecen

DARABOS GABRIELLA

Debreceni Orvostudományi Egyetem  
Gyógyszertani Intézete, Debrecen

DR. DÓDA MARGIT

MTA Kísérletes Orvostudományi  
Kutató Intézete, Budapest

DR. FARSANG CSABA

Fővárosi Tétényi Úti Kórház I. Sz.  
Belgyógyászata, Budapest

GAJDOS ANIKÓ

Szabolcs-Szatmár-Bereg Megyei  
Gyógyszertári Központ, Nyíregyháza

DR. GEBREMEDHIN DEBEBE

Semmelweis Orvostudományi Egyetem  
Gyógyszerhatástani Intézete, Budapest

DR. HADHÁZY PÁL

Semmelweis Orvostudományi Egyetem  
Gyógyszerhatástani Intézete, Budapest

DR. HERMECZ ISTVÁN

CHINOIN Gyógyszer- és Vegyészeti Termékek  
Gyára Rt. Kutatási Főosztálya, Budapest

DR. JUHÁSZ-NAGY SÁNDOR

Semmelweis Orvostudományi Egyetem  
Ér- és Szívsebészeti Klinika, Budapest

DR. KAPUI ZOLTÁN

CHINOIN Gyógyszer- és Vegyészeti Termékek  
Gyára Rt. Kutatási Főosztálya, Budapest

DR. KECSKEMÉTI VALÉRIA

Semmelweis Orvostudományi Egyetem  
Gyógyszertani Intézete, Budapest

DR. KELEMEN KÁROLY

Semmelweis Orvostudományi Egyetem  
Gyógyszertani Intézete, Budapest

DR. KÉKESI VIOLETTA

Semmelweis Orvostudományi Egyetem  
Ér- és Szívsebészeti Klinika, Budapest

DR. KOVÁCS TIBOR

Debreceni Orvostudományi Egyetem  
Élettani Intézete, Debrecen

DR. MAGYAR KÁLMÁN

Semmelweis Orvostudományi Egyetem  
Gyógyszerhatástani Intézet, Budapest

DR. MARKÓ RAISZA

Semmelweis Orvostudományi Egyetem  
Gyógyszertani Intézete, Budapest

DR. NOSZTRAY KLÁRA

Debreceni Orvostudományi Egyetem  
Gyógyszertani Intézete, Debrecen

DR. OBERFRANK FERENC

MTA Kísérletes Orvostudományi  
Kutató Intézete, Budapest

DR. PAPP GYULA

Szent-Györgyi Albert Orvostudományi  
Egyetem Gyógyszertani Intézete, Szeged

DR. POGÁTSA GÁBOR

Országos Kardiológiai Intézet,  
Kutatási Osztálya, Budapest

DR. SARKADI BALÁZS

CHINOIN Gyógyszer- és Vegyészeti Termékek  
Gyára Rt. Kutatási Főosztálya, Budapest

DR. SIPKA SÁNDOR

Debreceni Orvostudományi Egyetem  
III. sz. Belgyógyászati Klinika, Debrecen

DR. SOMOGYI JÁNOS  
Semmelweis Orvostudományi Egyetem  
I. sz. Kémiai-Biokémiai Intézete, Budapest

DR. SZABÓ ZS. JUDIT  
Debreceni Orvostudományi Egyetem  
Gyógyszertani Intézete, Debrecen

DR. SZEKERES LÁSZLÓ  
Szent-Györgyi Albert Orvostudományi  
Egyetem Gyógyszertani Intézete, Szeged

DR. SZENTMIKLÓSI A. JÓZSEF  
Debreceni Orvostudományi Egyetem  
Gyógyszertani Intézete, Debrecen

DR. SZENTMIKLÓSI PÉTER  
CHINOIN Gyógyszer- és Vegyészeti Termékek  
Gyára Rt. Kutatási Főosztálya, Budapest

DR. TAKÁCS E. ILDIKÓ  
BIOGAL Gyógyszergyár Farmakológiai  
Osztálya, Debrecen

DR. TARDOS LÁSZLÓ  
CHINOIN Gyógyszer- és Vegyészeti Termékek  
Gyára Rt. Kutatási Főosztálya, Budapest

DR. TÓTH MIKLÓS  
Semmelweis Orvostudományi Egyetem  
Ér- és Szívsebészeti Klinika, Budapest

DR. TÖRÖK TAMÁS  
Semmelweis Orvostudományi Egyetem  
Gyógyszerhatástani Intézete, Budapest

DR. TÖRŐCSIK ANDRÁS  
MTA Kísérletes Orvostudományi  
Kutató Intézete, Budapest

VARGA EDIT  
Debreceni Orvostudományi Egyetem  
Gyógyszertani Intézete, Debrecen

DR. VIZI E. SZILVESZTER  
MTA Kísérletes Orvostudományi  
Kutató Intézete, Budapest



# KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

*A kötet megjelenéséhez az alábbi cégek járultak hozzá anyagi támogatásukkal:*

ALKALOIDA Vegyészeti Gyár, Tiszavasvári

BARNEVÁL, Debrecen

BIOGAL Gyógyszergyár, Debrecen

BUDAPEST BANK Rt., Debrecen

CALDERONI Műszer és Tanszergyártó és Forgalmazó Vállalat, Budapest

CHINOIN Gyógyszer- és Vegyészeti Termékek Gyára Rt., Budapest

CÍVIS Hotel és Gasztronómiai Rt., Debrecen

DEBRECENI ÁFÉSZ, Debrecen

EGIS Gyógyszergyár, Budapest

HAJDÚ MEGYEI TEJIPARI VÁLLALAT, Debrecen

HAJDÚSÁGI IPARMŰVEK, Hadháztéglás

HERBÁRIA Országos Gyógynövényforgalmi Közös Vállalat, Budapest

INTERMED Trading Kft., Budapest

KÓBÁNYAI Gyógyszerárugyár, Budapest

MAGYAR GÖRDÜLŐCSAPÁGY MŰVEK, Debrecen

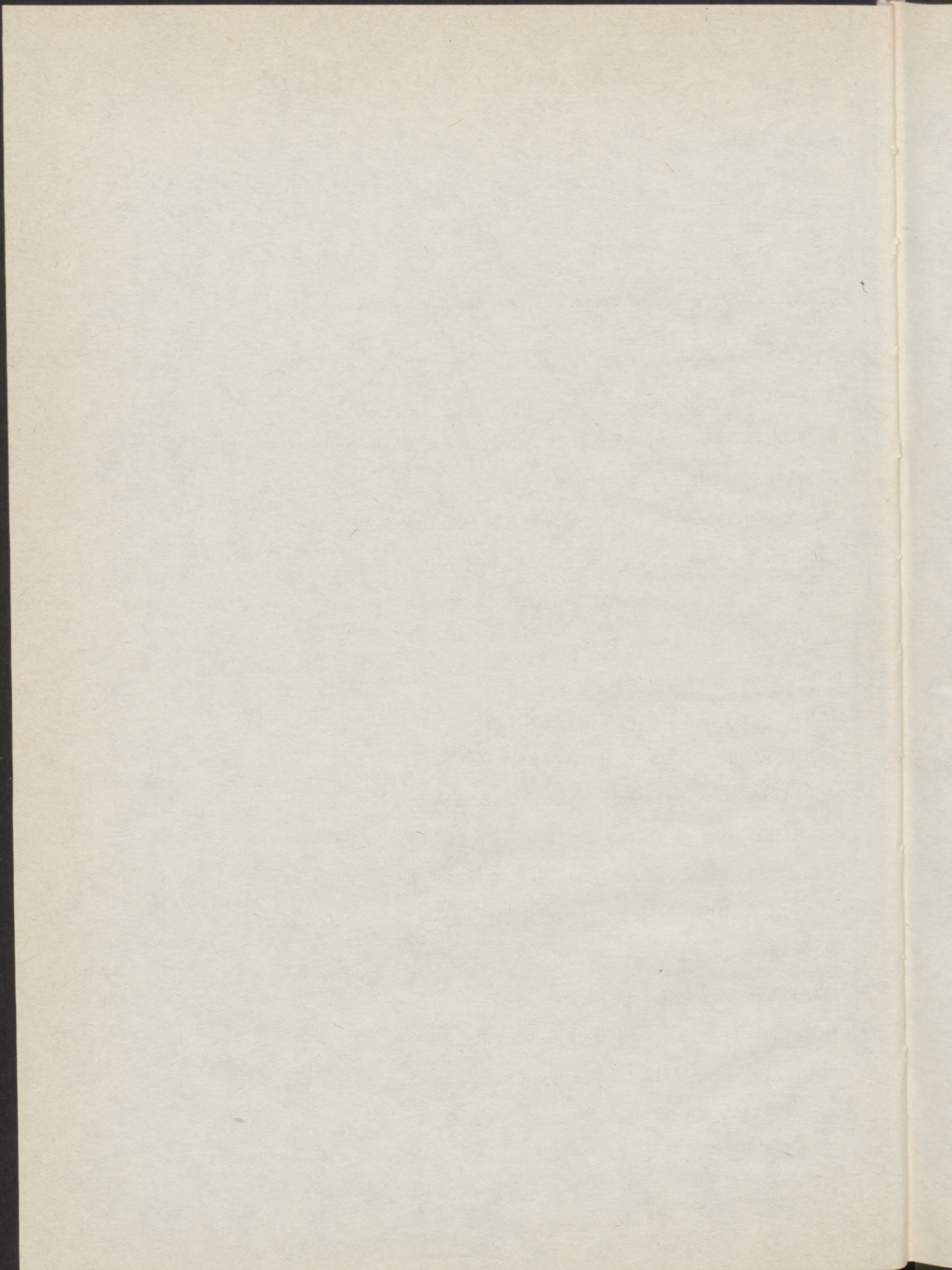
MEDICOR Orvosi Műszer Ipari Rt., Debrecen

PFIZER Tudományos Központ, Budapest

RHÔNE-POULENC Magyarországi Képviselet, Budapest

SANDOZ PHARMA AG Képviselet, Budapest

„TANÁCS-ADÓ” Kft., Debrecen



I.

ANTIARITMIÁS GYÓGYSZEREK:  
ELMÉLETI ÉS GYAKORLATI PROBLÉMÁK

at  
st  
e

a  
t  
b  
b  
m  
g  
k  
l

s

s  
w  
s  
m  
f

# AZ ANTIARITMIÁS SZEREK ARITMOGÉN HATÁSÁRÓL

SZEKERES LÁ SZLÓ

Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézete, Szeged, Dóm tér 12.

Aritmogén vagy proaritmias hatásról beszélünk, ha az antiaritmias szer a fennálló aritmiát nemhogy enyhítené, hanem inkább súlyosbítja, vagy új típusú eddig nem regisztrált ritmuszavart idéz elő.

A proaritmias hatást már több mint 200 éve leírta Withering a gyűszűvirág toxicitásával kapcsolatban. Az 1920-as években kimutatták (Kerr és Bender, 1922), hogy pitvarfibrillációban szenvedő betegek kinidinkezelése során nemritkán fellépő "kinidin-syncope-ban" önmagától megszűnő kamrafibrillációs időszakok figyelhetők meg. Újabban egyre gyakrabban számolnak be a kamrai aritmiák gyógyszer okozta súlyosbodásáról oly betegeken, akiknél a kezelni kívánt ritmuszavar komoly megítélés alá esett (Velebit és mt., 1982).

A már meglevő aritmia gyógyszer által előidézett súlyosbodása a következőkben nyilvánul meg:

1.) Megnő a kamrai extrasystolek, valamint a halmozott extra systolek vagy kamrai tachykardiák gyakorisága. Morganroth és Horowitz (1987) szerint e növekedésnek a kiindulási gyakoriság 1 órára számított értéke 3-10-szeresét kell elérnie ahhoz, hogy proaritmias hatásnak és ne a fennálló ritmuszavar spontán változásának foghassuk fel.

2.) Megváltozik a kamrai tachykardia típusa:

- a.) Nem tartósból tartóssá válik.
- b.) Tartós kamrai tachykardiából "torsades de pointes típusú" kaotikus polimorf tachykardia fejlődik ki, amely egyébként spon-tán aritmiákban ritka, de igen jellemző a gyógyszer által ki-váltott ritmuszavarra.
- c.) A kamrai tachykardiából végzetes kamrafiibrilláció fejlődhet ki
- d.) Jóllehet a kamrai tachykardia önmagában is károsítja a hemo-dinamikát, ha ez az antiaritmiás terápia alatt súlyosbodik, ezt aritmogén hatás jeleként értékelhetjük.
- e.) Proaritmiás hatásra kell gyanakodnunk, ha az antiaritmiás te-rápia során nehezebbé válik a kamrai tachykardia elektromos úton történő felfüggesztése.

Az antiaritmiás terápia során fellépő új, eddig nem regiszt-rált ritmuszavarok a következő formákban jelenhetnek meg:

1.) Bradyaritmiák, melyek rendszerint az antiaritmiás szer-túladagolása következtében lépnek fel. A magas gyógyszerkoncentrá-ció károsítja a sinus csomó ingerképzését, valamint az atriovent-rikularis csomóban az ingervezetést. A következmény lehet sino-aurikuláris blokk, sinusmegállás vagy atrioventrikuláris blokk.

2.) Az érdeklődés középpontjában a gyógyszerek által kivál-tott tachykardiák állnak, mert fellépésük kiszámíthatatlan, sok-szor nemtoxikus, sőt terápiás dózistartományban is megjelenhetnek és rendszerint időszakosan lépnek fel. Nemritkán hasonlítanak az eredetileg fennállott tachykardiára és nehezen különböztethetők meg tőlük. A kezelőorvos fellépésüket gyakran a kezelés elégtelen-ségének tulajdonítja, ezért hajlamos az adagot növelni, aminek végzetes következményei lehetnek.

A gyógyszerek által előidézett tachyaritmiák fontosabb meg-jelenési formái:

- a.) Supraventrikuláris tachykardia.
- b.) Tartós monomorf kamrai tachykardia megnyúlt QRS-szakasszal.
- c.) Polimorf kamrai tachykardiák QT szakasz megnyúlás nélkül.
- d.) "Torsades de pointes" kamrai tachykardia QT-szakasz megnyúlás-

sal együtt.

e.) Kamrafibrilláció.

Feltűnő, hogy egyes antiaritmiás szerek alkalmazása jelentős aritmogén kockázattal jár, míg más szereké kevésbé.

Erre vonatkozó ismereteinket összegezi az I. Táblázat. Az antiaritmiás szereket a Vaughan Williams (1970) féle osztályozás alapján csoportosítva kiderül, hogy az Ia.) osztályba tartozó kinidinszerű anyagok negatív kronotrop hatást fejtenek ki, ami főleg sinoatrialis rendszer működési zavara vagy sinuscsomó betegség esetén kifejezett. A kontrakciók is gyengülnek (negatív inotrop hatás) különösen ha a balkamrai pumpaműködés károsodott. A disopyramid különösen erős szívgyengítő hatással rendelkezik. E csoporton belül fokozott hajlam mutatkozik a repolarizáció megnyúlására, (meghosszabbodik a QT távolság) és az egyes rostok repolarizációjának egyenlőtlenségére, ami elősegíti az újraingerlődést (re-entry). A keletkező ritmuszavar főleg "torsades de pointes" jellegű tachykardia megnyúlt QT-szakasszal.

Hypokalemia, bradykardia vagy egyidejűleg adott szívglykozidok fokozhatják a kinidinszerű antiaritmiás szerek aritmogén hatását.

Az Ib.) csoportba tartozó szerek kevésbé aritmogének, jóllehet sinuscsomó működés elégtelensége esetén a lidokain és a mexiletin gátolhatja a sinuscsomó ingerképzését és a sino-auricularis átvezetést.

Ennél sokkal nagyobb veszéllyel jár az Ic.) csoportba tartozó szerek alkalmazása. Negatív kronotrop hatásuk mellett erősen megnyújtják az intraventrikuláris ingervezetést, amire a QRS komplexus jelentős kiszélesedése is utal. Ez inhomogén ingervezetést és az ingerület újravisszatérését idézheti elő. Ezen túlmenően e csoportba tartozó szerek, kiváltképpen a flecainid kifejezetten gyengítik a szívösszehúzóerő erejét. Mindezen változások eredményeképpen tartósan fennálló kamrai tachykardiák lépnek fel, amelyekből nemritkán kamrafibrilláció fejlődik ki. Viszont e csoport-

I. táblázat

Antiaritmiás szerekkül különböző osztályainak  
proaritmiás hatása

	Ia	Ic	II	III	IV
Osztályok					
Negatív*	+	+	+		+
chronotrop					+
Negatív					+
dromotrop					+
Negatív**	+	↑	↑		+
inotrop					+
Inhomogén	disopyramid	flecainid	pr propranolol		
és megnyúlt					
ventrikuláris	↑			↑	
depolarizáció					
Aritmia	"torsades de pointes" VT	tartós VT, VF	brady- a	nem tartós "torsades"	brady- aritmia
típusa					

SA=sinoauricularis; AV=atrioventrikularis

\*Bradyaritmiák különösen kifejezettek sinoauricularilaris működészavarban vagy sinuscsomó betegség esetén.

\*\*különösen kifejezett balkamrai működészavar esetén (ejekciós frakció 30%).



ban ritka a QT-szakasz megnyúlás vagy a "torsades de pointes" tachykardia. A keletkező aritmiák hosszú ideig fennállnak és meglehetősen rezisztensek a különböző antiaritmiás beavatkozásokkal szemben.

A II. osztályba tartozó adrenerg beta receptor blokkoló szerek proaritmiás hatása kevésbé kifejezett. Jellegzetes proaritmiás hatásaik, mint a sinuscsomó, valamint az atrioventrikuláris átvezetés gátlása dóziszfüggők. Az előbbi pulzusgyérülésben, az utóbbi a PQ szakasz megnyúlásában nyilvánul meg. Mindez bradyaritmiát eredményez. Propranolol erős negatív inotrop hatással is rendelkezik, amely főleg egyidejűleg fennálló balkamrai működésgyengeség esetén észlelhető. A gyenge beta-blokkoló: sotalol, amely egyúttal a repolarizáció megnyúlásával jellemzett III. osztályba is tartozik, képes megnyújtani a QT szakaszt és fokozza a hajlamot a "torsades de pointes" jellegű kamrai tachykardia kifejlődésére.

Ez érvényes az amiodaronra, a III. osztályba sorolható antiaritmiás szerek jellegzetes képviselőjére. Ha ez utóbbit digitallissal, kinidinnel, disopyramiddal vagy mexiletinnel kombináljuk, úgy megnő a proaritmiás hatás kockázata.

A IV. osztályba sorolt kalcium-antagonisták elsősorban a sinoaurikularis és az atrioventrikularis csomó automatizációját és főképp az atrioventrikularis átvezetést gátolják dóziszfüggő módon. Ezáltal bradyaritmiát idézhetnek elő.

A proaritmiás hatásban szereplő egyéb oki tényezők:

1.) Fokozott automatizáció vagy kiváltott aktivitás, amely megjelenhet mint:

a.) korai utódepolarizáció, midőn a repolarizáció lezajlása előtt történik a depolarizáció. Ha ez a főként kinidinre jellemző jelenség a küszöb potenciált eléri towaterjedő korai akciós potenciált indíthat meg.

b.) Késői utódepolarizáció, amely a depolarizáció befejeződése után, de a következő természetes inger előtt lép fel, főként digoxin, sotalol vagy N-acetylprokainamid hatására.

2.) Megváltozhatnak az elektromos küszöbértékek:

a.) Lidocain és amiodaron megnöveli a defibrillációhoz szükséges elektromos inger küszöbintenzitását. Ilyenkor a defibrilláció csak igen nagy áramerősséggel vagy egyáltalán nem vihető végbe.

b.) Lidoflazin viszont a fibrillációs küszöböt csökkenti, azaz az így kezelt szíven jóval kisebb áramerősség képes kamrafibrillációt kiváltani (Fazekas és Szekeres, 1990).

c.) Flecainid, prokainamid és kinidin megnöveli a szív elektromos hajtásához szükséges inger küszöbét. Ezáltal a meghatározott áramerősségre beállított hajtás (pacelés) kimarad és bradiaritmiák vagy bradiaritmia függő tachykardiák lépnek fel.

3.) Vegetatív hatások:

a.) A kinidin és főleg a disopyramid vagolytikus hatása paradox módon átmenetileg fokozhatja a vagus által gátolt sinus frekvenciát és javíthatja a pitvar kamrai átvezetést.

b.) A III osztályba sorolható bretylium kezdetben katecholaminokat szabadít fel, amelyek kamrai tachykardia, néha kamrafibrilláció keletkezését segíthetik elő.

Tehát mindkét fentebb részletezett vegetatív hatás a tachykardizálódás irányában hat.

Az egyes szerek proarrhythmias hatásának gyakoriságára vonatkozó összehasonlító irodalmi adatok (lásd Morganroth és Horowitz, 1984) csak a tendenciát jelzik és semmiképp sem tekinthetők megbízható végleges állásfoglalásnak. Ez részben a vizsgálatokban szereplő betegek viszonylag csekély számával, részben azzal a körülménnyel magyarázható, hogy az ambuláns monitorozással regisztrált proarrhythmia előfordulás ugyanazon gyógyszerre vonatkozóan is jelentősen eltér a programozott elektromos ingerléssel kiváltható aritmiára vonatkozó adatoktól. Így a proaritmiás hatás gyakorisága 2-20%-ig terjed. Ezenfelül a rendelkezésre álló statisztikák nem tükrözik a gyógyszer által kiváltott ritmuszavarok súlyosságának mértékét. Ez utóbbi szempontot figyelembevéve az Ic.) osztályba tartozó szerek különös jelentőséggel bírnak. Másodsorban

a kinidin-szerű Ia.) osztályba tartozó szerek érdemelnek figyelmet, főleg a proaritmiás hatást elősegítő hajlamosító tényezők mint egyidejűleg fennálló bradycardia, hosszú QT szindróma vagy balkamrai működés zavara esetén.

Egyéb proaritmiás hatásra hajlamosító tényezők: az előzetesen már regisztrált malignus kamrai tachycardia, a gyógyszer elimináció zavara, a vese vagy májműködés elégtelensége folytán, egyidejű diuretikus kezelés, amely hypokalemiát, hypomagnesiémiát valamint alkalozist idézhet elő.

A gyógyszer által előidézett ritmuszavarok megelőzése és kezelése a ritmuszavar súlyosságától függ. Életveszélyes szívritmuszavarok fellépése esetén az antiaritmiás gyógyszerek adagolását fel kell függeszteni és a beteget kórházi körülmények közt sürgősgállapotnak megfelelő kezelésben (cardioversio, overpacing) kell részesíteni. Néha a vegetatív egyensúly megbomlását gyógyszeresen kedvezően befolyásolhatjuk. Vagus túlsúly okozta extrem bradycardiában vagolytikumok adása, a bretylium által előidézett kezdeti catecholaminfelszabadulás tachycardizáló hatásának kivédésére beta-blokkoló kezelés eredményes lehet.

A sürgősgállapot elmúltával, vagy ha a gyógyszer által előidézett ritmuszavar nem jár közvetlen életveszéllyel, úgy első lépésként az antiaritmiás terápiát kell megváltoztatni. Gyakran - bár nem minden esetben - már önmagában az adag csökkentése is megszünteti a proaritmiás hatást. Az áttérés más antiaritmiás szerre logikusnak tűnik, azonban ez magában rejtheti az eddiginél még sokkal súlyosabb proaritmiás hatás veszélyét.

Még kifejezettebb ennek kockázata, ha az eddigi antiaritmiás kezelést folytatva még egy további antiaritmikumot vetünk be. Néha a gyógyszeres kezelést célszerű nem gyógyszeres kezeléssel felváltani, elektromos szívingerlő (pacemaker), defibrillátor alkalmazásával, esetleg a góc vagy pálya sebészi elroncsolásával.

Mivel az elmondottak alapján is kétségtelen, hogy bizonyos hajlamosító tényezők, mint bradycardia, elektrolitzavar, szívelég-

telenség, ischemia elősegítik a proaritmiás hatást, mindenekelőtt ezek eliminálására illetve korrekciójára kell törekednünk. Ugyancsak az aritmogen hatást fokozzák bizonyos antiaritmiás szerek kombinációi is, mint kinidin + digoxin, kinidin + verapamil, amiodaron + digoxin, amiodaron + kinidin, verapamil + beta blokkoló stb. Ezért ilyen kombinációkat eleve el kell kerülnünk.

Összefoglalva: Bármilyen antiaritmiás terápia bevezetése proaritmiás hatás kockázatát veti fel. Ennek fellépését és a súlyos következmények hatását csak a beteg folyamatos, gondos klinikai ellenőrzésével, az EKG és a gyógyszer vérszintjének monitorozásával védhetjük ki.

### Irodalom

Fazekas T, Szekeres L. (1990) Analysis of the proarrhythmic action of Lidoflazine (Clinium) Acta Physiol. Hungarica, 75: 229-236

Kerr WJ, Bender WL. (1922) Paroxysmal ventricular fibrillation with cardiac recovery in a case of auricular fibrillation and complete heart block while under quinidine sulfate therapy. Heart, 9: 269

Morganroth J, Horowitz LN. (1984) Flecainide: Its proarrhythmic effect and expected changes on the surface electrocardiogram. Am. J. Cardiol. 53: 89B-94B

Vaughan Williams EM. Classification of antiarrhythmic drugs. In: Sandoe et al. (Eds.) Symposium on Cardiac Arrhythmias pp 449-472 (A.B. Astra Sodertalje 1970)

Velebit V, Podrid PJ, Lown B, Cohen BH, Graboys TB. (1982) Aggravation and provocation of ventricular arrhythmias by antiarrhythmic drugs. Circulation 65: 886-94

# ANTIARITMIÁS SZEREK FARMAKOLÓGIÁJÁNAK ÚJ SZEMPONTJAI ELEKTROFIZIOLÓGIAI TULAJDONSÁGUK ALAPJÁN

KECSKEMÉTI VALÉRIA

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézete, Budapest

Az elmúlt tíz évben kidolgozott technikák (szívsejtek izolálása, patch-clamp technika, receptor binding vizsgálatok), melyek lehetővé tették az elemi ionáramok és a gyógyszerek receptoriális kötődésének vizsgálatát, robbanásszerű fejlődést eredményeztek az antiaritmiás szerek hatásmechanizmusának molekuláris szinten történő ismereteinkben. Az antiaritmiás szerek molekuláris támadáspontjáról alkotott különböző elképzelések, modellek egyrészt magyarázatot adnak az antiaritmiás gyógyszerek jól ismert hatásáért, mellékhatásáért, másrészt a sejtmembránon lezajló élettani folyamatok megértését is elősegítik.

Jelen munka az antiaritmiás szerek osztályozásának rövid áttekintése után főleg a "membrán stabilizáló", nátrium csatorna gátló vegyületek elektrofiziológiai tulajdonságára, molekuláris támadáspontjára vonatkozó új adatokat, elképzeléseket foglalja össze.

## Az antiaritmiás szerek csoportosítása

A leginkább elfogadott osztályozást, az antiaritmiás szerek hatásmechanizmusa, az elektrofiziológiai paraméterekre kifejtett hatásai alapján VAUGHAN WILLIAMS (1970) javasolta először. Később az újabb támadáspontú vegyületek megjelenésével ezt a csoportosítást kiterjesztette a  $\text{Ca}^{2+}$ -antagonistákra és a specifikus bradikardizáló hatású alinidinre ( VAUGHAN WILLIAMS, 1975, 1981 ). Az I-es osztályba sorolt gyors  $\text{Na}^+$ -áramot blokkoló vegyületek közötti különbségek (akciós potenciál tartamára való hatás, klinikai elektrofiziológiai eltérések) alapján sorolta HARRISON (1980) újabbalosztályokba ezeket a vegyületeket. Az 1. táblázat szemlélteti az antiaritmiás szerek csoportosítását az 1989-es elképzelések alapján ( VAUGHAN WILLIAMS, 1989 ).

Természetesen mint minden csoportosítás, ez sem tökéletes és sok kritika éri. Nagyon sok elsődlegesen nem antiaritmiás szer (antidepresszánsok, antiepileptikumok, vagus tónust befolyásoló szerek, anxiolitikumok, anti-hisztaminok, stb.) kifejthet antiaritmiás hatást. Újabban a hisztamin  $\text{H}_1$ -receptor blokkoló dimethindenről (Fenistil) mutatták ki, hogy antiaritmiás hatásáért a lidokainhoz és kinidinhez hasonló elektrofiziológiai tulajdonságai, gyors  $\text{Na}^+$ -áramot gátló hatásai a felelősek ( MÉSZÁROS és SZEGI, 1983; MÉSZÁROS és mtsai, 1987 ). Az izomrelaxáns dantrolenről 1982-ben írtuk le, hogy mind pitvari, mind kamrai rostok megnyújtja az akciós potenciál repolarizációját (III-as osztályú hatás) és kalcium antagonistá hatással (IV-es hatás) is rendelkezik ( MÉSZÁROS és mtsai, 1981, 1982 ). Lehet, hogy ezen hatásmechanizmus felelős a legújabban észlelt antiaritmiás aktivitásáért ( BROOK és mtsai, 1989 ). Az új asztma elleni gyógyszer, az

1. táblázat  
Antiaritmiás szerek csoportosítása

Osztály	Hatás	Vegyületek
I	Na <sup>+</sup> -áram gátlása, Na <sup>+</sup> -csatorna blokkolása	
A.	Na <sup>+</sup> -áram, $\dot{V}_{\max}$ közepes gátlása, a repolarizáció meghossz- szabítása	kinidin prokainamid dizopiramid ajmalin propafenon
B.	Na <sup>+</sup> -áram, $\dot{V}_{\max}$ minimális gátlása, a repolarizáció rövidítése	lidokain mexiletin tocainid
C.	Na <sup>+</sup> -áram, $\dot{V}_{\max}$ erős gátlása, repolarizáció nem változik	encainid flecaïnid lorcainid
II	Béta-adrenerg gátlás	béta-receptor blokkolók bretylum
III	A repolarizáció meghosszabítása	amiodaron bretylum
IV	Ca <sup>2+</sup> -áram-, Ca <sup>2+</sup> -csatorna blokkolása	verapamil diltiazem
V	Specifikus bradikardizáló hatás	alinidin

azalestin szintén rendelkezik antiaritmiás hatással és gátolja mind a  $\text{Na}^+$ , mind a  $\text{Ca}^{2+}$ -csatorna működését (PACHALIS és mtsai, 1989).

Az antiaritmiás vegyületek 1. táblázat szerinti csoportosítása sem lehet merev, mert nagyon sok vegyület többféle hatással rendelkezhet, így több csoportba sorolható. A csoportok közötti átfedés leginkább a béta adrenerg receptor-bénítók esetében figyelhető meg. A legtöbb béta-receptor-blokkoló jelentősen gátolhatja a  $\text{Na}^+$ -áramot is, és a repolarizációt kinidinhez, ill. a lidokainhoz hasonlóan befolyásolhatja (VAUGHAN WILLIAMS, 1981; IJZERMAN és SOUDIJN, 1989). Hasonló hatásról számoltunk be cloranolol (Tobanum) esetében (KECSKEMÉTI, 1980). Az aromás oxibutanolamin származékok közé tartozó Chino-in-103 kardioszelektív béta-receptor bénító hatásán (SZEGI és mtsai, 1977) kívül, gátolja a  $\text{Na}^+$ -áramot, megnyújtja a repolarizációt és az effektív refrakter periódust (MÉSZÁROS és mtsai, 1983, 1986) és így az I-es csoportba is besorolható. Vannak olyan béta-receptor-blokkolók, melyek a  $\text{Na}^+$ -áramot nem befolyásolják, de elnyújtják az akciós potenciál repolarizációs fázisát, az amiodaronhoz hasonlóan (III. csoport) pl. a sotalol (COBBE, 1989). Az újabb béta-receptor gátló vegyületek közül mint antiaritmiás szer, a propafenon emelhető ki, mert a  $\text{Na}^+$ -áram gátlásán kívül gyenge  $\text{Ca}^{2+}$ -csatorna gátló tulajdonságokkal is rendelkezik (IJZERMAN és SOUDIJN, 1989). A leg-sokoldalúbb hatása az amiodaronnak van, mert bizonyos körülmények között képes gátolni a  $\text{Na}^+$ -áramot és a  $\text{Ca}^{2+}$ -áramot is, továbbá szimpatikus-gátló tulajdonságai is megfigyelhetők (SINGH, 1989). Végül a leggyakoribb átfedés az I és a IV-es csoportba tartozó vegyületek között van. Számos Na-csatorna gátló vegyület (kinidin, ethmozin, flecainid) a  $\text{Ca}^{2+}$ -áramot is béníthatja, és a Ca-csatorna



blokkolók egy része (bepridil, fendilin, verapamil nagy koncentrációja) is képes gátolni a  $\text{Na}^+$ -áramot is (SCRAMPS és mtsai, 1989; FLECKENSTEIN, 1983; KECSKEMÉTI és mtsai, 1978).

### I. csoport

#### $\text{Na}^+$ -áramot, a $\text{Na}^+$ -csatorna működését gátló vegyületek

Az ide tartozó vegyületek kémiai szerkezetüket, ill. *in vitro* és klinikai elektrofiziológiai hatásukat tekintve nagyban különböznek egymástól, de közös tulajdonságuk az, hogy szelektíve gátolják a membránon keresztüli befelé irányuló gyors  $\text{Na}^+$ -áramot, a  $\text{Na}^+$ -csatorna aktivitását. A  $\text{Na}^+$ -áramra, az akciós potenciál depolarizációs fázis sebességére ( $\dot{V}_{\text{max}}$ ) gyakorolt gátlás erőssége, ill. kinetikája és a repolarizációra kifejtett hatásuk alapján ezeket a vegyületeket további alosztályokba lehet sorolni (1. táblázat). A  $\text{Na}^+$ -áramra, a  $\dot{V}_{\text{max}}$ -ra kifejtett gátlás mértéke egy adott koncentráció mellett nagy fokban függött az ingerlés frekvenciájától, minél nagyobb volt a frekvencia, annál erőteljesebb gátlás alakult ki (frekvencia-függő blokk). Az ingerlés frekvenciája befolyásolta a gátlás kialakulásának (use-dependent block), ill. megszűnésének idejét, és ezen kísérleti adatok alapján próbáltak következtetéseket levonni az illető antiaritmiás szer  $\text{Na}^+$ -csatornával való kapcsolódásának sajátosságára. Az I. osztályba tartozó vegyületek nagyfokban eltérnek egymástól abban, hogy milyen a gátlás erőssége és kinetikája (CAMPBELL, 1989). Az I.B. vegyületek (lidokain, mexiletin, tocainid) alacsonyabb, ill. fiziológias frekvencián enyhe gátlást eredményeznek, a frekvencia-függő gátlás gyorsan kialakul, vagyis ezek a vegyületek gyorsan kapcsolódnak a  $\text{Na}^+$ -csatornához. A gátlás megszűnése gyors,

tehát a vegyületek nagyon gyors onset-offset kinetikával rendelkeznek, ami magyarázatot ad arra a klinikai elektrofiziológiai megfigyelésre, hogy a HV idő (a His kötegről a kamrára történő átvezetés időtartama) és a QRS szélesség miért nem változik sinus ritmusban, amikor kellő hosszúságú diasztole áll rendelkezésre, ami lehetővé teszi a vegyület leválását a legtöbb  $\text{Na}^+$ -csatornáról. Az I.C. csoport vegyületei (flecainid, encainid, lorcainid) erőteljes  $\dot{V}_{\text{max}}$  ill.  $\text{Na}^+$ -áram gátlást okoznak, a gátlás lassan alakul ki és nagyon lassan szűnik meg, jelezvén, hogy a vegyületek nagyon lassan válnak le a  $\text{Na}^+$ -csatornáról, így a nem vezető csatornák száma a diasztole végén majdnem ugyanannyi, mint a kezdetén. Ennek következményeként a HV idő meghosszabodik, a QRS kiszélesedik (CAMPBELL, 1989). Az I.A. csoport vegyületeinek (kinidin, prokainamid, dizopiramid) onset-offset kinetikája közepesen gyors, vagyis az előbbi két alosztály kinetikája között van. Végül egy negyedik alosztályt (I.D.) javasolnak olyan vegyületeknek, mint pl. a transcainid, mely frekvenciától és feszültségtől függetlenül gátolja a  $\text{Na}^+$ -áramot és a gátlás nem szűnik meg a diasztole végére (BENNETT és mtsai, 1987).

A vegyületek három fő alcsoportja különbözik a pitvari és kamrai akciós potenciál tartamára gyakorolt hatásukban is. Az I.A. alcsoport meghosszabbítja az akciós potenciál tartamát, mert pl. a kinidin gátolja a repolarizáció alatti  $\text{K}^+$ -áramot (NAWRATH, 1981). Az I.B. csoportú vegyületek rövidítik az akciós potenciál tartamát, feltehetően a plató fázis alatt működő járulékos  $\text{Na}^+$ -áram (window-áram) gátlásával (CAMPBELL, 1989). Az I.C. vegyületek kevéssé hosszabbítják meg, vagy nem hatnak az akciós potenciál tartamára.

A klinikai fázisvizsgálatokra még nem került, újabb

antiaritmiás szerek elektrofiziológiai vizsgálata alapján, a propafenon ( KOHLHARDT és mtsai, 1983 ), a Chinoin-103 ( MÉSZÁROS és mtsai, 1986 ) főleg az I.A. csoportba, az EGYT-2936 ( KECSKEMÉTI, 1988 ) az I.B.-be, a cibenzolin (TIMOUR és mtsai, 1989 ), a penticainid ( GAUTIER és mtsai, 1987 ) és egy újabb hidantoin származék, a ropitoin ( ELIZALDE és mtsai, 1988 ) az I.C. csoportba sorolható.

#### Kapcsolat a $\text{Na}^+$ -csatornával. A modulált receptor modell.

A  $\text{Na}^+$ -csatorna blokkolók antiaritmiás hatásának mechanizmusáról, a csatornával való interakcióról alkotott elképzelések, modellek az alábbi alapvető kísérleti adatokon, megfigyeléseken alapulnak:

1. A  $\text{Na}^+$ -csatorna blokkolók szívre gyakorolt hatása függ a frekvenciától (frekvencia-függő, use-dependent block).
2. A  $\text{Na}^+$ -csatorna blokkolók megváltoztatják a  $\dot{V}_{\text{max}}$  és a membránpotenciál viszonyát, vagyis beleavatkoznak a  $\text{Na}^+$ -csatorna inaktivációs mechanizmusába.
3. A hatás, a gátlás erőssége feszültség-függő. Depolarizált szövetekben (hipoxia, iszkémia) az antiaritmiás hatás, a gátlás mértéke nő. Ez megszabhatja az antiaritmiás hatás szelektivitását.

Felhasználva az idegrost  $\text{Na}^+$ -csatorna működésére kidolgozott Hodgkin, Huxley modellt, illetve STRICHARTZ (1973) elképzelését, HONDEGHAM és KATZUNG 1977-ben írta le a modulált receptor teóriát. Elképzelésük szerint az antiaritmiás szer receptora a  $\text{Na}^+$ -csatorna belsejében van, melyhez a vegyület kötődik, ill. erről leválik és ezt a folyamatot a csatorna állapota határozza meg. A  $\text{Na}^+$ -csatorna blokkolók a csatorna bármelyik (nyugalmi, nyitott és inaktivált) állapotának valamelyikéhez kötődhetnek,

de a terápiásan használt szereknek sokkal nagyobb affinitása van a nyitott és inaktivált állapotú csatornákhöz, mint a nyugalmi állapothoz. A vegyület asszociációs és disszociációs konstansa jellemző a vegyületre, de függ a feszültségtől, tehát a csatorna három állapotában eltérő lehet. Azok a csatornák, melyekhez a vegyület hozzákapszolódott nem vezetik a  $\text{Na}^+$ -t és így inaktivációjuk feszültség-függése is negatívabb feszültség tartományok felé tolódik el.

A terápiában használt szerek között vannak olyanok, melyek főleg az aktív állapotú  $\text{Na}^+$ -csatornákhöz kötődnek (kinidin, felcainid), vannak vegyületek, melyek affinitása nagyon nagy az inaktív állapotú  $\text{Na}^+$ -csatornák iránt (mexiletin, tocainid, amiodaron), vannak olyan vegyületek, amelyek mind az aktív, mind az inaktív csatornákhöz képesek kötődni (lidokain, dizopiramid), azonban a nyugalmi állapotú  $\text{Na}^+$ -csatornák iránt egyaránt igen kicsi affinitással rendelkeznek. Azok a vegyületek, amelyek erősen kötődnek a nyugalmi állapotú  $\text{Na}^+$ -csatornákhöz kevésbé fogják befolyásolni a depolarizált, kóros rostokon az ingervezetést, de jelentősen gátolják a fiziológiás polarizáltságot, ép rostok ingervezető képességét, tehát aritmogén hatásúak. Az elektrofiziológiai vizsgálatok hozzásegítenek tehát ahhoz, hogy ezeket a vegyületeket a preklinikai stádiumban kiszelektáljuk.

A modulált receptor teória magyarázatot ad néhány jól ismert tényre, így pl.

A kóros, iszkémiás szívizommal szembeni szelektivitás:

Azok a vegyületek, melyek elsősorban az inaktív állapotú  $\text{Na}^+$ -csatornákhöz kapcsolódnak (mexiletin, tocainid, lidokain, amiodaron) szelektívebben gátolják a kóros, iszkémiás, potenciálisan aritmogén rostok működését és kevésbé érintik az ép szívizomzatot. Ennek az a magyará-

zata, hogy az iszkémiás, hipoxiás rostok részlegesen depolarizáltak, tehát nagyobb az inaktivált állapotú  $\text{Na}^+$ -csatornák részaránya.

A kamrával szembeni szelektivitás: A pitvari akciós potenciálok rövidebbek mint a szélesebb plátóval rendelkező kamrai akciós potenciálok, így bizonyos szívfrekvenciánál a pitvari  $\text{Na}^+$ -csatornák idejük kevesebb részét töltik inaktivált állapotban. Azok az antiaritmiás szerek, amelyek főleg az inaktív csatornához kötődnek (I.B. csoport, amiodaron) kevésbé hatnak a pitvari rostokon és így kevésbé hatásosak a pitvari aritmiákban, mint a kamrán.

A vegyület és a  $\text{Na}^+$ -csatorna receptor közötti kölcsönhatást számos egyéb tényező (molekulasúly, lipofilitás, pH, stb.) befolyásolhatja, melyből két tényezőt, a pH-t és a különböző antiaritmiás szerek egymással történő kölcsönhatását emelném ki.

pH: A klinikailag hatásos antiaritmiás szerek egy nagy része gyenge bázis, 7 és 10 közötti pKa értékkel. A töltéssel rendelkező és neutrális molekulák arányát a szöveti pH szabja meg. A töltéssel rendelkező, általában hidrofíli, kationos forma főleg a nyitott  $\text{Na}^+$ -csatorna receptorához kötődik, a receptorról való leválása lassúbb, mint a lipofilebb neutrális formáé. Ennek alapján a szöveti pH változása pl. acidózis az adott antiaritmiás szer kationos és neutrális molekula arányának változtatásával befolyásolni képes a szer hatását, illetve toxicitását (GRANT és mtsai, 1980; HONDEGHEM, 1989).

Két különböző vegyület kölcsönhatása a  $\text{Na}^+$ -csatorna receptorával: Két különböző elektrofiziológiai tulajdonsággal rendelkező vegyület jelenlétében szinergista, ill. antagonistá kölcsönhatások várhatók. Szinergista kombinációról számoltak be kinidin és mexiletin (DUFF és mtsai,

1983 ) dizopiramid és mexiletin ( BREITHARDT és mtsai, 1981 ) kombinációjakor. Szinergista kölcsönhatások főleg különböző alosztályokhoz tartozó vegyületek egyidejű alkalmazása esetén jelentkeznek. Nagyon hasonló elektrofiziológiai tulajdonságokkal rendelkező szerek kombinációjánál nem várható jelentős előny. Antagonista kölcsönhatás lép fel, ha két antiaritmiás szer verseng egymással a receptorért. Ez főleg két nagyon eltérő kötődési-leválási kinetikával rendelkező vegyület esetében jelentkezik (lidokain és bupivacain; HONDEGHEM, 1989 ). A kölcsönhatások speciális típusa az, amely az eredeti vegyület és a metabolitja között alakul ki. Encainid metabolitja jóval hatékonyabbnak bizonyult, mint az eredeti molekula, míg lidokain esetében a metabolitok hatása gyengébb ( BENNETT és mtsai, 1988 ).

A  $\text{Na}^+$ -csatorna blokkoló antiaritmiás szerek hatásmechanizmusának tisztázása hozzájárul ahhoz, hogy szelektívebb, jobb antiaritmiás vegyületeket bocsássunk a klinikusok rendelkezésére, továbbá segíti a már jól ismert antiaritmiás szerek mellékhatásának, kölcsönhatásának megértését.

#### IRODALOM

- BENNETT P.B., STROOBANDT R., KESTELOOT H., HONDEGHEM L.M. (1987) Sodium channel block by a potent new antiarrhythmic agent, transcaïnide, in guinea pig ventricular myocytes. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 9, 661-667
- BENNETT P.B., WOOSLEY R.L., HONDEGHEM L.M. (1988) Competition between lidocaine and one of its metabolites, glycylyxylide, for cardiac sodium channels. *Circulation* 78, 692-700

- BREITHARDT G., SEIPEL L., ABENDROTH R.R. (1981) Comparison of antiarrhythmic efficacy of disopyramide and mexiletine against stimulus-induced ventricular tachycardia.  
J. Cardiovasc. Pharmacol. 3, 1026-1037
- BROOKS R.R., CARPENTER J.F., JONES S.M., GREGORY C.M. (1989) Effects of dantrolene sodium in rodent models of cardiac arrhythmias.  
Europ. J. Pharmacol. 164, 521-530
- CAMPBELL T.J. (1989) Subclassification of class I antiarrhythmic drugs. In: Antiarrhythmic Drugs. Handbook of experimental pharmacology. pp. 135-156, Springer, Berlin
- COBBE S.M. (1989) Sotalol. In: Antiarrhythmic Drugs. Handbook of experimental pharmacology. pp. 365-382, Springer, Berlin
- DUFF H.J. (1989) Mexiletine-Quinidine combination. Enhanced antiarrhythmic and electrophysiologic activity in the dog.  
J. Exp. Ther. Pharmacol. 249, 616-623
- ELIZALDE A., SANCHEZ-CHAPULA J. (1988) Effects of the novel antiarrhythmic compound TR 2985 (ropitoin) on action potentials of different mammalian cardiac tissues.  
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 337, 316-322
- FLECKENSTEIN A. (1983) Calcium antagonism in heart and smooth muscle. John Wiley Inc., New York.
- GAUTIER P., GUIRAUDOU P., PEZZIARDI F., BERTRAND J.P., GAGNOL J.P. (1987) Electrophysiological studies of penticainide (CM 7857), a new antiarrhythmic agent, in mammalian myocardium.  
J. Cardiovasc. Pharmacol. 9, 601-610

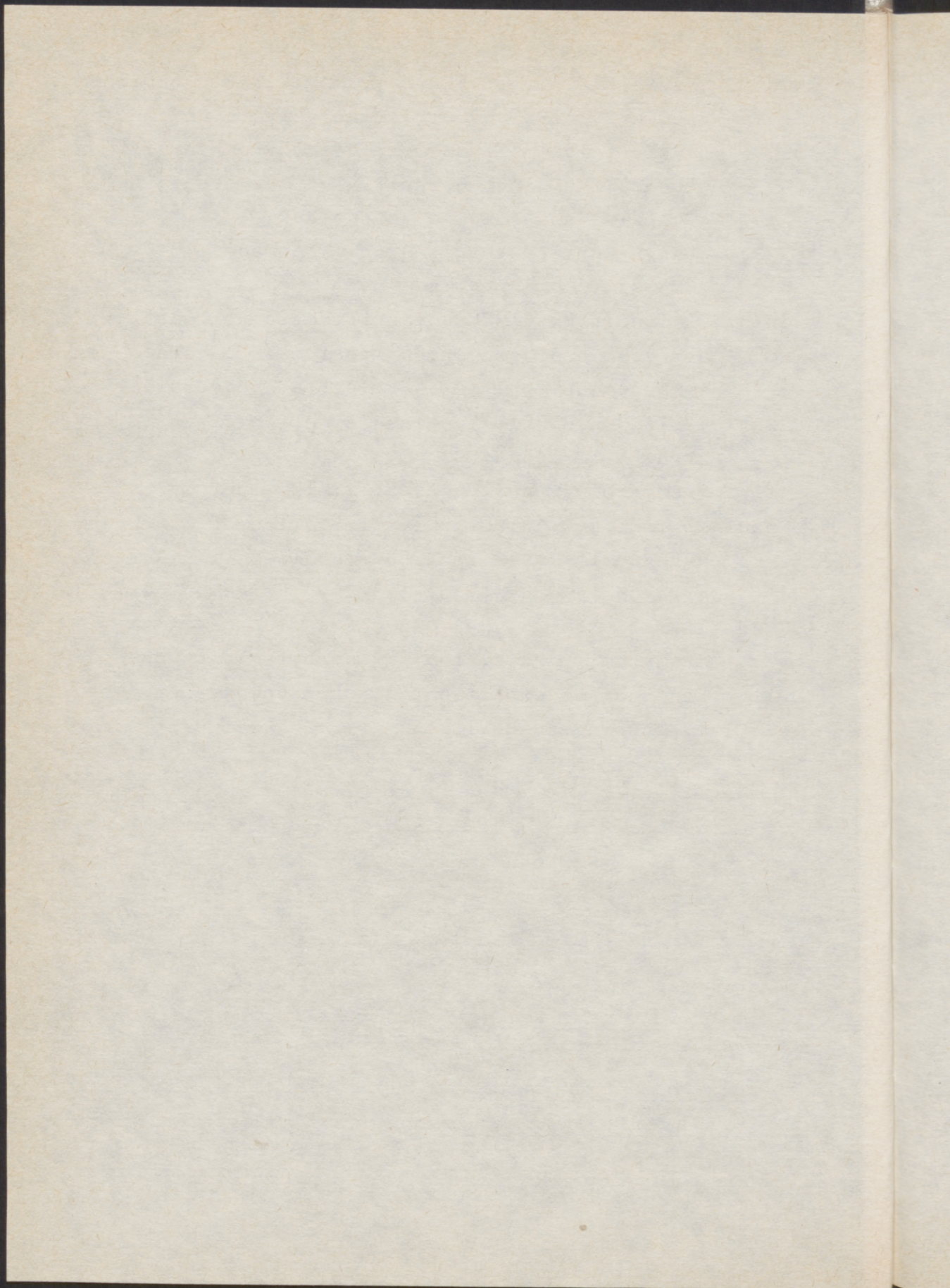
- GRANT A.O., STRAUSS L.J., WALLACE A.G., STRAUSS H.C.  
(1980) The influence of pH on the electrophysiological effects of lidocaine in guinea-pig ventricular myocardium.  
Circ. Res. 47, 542-550
- HARRISON D.C. (1985) Antiarrhythmic drug classification: New science and practical applications.  
Am. J. Cardiol. 56, 185-187
- HODGKIN A.L., HUXLEY A.F. (1952) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve.  
J. Physiol. 117, 500-544
- HONDEGHEM L.M. (1989) Interaction of class I drugs with the cardiac sodium channel. In: Antiarrhythmic Drugs. Handbook of experimental pharmacology. pp. 157-174, Springer, Berlin
- HONDEGHEM L.M., KATZUNG B.G. (1977) Time and voltage-dependent interactions of antiarrhythmic drugs with cardiac sodium channels.  
Biochem. Biophys. Acta 472, 373-398
- IJZERMAN P., SOUDIJN W. (1989) The antiarrhythmic properties of beta-adrenoceptor antagonists.  
TIPS 10, 32-36
- KECSKEMÉTI V. (1980) Effects of Tobanum on cardiac transmembrane potentials. In: Pharmacological Control of heart and circulation. pp 73-76, Akadémiai Kiadó, Pergamon Press, Budapest
- KECSKEMÉTI V., KELEMEN K., KNOLL J. (1978) Effect of verapamil and D 600 on cardiac transmembrane potentials.  
Acta Physiol. Hung. 51, 55-59



- KECSKEMÉTI V. (1988) Effect of EGYT 2936, a new antiarrhythmic drug on the transmembrane potentials of mammalian myocardium.  
Pharm. Res. Commun. 20, Suppl.1, 73-74
- KOHLHARDT M., SEIFERT C. (1983) Tonic and phasic  $I_{Na}$  blockade by antiarrhythmics.  
Pflügers Arch. 396, 199-207
- MÉSZÁROS J., SZEGI J. (1983) Action of dimetindene on the electrophysiological and mechanical properties of atrial and ventricular myocardium of guinea-pig.  
Europ. J. Pharmacol. 96, 45-52
- MÉSZÁROS J., KECSKEMÉTI V., SZEGI J. (1981) Effect of dantrolene sodium on the transmembrane potential and contractility of guinea pig atrial myocardium.  
Europ. J. Pharmacol. 74, 181-188
- MÉSZÁROS J., KECSKEMÉTI V., SZEGI J. (1982) Effect of dantrolene sodium on the mechanical and electrical properties of guinea-pig ventricular myocardium.  
Arch. int. Pharmacodyn. 255, 256-268
- MÉSZÁROS J., KELEMEN K., MARKO R., KECSKEMÉTI V., KORBONITS D., KOVÁCS G., SZEGI J. (1983) Effect of Chinoïn-103, a new antiarrhythmic drug, on the transmembrane potentials, ionic currents and contractile force in heart muscle.  
Arch. int. Pharmacodyn. 262, 250-267
- MÉSZÁROS J., KORBONITS D., KOVÁCS G., SZEGI J. (1986) Mechanism of the antifibrillatory action of Chinoïn-103, a new antiarrhythmic drug.  
Arch. int. Pharmacodyn. 279, 268-281

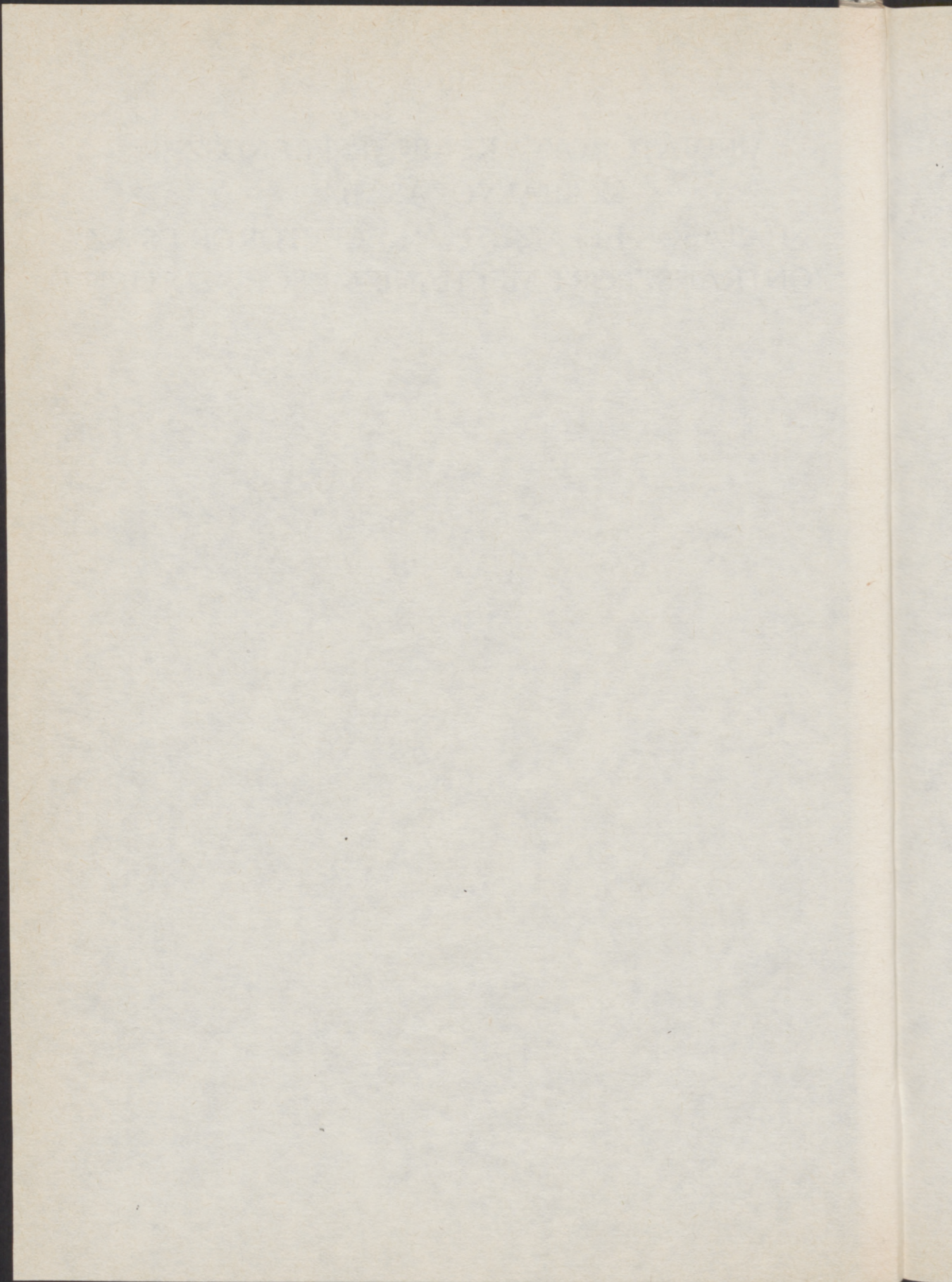
- MÉSZÁROS J., MARKO R., KELEMEN K., KECSKEMÉTI V. (1987)  
Blockade of the fast sodium current by di-  
metindene in frog auricular fibres.  
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 335,  
321-325
- NAWRATH H. (1981) Action potentials, membrane currents  
and force of contraction in mammalian heart  
muscle fibers treated with quinidine.  
J. Pharmacol. Exp. Ther. 216, 176-181
- PASCHALIS A.M., JAMES F.W., SPERELAKIS N. (1989) Azales-  
tine effects on electrical and mechanical ac-  
tivities of guinea pig papillary muscles.  
Europ. J. Pharmacol. 164, 547-553
- SCRAMPS F., UNDOVINAS A., VASSORT G. (1989) Inhibition  
of  $I_{Ca}$  in single frog cardiac cells by quinidine,  
flecainide, ethmozine and ethacizin.  
Am. J. Physiol. 256, C549-C559
- SINGH B.N. (1989) Amiodarone. Electropharmacological  
properties. In: Antiarrhythmic drugs. Handbook  
of experimental pharmacology. pp. 335-364,  
Springer, Berlin
- STRICHARTZ G.R. (1973) The inhibition of sodium currents  
in myelinated nerve by quaternary derivatives  
of lidocaine.  
J. Gen. Physiol. 62, 37-57
- SZEGI J., SZENTMIKLÓSI A.J., SZABÓ J., HARSÁNYI K., KOR-  
BONITS D. (1977) A TE--176 (Chinoin-103) béta-  
receptor bénító, antiarrhythmiás, antianginás  
és cardiovasculáris hatásai.  
Acta Pharm. Hung. 47, 227-240

- TIMOUR Q., AUPETH J.F., LONFONA J., BETRIX L., FREYSZ M., FAUCON G. (1989) Ventricular and atrial electrophysiological effects of Ic antiarrhythmic drugs, cibenzoline, in the innervated dog heart. Role of sodium and calcium channels. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 340, 338-345
- VAUGHAN WILLIAMS E.M. (1970) Classification of antiarrhythmic drugs. In: Symposium on cardiac arrhythmias. pp. 449-472, Astra, Södertälje.
- VAUGHAN WILLIAMS E.M. (1975) Classification of antiarrhythmic drugs. Pharmacology and Ther. B. 1, 115-138
- VAUGHAN WILLIAMS E.M. (1981) Classification of antiarrhythmic drugs. In: Pharmacology of antiarrhythmic drugs. pp. 125-150, Pergamon, Oxford.
- VAUGHAN WILLIAMS E.M. (1989) Classification of antiarrhythmic drugs. In: Antiarrhythmic Drugs. Handbook of experimental pharmacology, pp. 45-67, Springer, Berlin.



## II.

# MEDIÁTOROK A KERINGÉSI RENDSZER SZABÁLYOZÁSÁBAN: A HATÁSOK ELEMZÉSE A RECEPTOROK ÉS AZ IONTRANSPORT-MECHANIZMUSOK SZINTJÉN



# CHOLINERG IZGATÓ SZEREK HATÁSA PRAENATÁLIS EMBERI SZÍVBEN ÉS POSTNATÁLIS HUMÁN MYOCARDIUMBAN

PAPP GYULA

Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézete, Szeged

## BEVEZETÉS

Különböző állatfajokban a cholinerg izgató szerek fejlődő szíven kifejtett "muscarin-szerű" hatásainak tisztázása céljából már eddig is viszonylag jelentős számú és rendszeres vizsgálatot végeztek. Az erre vonatkozó adatok döntő többsége egyrészt amellettszól, hogy a madár- és az emlős-szív acetylcholin és egyéb cholinomimeticumok (carbamylcholin, acetyl- $\beta$ -methylcholin) iránt már a praenatális életnek abban az időszakában is érzékeny, amikor még a szívben paraszimpatikus idegek jelenléte nem mutatható ki (2,8,9,10,14,29,39,43). Másrészt az is kitűnt, hogy emlős-szívben a "muscarin-szerű" cholinerg receptorok sűrűsége, főként a paraszimpatikus beidegést követően, a magzati életkor előrehaladtával fokozatosan növekszik, s ezzel többé-kevésbé párhuzamosan válnak egyre kifejezettebbé a szív működésben acetylcholin hatására létrejövő változások is (12,17,22,34,35).

Ezzel szemben rendkívül kevés, hiányos és vitatható adat áll rendelkezésre arra vonatkozólag, hogy emberi magzatok szívében a

"muscarin-szerű" cholinerg hatások egyáltalán előidézhetőek-e, ill. milyen mértékben válthatók ki a praenatalis élet folyamán. Saját vizsgálatainkat megelőzően az sem volt ismert, hogy humán magzatok szívéen mikor hozhatók létre legkorábban funkcionális változások cholinerg izgató szerekekkel, ill. mikor jelenik meg a szív acetylcholin-érzékenysége. Mindez indokoltá tette, hogy ezen munkánkban összefoglalt, az acetylcholin és a carbamylcholin hatásaira vonatkozó vizsgálataink során, figyelmünket a fejlődő emberi szíven előidézhető változások rendszeres tanulmányozására összpontosítsuk.

Más szerzők elszórt megfigyeléseiből az tűnik ki, hogy 100 mm-es (megközelítően 13 hetes) humán magzat szívének pitvarán, kb.  $10^{-7}$ - $10^{-6}$  M acetylcholinnal negatív chronotrop és inotrop hatás idézhető elő (4). Viszonylag magas ( $4,4 \times 10^{-7}$ - $2,2 \times 10^{-5}$  M) acetylcholin-koncentrációk hatására egy 8 hetes (az eredeti leírás szerint 10 hetes "menstruációs" életkorú) emberi magzat 46 mg súlyú szívéen is sikerült a frekvencia, továbbá az atrio-ventricularis ingerületvezető képesség csökkenését kimutatni (5). Ezen megfigyelések alapján viszont meglepő, hogy Coltart, Spilker és Meldrum (1971) (1) 12-13 hetes humán magzatok izolált pitvarán végzett vizsgálataiban viszonylag nagy (a kontraktilitást kb. 45 %-al csökkentő, mintegy  $5,5 \times 10^{-5}$  M-nak megfelelő) carbamylcholin-koncentráció a sinus-csomó ingerképzését és a munkaizomzatból intracelluláris mikroelektrod-technikával elvezetett akciós potenciálok időtartamát nem befolyásolta. (Ugyanezen szerzők idősebb, 14-20 hetes magzatok szívéen azonban már a repolarizációs idő rövidülését is megfigyelték.)

Az ismerttetett csekély számú adat birtokában, a cholinomimeticumok (acetylcholin, carbamylcholin) iránti érzékenység kialakulásával kapcsolatos vizsgálatainkban választ kívántunk kapni arra az eddig nem tisztázott kérdésre, hogy a fejlődő emberi szívében kimutatható-e az acetylcholin-érzékenység már a paraszimpatikus beidegzés megjelenése előtti időszakban, s hogy az életkor előrehaladtával változik-e a szív cholinerg izgató szerekek iránti reaktivitása a mások által nem vizsgált, igen korai (a magzati élet 8. hetét meg-



előző) periódusban. Tanulmányoztuk továbbá azt a kérdést is, hogy emberben a szív paraszimpatikus beidegzése, a praenatalis élet során, mikor válhat funkcionálisan is hatékonyvá; in vivo viszonyok között gyógyszeres kiiktatása mikor vezet már értékelhető szívfrekvencia növekedéshez, ill. in vitro kísérletekben, transmurális elektromos ingerléssel, mikor lehet a legkorábban a sinus-csomóban "muscarin-szerű" cholinerg receptorok izgalmán alapuló automatia csökkenést előidézni (18,19,22,23,26,27,32). Végezetül eredményeink alapján összehasonlítjuk az adrenerg és cholinerg neurotransmitterek, ill. általában a fontosabb endogen mediátor és modulátor anyagok iránti érzékenység megjelenését az emberi magzat szívében (21, 22,23).

#### VIZSGÁLATI ANYAG ÉS MÓDSZEREK

Vizsgálatainkat főként humán magzatok szívéen végeztük, egyrészt in vivo (in utero) körülmények között, nagyobb részben azonban terhességmegszakítás során nyert és tápoldatban túlélő, izolált szíveken és szívpreparátumokon. Néhány esetben a cholinerg izgatók hatását postnatalis emberi pitvarokból, korrekciós szív műtétek során kimetszett munkaizomzaton is tanulmányoztuk. Mind az acetylcholint, mind a carbamylcholint ( $10^{-10}$ - $10^{-3}$  M) koncentrációként 10 percig adtuk az izolált szívet vagy szív részletet tartalmazó tápoldathoz, s az egyes koncentrációk alkalmazása közt, 20-30 percig, a kísérleti kádon kontroll tápoldatot áramoltattunk keresztül. Mindkét cholino-mimeticum már 5 percen belül kifejtette maximális hatását. Az atropin gátló hatásának vizsgálatakor a szert ( $10^{-6}$ - $10^{-4}$  M) a cholinerg izgatók előtt 30 perccel juttattuk a tápoldatba. Ugyanez érvényes a transmurális elektromos ingerlés hatásának megelőzése céljából alkalmazott  $5 \times 10^{-7}$  tetrodotoxinra is. Magzati szíveken, az acetylcholin negatív chronotrop hatására vonatkozó  $ED_{50}$  értékek megállapítása során, az észlelt frekvencia-változásokat az acetylcholinnal kiváltható maximális frekvencia-csökkenés %-ában fejeztük ki. Az alkalmazott módszerekre (in vivo szívfrekvencia regisztrá-

lás, felületi és intracelluláris akciós potenciálok elvezetése, transmuralis elektromos ingerlés) vonatkozó részleteket korábban ismertettük (26,27,28,30,31,32,33).

A vizsgálatokhoz acetylcholin chloridot (Acécoline, Lematte et Boinot), carbamylcholin chloridot (Carbachol, British Drug Houses), atropin sulphatot (EGYT) és tetrodotoxint (Sankyo) használtunk.

#### EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

Acetylcholin iránt már 3-4 hetes emberi magzatok szíve is érzékenynek bizonyult; a szer jelenlétében a sinus-csomó automáciája, ill. a szívek frekvenciája jól értékelhetően csökkent. Az életkor előrehaladtával létrejövő acetylcholin-érzékenység fokozódás nagyon kifejezett a fejlődés 3. és 9. hete közötti időszakban. Ezt követően a 18. hétig a szer hatása megközelítően azonos szinten marad (1. táblázat).

A pitvari munkaizom-sejtek elektromos aktivitását (1. ábra és 2. táblázat) az acetylcholin 10-12 hetes magzati szíveken jelentősen befolyásolta, elsősorban azáltal, hogy az intracellulárisan regisztrált akciós potenciálok repolarizációs idejét rövidítette, emellett hyperpolarizációt okozott és növelte a depolarizáció sebességét. Említésre méltó, hogy acetylcholin jelenlétében a pitvari akciós potenciál időtartama kismértékben már 4-5 hetes magzati szíveken is csökkent; a nyugalmi potenciál értéke és a depolarizáció sebessége viszont ezekben az esetekben még nem változott számottevően. Egyébként az acetylcholinnak a pitvari munkaizom-sejtek elektromos aktivitására kifejtett hatása lényegesen kifejezettebb volt a postnatális, mint a korai praenatális időszakból származó szíveken.

Az acetylcholin-érzékenység korai megjelenését és fejlődését bizonyítja azon észleletünk is, hogy a szer ( $10^{-4}$  M) jelenlétében egy 9,7 mg-os (kb. 4-5 hetes), egy 27,6 mg-os (8 hetes) és egy 93,1 mg-os (12 hetes) magzati szív, továbbá egy 5 éves postnatális szív 108, 130, 150, ill. 240 msec-os pitvari effektív refrakterszaka maximálisan 9, 15, 30, ill. 60 msec-al megrövidült.

1. táblázat

Acetylcholin hatása a sinus-csomó autonóciájára emberi magzatok izolált szívéén

Szívsúly tartomány /mg/	Életkor /hetek/	n	Kontroll /akciós potenciál/min/x	Maximális frekvencia-változás /akciós potenciál/min/x	EC <sub>50</sub> /M/x /pD <sub>2</sub> /
1- 4	3	12	112 ± 3	- 16 ± 4	$5.9 \pm 0.9 \times 10^{-5}$ /4.23/
5- 10	4- 5	11	121 ± 4	- 18 ± 3	$3.2 \pm 0.4 \times 10^{-5}$ /4.49/
11- 20	6- 7	14	123 ± 2	- 28 ± 3	$8.8 \pm 1.3 \times 10^{-6}$ /5.05/
21- 50	8- 9	12	113 ± 1	- 65 ± 4	$1.2 \pm 0.1 \times 10^{-6}$ /5.92/
51-100	10-12	9	110 ± 2	- 76 ± 6	$1.4 \pm 0.2 \times 10^{-6}$ /5.85/
101-200	13-14	11	108 ± 4	- 78 ± 4	$1.8 \pm 0.2 \times 10^{-6}$ /5.74/
$\bar{x}$ 201	15-18	5	99 ± 2	- 72 ± 8 <sup>m</sup>	$1.4 \pm 0.1 \times 10^{-6}$ /5.85/

x = Átlag + standard hiba.

n = A vizsgált szívek /sinus-csomók/ száma.

m = Egy esetben szívmegeállás 10<sup>-3</sup> M acetylcholin hatására.

pD<sub>2</sub> = - log EC<sub>50</sub> /M/.

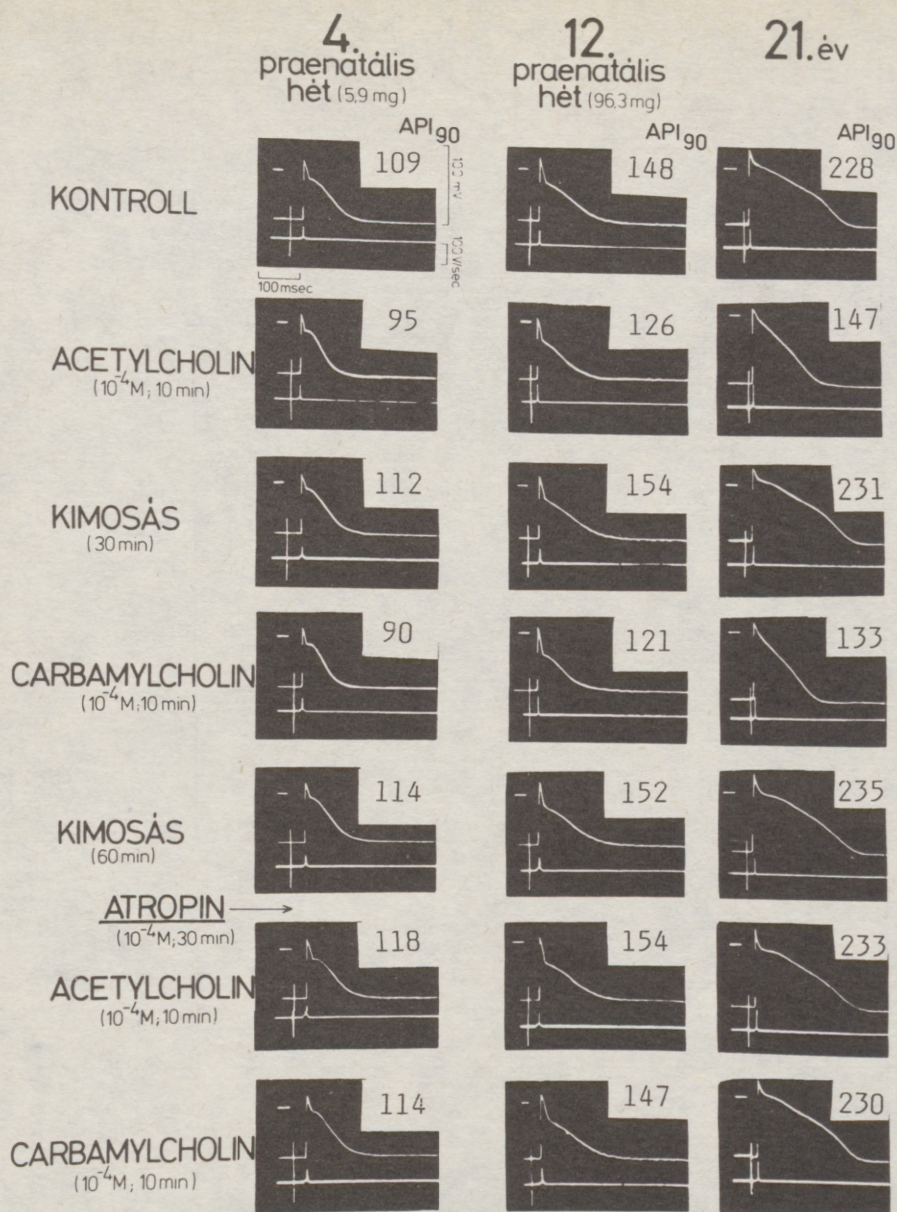
Statistikai szignifikancia

1/ a közvetlenül megelőző /fiatalabb/ korcsoport EC<sub>50</sub>-ének átlagértékéhez viszonyítva: § p < 0.05; ● p < 0.001

2/ a 8-9 hetesnél fiatalabb szíveken nyert EC<sub>50</sub>-értékek összevont átlagához viszonyítva: \*\*\* p < 0.001

Az acetylcholin által előidézett frekvencia-csökkenés minden vizsgált korcsoportban statisztikailag szignifikáns

/p < 0.01/.



1.ábra Acetylcholin és carbamylcholin hatása prae- és postnatális emberi szív pitvari munkaizom-sejtjeiből elvezetett transzmembrán potenciálokra. (A felvételeken a baloldali rövid vízszintes vonal a "0"-potenciál értékét jelzi; fent az akciós potenciál, lent a depolarizáció maximális sebességével arányos differenciált jel,  $(dV/dt)_{max}$  látható. - Hajtófrekvencia: 100/min. API<sub>90</sub> = 90 %-os repolarizáció ideje (msec). A praenatális életkor után zárójelben a magzati szívsúly szerepel. - Az egyes szerek hatásának leírása a szövegben található.)

2. táblázat

Acetylcholin (ACH) hatása prae- és postnatális emberi szívek pitvari munkaizom-sejtjeiből elvezetett transzmembrán potenciálok néhány jellemző paraméterére

Életkor		Praenatális		Postnatális	
		4-5 hét	10-12 hét	2-10 év	20-40 év
Szív súly tartomány (mg)		5-10	51-100	-	-
Nyugalmi potenciál (mV) <sup>x</sup>	Kontroll	63±2 (n=10)	69±2 (n=18)	79±2 (n=28)	75±3 (n=24)
	ACH (10 <sup>-4</sup> M) □	65±1 (n=12) + 3%	73±0.5 <sup>+</sup> (n=20) + 6%	85±2 <sup>+</sup> (n=24) + 8%	83±1 <sup>+</sup> (n=25) +11%
Akciós potenciál amplitúdó (mV) <sup>x</sup>	Kontroll	71±2 (n=10)	80±3 (n=18)	89±3 (n=28)	86±3 (n=24)
	ACH (10 <sup>-4</sup> M) □	71±3 (n=12) 0%	79±2 (n=20) - 1%	87±4 (n=24) - 2%	86±3 (n=25) 0%
Depolarizáció sebessége, (dV/dt) <sub>max</sub> (V/sec) <sup>x</sup>	Kontroll	52±2 (n=10)	86±3 (n=18)	96±4 (n=28)	92±4 (n=24)
	ACH (10 <sup>-4</sup> M) □	54±1 (n=12) + 4%	96±2 <sup>++</sup> (n=20) +12%	111±4 <sup>+</sup> (n=24) +16%	109±2 <sup>+++</sup> (n=25) +18%
Akciós potenciál időtartama, (API <sub>90</sub> ) (msec) <sup>x</sup>	Kontroll	105±4 (n=10)	156±4 (n=18)	233±6 (n=28)	242±5 (n=24)
	ACH (10 <sup>-4</sup> M) □	89±2 <sup>++</sup> (n=12) -25%	123±5 <sup>+++</sup> (n=20) -21%	137±5 <sup>+++</sup> (n=24) -41%	129±6 <sup>+++</sup> (n=25) -47%

x = Átlag ± standard hiba.

□ = Korai humán magzati szívek pitvari munkaizom-sejtjein - az adott kísérleti feltételek mellett - a maximális hatást kifejtő ACH-koncentráció megközelítően 10<sup>-4</sup> M-nak felelt meg. A táblázatban az ACH jelenlétében, az első 10 percben regisztrált transzmembrán potenciálok adatai szerepelnek.

n = Különböző sejtekből elvezetett transzmembrán potenciálok száma.

API<sub>90</sub> = 90 %-os repolarizáció időtartama. - Hajtófrekvencia: 100/min.

Statisztikai szignifikancia a megfelelő kontroll csoport átlagértékéhez viszonyítva: + p<0.05; ++ p<0.01; +++ p<0.001

Tapasztalataink szerint az acetylcholin ismertetett hatásait atropin sulphattal a szívfejlődés bármely vizsgált szakaszán antagónizálni lehet. Erre szolgáltat példát az a megfigyelésünk, hogy 2,4 mg-os (kb. 3 hetes), 48,7 mg-os (9 hetes) és 158,2 mg-os (13 hetes) magzati szív 114, 117, ill. 105/min-os frekvenciája acetylcholin ( $10^{-4}$  M) hatására - atropin nélkül - 12, 57, ill. 68/min-al csökkent. - Emellett az acetylcholinnak a munkaizom-sejtek transzmembrán potenciáljára kifejtett hatásait az atropin nemcsak a postnatális, hanem a praenatális időszakból származó szívpitvarokon is gátolta (1. ábra).

Carbamylocholin alkalmazásával is sikerült igazolnunk, hogy humán magzati szívben, a fejlődés igen korai időszakában jelen vannak a sinus-csomó automáciájának cholinerg eredetű csökkentésében szereplő "muscarin-szerű" receptorok. Vizsgálataink során 2-4 mg-os (kb. 3 hetes), 21-50 mg-os (8-9 hetes) és 51-100 mg-os (10-12 hetes) magzati szivek  $109 \pm 3$  (n=5),  $114 \pm 4$  (n=7) és  $107 \pm 4$ /min-os (n=4) frekvenciája (átlag  $\pm$  S.E.) carbamylocholin hatására  $19 \pm 3$ ,  $70 \pm 2$  és  $78 \pm 6$ /min-al csökkent / $EC_{50}$  (átlag  $\pm$  S.E.) =  $2,1 \pm 0,3 \times 10^{-5}$ ,  $8,3 \pm 0,6 \times 10^{-7}$  és  $8,9 \pm 0,7 \times 10^{-7}$  M; a második és harmadik csoport  $EC_{50}$ -e az elsőétől szignifikánsan különbözik ( $p < 0,001$ , ill. 0,01)/. Mindez arra utal, hogy emberi magzatok szívében, a fejlődés korai szakaszában, az életkor előrehaladtával nemcsak az acetylcholin, hanem a carbamylocholin iránti érzékenység is nagyon kifejezetten növekszik.

A pitvari munkaizom-sejtek akciós potenciáljának időtartamát a carbamylocholin ( $10^{-4}$  M) kismértékben már 4 hetes, kifejezetten 12 hetes magzati szíven csökkentette, amely utóbbi hatás hyperpolarizációval és a depolarizáció sebességének növekedésével is együtt járt. Ugyanezen hatások egy postnatális (21 éves) szív pitvarán még fokozottabb mértékben érvényre jutottak (1. ábra).

Atropin sulphattal a carbamylocholin említett hatásait valamennyi vizsgált korcsoportból származó szíven gátolni tudtuk. Így többek között egy 3,1 mg-os (kb. 3 hetes), egy 36,8 mg-os (8 hetes) és egy

92,7 mg-os (11 hetes) magzati szív 106, 126, ill. 107/min-os frekvenciája carbamylcholin ( $10^{-4}$  M) hatására - atropin nélkül - máximalisan 18, 53, ill. 82/min-al, atropin ( $10^{-5}$  M) jelenlétében viszont csak 4, 9, ill. 26/min-al csökkent. - Ezenfelül az atropin a carbamylcholin által a pitvari munkaizomsejtek transzmembrán potenciáljaiban előidézett változásokat is gátolta (1. ábra).

Arra a kérdésre, hogy emberi szívben az acetylcholin és a carbamylcholin iránti érzékenységnek az életkor előrehaladtával járó fokozódásában milyen mértékben játszik szerepet a "muscarin-szerű" receptorok sűrűségének növekedése és milyen mértékben járul hozzá ehhez a megfelelő post-receptorális mechanizmusok hatékonyabbá válása, csak további /pl. receptor-specifikus radio-ligandokkal (így  $^3\text{H-QNB}$ -vel, 12,35) végzendő/ vizsgálatok adhatnak kielégítő választ.

Az a megfigyelésünk, amely szerint az ember szívében a "muscarin-szerű" cholinerg receptor-effektor rendszer már a praenatalis élet igen korai időszakában működőképes arra utal, hogy nagymértékű endogen acetylcholin-felszaporodással járó állapotokban (pl. az anya cholinesterase-bénítő szerekkel történt mérgezése esetén) magzati bradycardia és esetleg keringési elégtelenség koraterhességben is létrejöhet, ami az anyának adott atropinnal valószínűleg kedvezően befolyásolható. Ismeretes ugyanis, hogy a cholinesterase-bénítő hatású gyógyszerek egy része átjut a placentán, a magzatban lassabban metabolizálódik mint az anyában, s jelentősen csökkenti a magzati plasma cholinesterase aktivitását (16,42). Feltehetően fokozottan érvényes ez a cholinesterase-bénítő hatású növényvédőszerrek ill. egyéb toxikus anyagok nagy részére. Igazolást nyert továbbá az is, hogy az anyának adott atropin sulphat áthalad a méhlepényen és ennek alapján képes a magzatban therápiás hatásokat kifejteni. (Erre vonatkozó bizonyítékokat munkánk további részében ismertetünk).

A cholinerg neuro-effector transmissio megjelenésének vizsgálata során a sinus-csomót magában foglaló jobb pitvari terület transmurális elektromos ingerlése már 8-9 hetes humán magzatok szívéen jel-

zett frekvencia-csökkenést idézett elő. Ez a hatás a szívfejlődés 10-12. hetétől kezdve statisztikailag is szignifikánssá, az életkor előrehaladtával mind kifejezettebbé vált (3. táblázat), s tetrodotoxinnal ( $5 \times 10^{-7}$  M), valamint atropin sulphat-tal ( $10^{-6}$  M) gyakorlatilag teljes mértékben gátolhatóan bizonyult. Ebből arra következtethetünk, hogy az ingerlés az acetylcholint minden valószínűség szerint neurális elemekből szabadította fel, s az észlelt negatív chronotrop hatás "muscarin-szerű" cholinerg receptorok izgalma révén jött létre. Mindez összhangba hozható azzal, hogy emberi szívben primitív, morfológiailag differenciálatlan és funkcionálisan éretlen idegsejteket legkorábban a magzati élet 5-6. hetében sikerült kimutatni (38,41), s vagus-rostok a sinus-csomót a 8. praenatális héttől kezdődően idegzik be (3), valamint azzal a megfigyeléssel, hogy elektromos ingerléssel - a pitvarban raktározott acetylcholin felszabadítása révén - humán magzati szívek izolált balpitvarának kontraktilitását a szívfejlődés 12-13. hetétől kezdve lehet csökkenteni (40).

Mindez természetesen nem jelenti azt, hogy az emberi szív paraszimpatikus beidegzése a magzati élet 10-13. hetében funkcionálisan is éretté válik, s tónusos gátló hatása már ebben az időszakban in vivo (in utero) viszonyok között is érvényre jut. Megfigyeléseink szerint egészséges terhes asszonyoknak a méhlepényen gyorsan átjutó atropin sulphat (11,36) felnöttben erős paraszimpatikus gátló hatást kifejtő  $40 \mu\text{g}/\text{kg}$ -os adagját intravénásan befecskendezve, a szer a magzati szívfrekvenciát legkorábban csak a fejlődés 15-17. hetében növelte kis mértékben. A fejlődés ezen időszakát követően az atropin hatására bekövetkező maximális szívfrekvencia-fokozódás már meggyőzően meghaladja az élettani frekvencia-ingadozások (13) értékét (2. ábra). A maximális magzati szívfrekvencia-növekedés a 15-17. héten  $7 \pm 2/\text{min}$ -nak ( $n=8$ ;  $p < 0.05$ ), a 18-22. héten  $11 \pm 2/\text{min}$ -nak ( $n=8$ ;  $p < 0.001$ ) és a 29-38. héten  $20 \pm 2/\text{min}$ -nak ( $n=9$ ;  $p < 0.001$ ) felelt meg. - Egyébként az általunk alkalmazott atropin dózis meglehetősen nagy, amit vizsgálatainkban az is bizonyít, hogy



3. táblázat

Transzmurális elektromos ingerlés hatása a sinus-csomó autamúciájára  
emberi magzatok izolált szívében

Szívcsomó tartomány /mg/	Életkor /hetek/	n	Kontroll /akciós potenciál /min/ <sup>x</sup>	Maximális frekvencia-változás /akciós potenciál /min/ <sup>x</sup> □
1- 4	3	8	110 ± 1	φ
5- 10	4- 5	6	118 ± 4	φ
11- 20	6- 7	6	124 ± 3	φ
21- 50	8- 9	6	112 ± 3	- 5 ± 2
51-100	10-12	12	108 ± 2	- 18 ± 2***
101-200	13-14	9	106 ± 4	- 25 ± 2***
Σ 201	15-18	8	102 ± 2	- 38 ± 4***

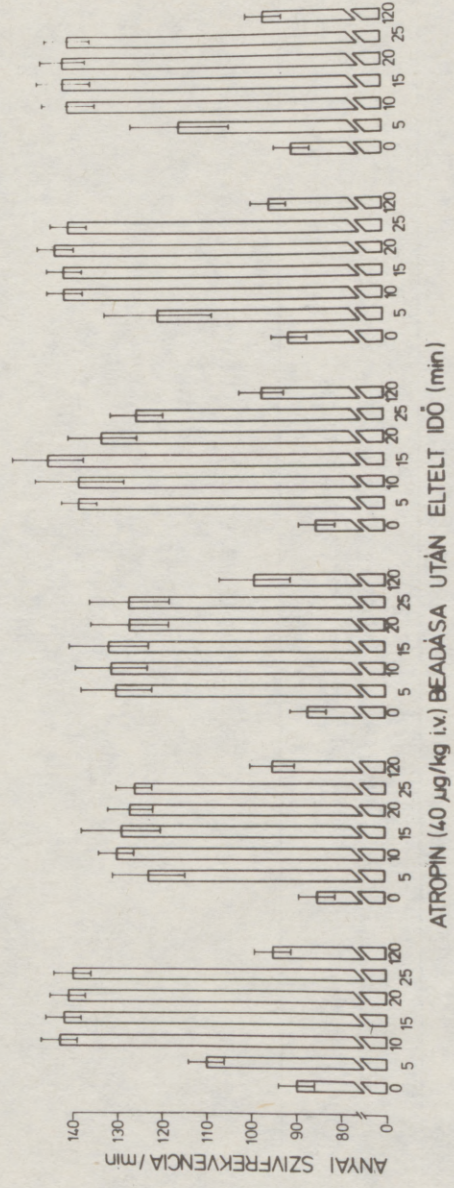
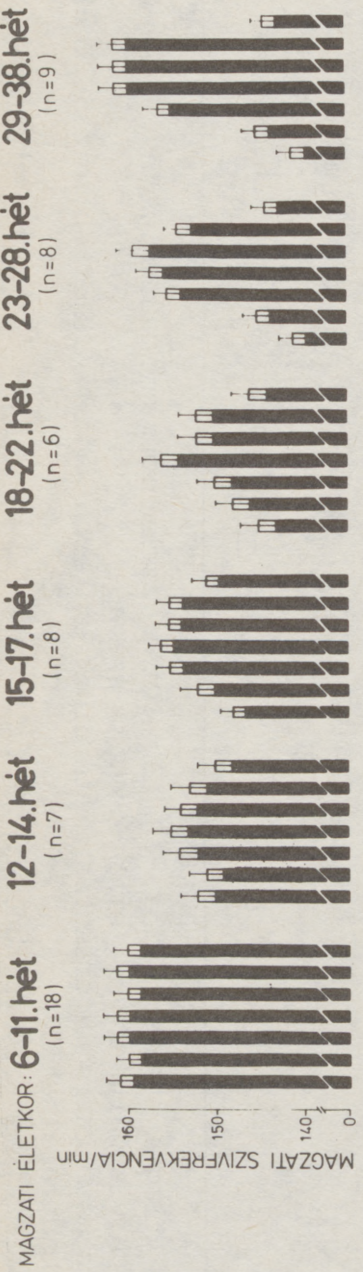
x = Átlag + standard hiba.

□ = Korai /frekvencia csökkentő/ hatás.

n = A vizsgált szívek /sinus-csomók/ száma.

A transzmurális ingerlés paramétereinek és technikájának ismertetése a 3.2. alfejezetben található.

Statistikai szignifikancia: \*\*\* p < 0.001



2. ábra In utero magzati, valamint anyai szívfrekvencia-értékek az anyának befecskendezett atropin hatására a magzati élet különböző szakaszaiban emberben. (A magzati szívfrekvencia regisztrálása ultrahangos Doppler-technikával, az anyai frekvenciáé az EKG alapján történt. Átlagértékek + S.E.)

hatására az anyai szívfrekvencia átlag mintegy 50/min-al tartósan növekedett (szélső értékek: 43-59/min) (2. ábra). Ennek alapján valószínű, hogy ezzel az adaggal a magzatokban is megközelítően az elérhető maximális szívfrekvencia-fokozódást (paraszimpatikus gátló hatást) sikerült előidézni. Emellett szól, hogy Mendez-Bauer, Poseiro, Arellano-Hernandez és Caldeyro-Barcia (1963) (15) a szülés során, közvetlenül a magzatba fecskendezett, lényegesen magasabb (100  $\mu$ g/magzati testsúly kg) atropin-dózissal sem tudtak nagyobb magzati szívfrekvencia-fokozódást elérni, mint amekkorát saját vizsgálatainkban a terhesség végén észleltünk.

Egészeiben véve, a meglehetősen drasztikus beavatkozással (erős elektromos ingerléssel) a humán magzati szívből már a praenatalis élet 10-12. hetében felszabadítható acetylcholin fiziologiás körülmények között feltehetően még nem játszik szerepet a szív paraszimpatikus beidegzésének tónusos bradycardizáló hatásában, amelynek jelenléte csak a szívfejlődés 15-17. hete után válik jól kimutathatóvá.

Végeredményben megfigyeléseink arra utalnak, hogy más speciese-kéhez hasonlóan (29,39), az ember szívének paraszimpatikus jellegű anatómiai és funkcionális beidegzése között is jelentős idő telik el.

A humán magzati szív funkcionális paraszimpatikus beidegzésére vonatkozó megállapításaink egyébként elősegítik annak eldöntését, hogy - a magzat életkora alapján - valamely foetalis distress okozta magzati bradycardia vagy arrhythmia kialakulásában lehet-e egyáltalán szerepe megnövekedett vagus-tónusnak, s az anyának atropint vagy más, a placentán átjutó paraszimpatikus bénító szert adva, re-mélhető-e az említett szívritmus-zavarok enyhülése vagy megszűnése.

A cholinerg és adrenerg izgatók szívhatása iránti érzékenység kialakulását összehasonlítva (3. ábra), kitűnik, hogy a humán magzati szív neurotransmitter (acetylcholin, noradrenalin) érzékenysége már a megfelelő vegetatív idegek megjelenése előtt kimutatható.

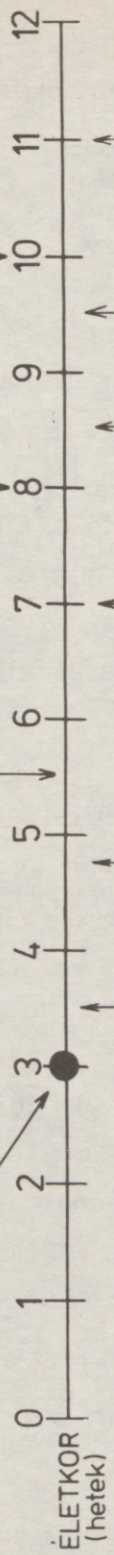
Paraszimpatikus (praeganglionáris vagus) idegrostok belépeése a szívbe (Gardner és O'Rahilly 1976)

Szimpatikus (catecholamin tartalmazó) idegrostok megjelenése a szívben (Gennser és Owman 1970; 1975)

Primitív idegsejtek megjelenése a szívben (Walls 1947; Smith 1970)

Első szív-kontrakciók valószínű időpontja (Patten 1968; Sissman 1970)

I. BEIDEGZÉS (Irodalmi adatok)



II. ÉRZÉKENYSÉG (Saját megállapítások)

NORADRENALIN  
ADRENALIN  
Isoproterenol  
Fenoterol  
Isoxsuprin  
Terbutalin  
Histamin

ACETYLCHOLIN  
Carbamylcholin

Prostaglandinok

Glucagon

Trijodthyronin

Tyramin

3. ábra Neurotranszmitterek, hormonok és különböző vegetatív izgató szerek iránti érzékenység megjelenése humán magzati szívben.

Ez összhangban áll azokkal az állatkísérletes megfigyelésekkel, amelyek szerint a fejlődő szív neurotranszmitterek iránti érzékenysége megjelenése általában megelőzi a szív vegetatív beidegzésének kialakulását (29,39). Emellett emberi magzatok szívében az acetylcholin a fejlődés során korábban válik hatásossá, mint a noradrenalin, ahhoz hasonlóan, ahogy a szív paraszimpatikus beidegzésének kialakulása is megelőzi a szimpatikus beidegzését. Az utóbbi megállapítás nemcsak morfológiai, hanem funkcionális szempontból is érvényes. A humán magzati szív vegetatív idegeinek elektromos ingerlésével szerzett tapasztalataink (26) ugyanis arra utalnak, hogy a fejlődés során, az ember szívében valamivel korábban válik hatékonyá a "muscarin-szerű" cholinerg, mint az adrenerg neuro-effector transmissio (22). Ez is megfelel azoknak az eredményeknek, amelyeket különböző állatfajok fejlődő szívében nyertek (29,39).

A 3. ábrán összefoglalt egyéb megfigyeléseink alapján az is nyilvánvaló, hogy fejlődő emberi szívben a vizsgált hormonok ("modulátor anyagok") iránti érzékenység általában jóval később mutatható ki, mint a neurotranszmitterek hatásossá válása. Ebből a szempontból kivételt képez a histamin, amely humán magzatok szívében meglehetősen korán - a noradrenalinval megközelítően azonos időszakban - jól értékelhető funkcionális és biokémiai változásokat hoz létre (20,23,24,25,44).

#### IRODALOM

1. Coltart D.J., Spilker B.A. and Meldrum S.J. (1971) An electrophysiological study of human foetal cardiac muscle. *Experientia* 27, 797-799.
2. Fingl E., Woodbury L.A. and Hecht H.H. (1952) Effects of innervation and drugs upon direct membrane potentials of embryonic chick myocardium. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 104, 103-114.
3. Gardner E. and O'Rahilly R. (1976) The nerve supply and conducting system of the human heart at the end of the embryonic period proper. *J. Anat.* 121, 571-587.

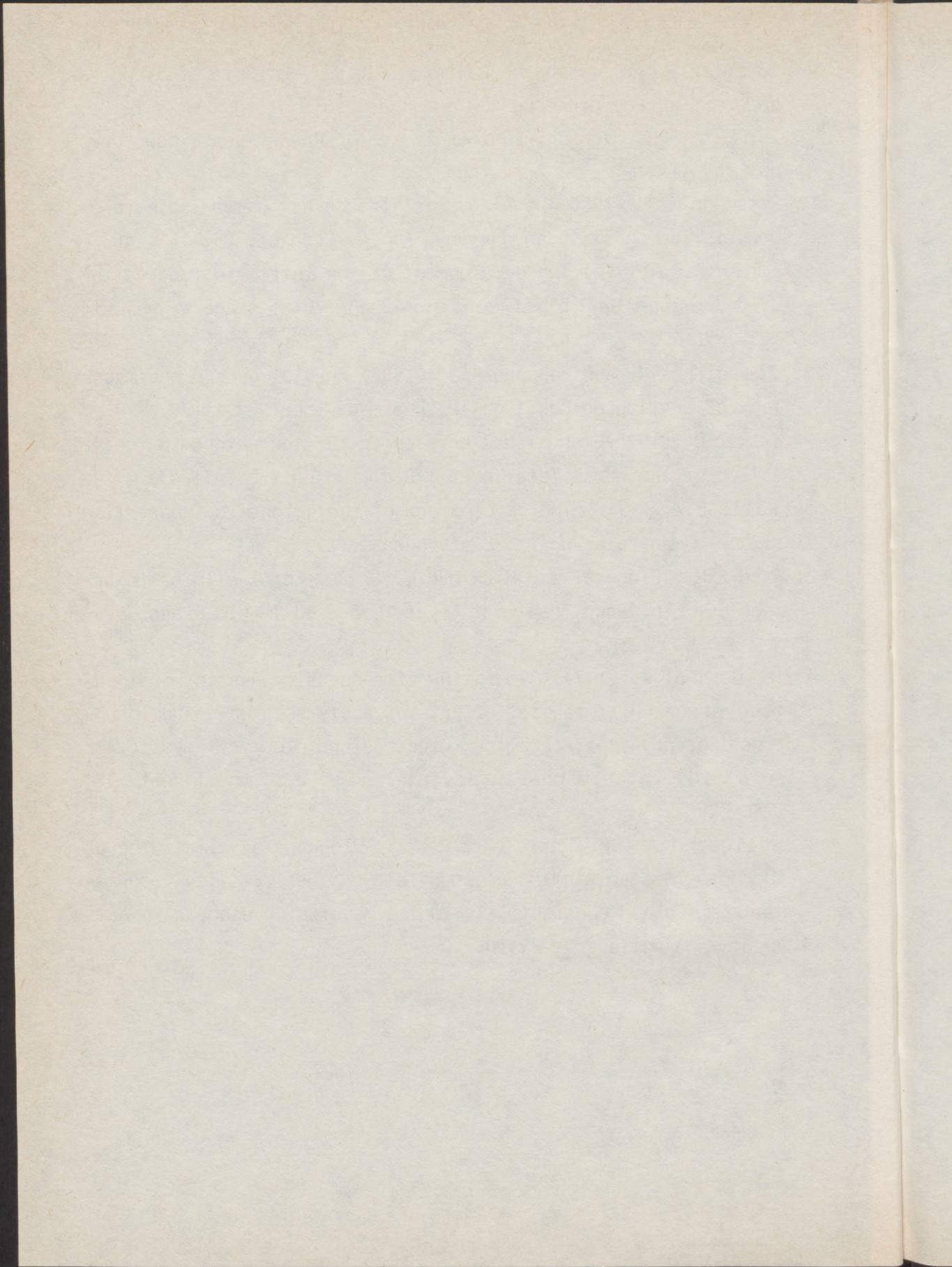
4. Garrey W.E. and Townsend S.E. (1948) Neural responses and reactions of the heart of a human embryo. *Am. J. Physiol.* 152, 219-224.
5. Gennser G. and Nilsson E. (1970) Response to adrenaline, acetylcholine and change of contraction frequency in early human fetal hearts. *Experientia* 26, 1105-1107.
6. Gennser G. and Owman C. (1970) Unpublished observations, cit.: Gennser G. and Nilsson E. *Experientia* 26, 1105-1107.
7. Gennser G. and Owman C. (1975) Unpublished observations, cit.: Gennser G. and Studnitz W. (1975) *Experientia* 31, 1422-1424.
8. Hall E.K. (1957) Acetylcholine and epinephrine effects on the embryonic rat heart. *J. Cell. Comp. Physiol.* 49, 187-200.
9. Higgins D. (1983) The ontogeny of the response of the avian embryo heart to autonomic neurotransmitters and to transmitter-like drugs. *Pharmac. Ther.* 20, 53-77.
10. Karczmar A.G., Srinivasan R. and Bernsohn J. (1973) Cholinergic function in the developing fetus. In: Fetal Pharmacology. (Boréus L., ed.) Raven Press, New York, pp. 127-177.
11. Kivalo I. and Saarikoski S. (1970) Quantitative measurements of placental transfer and distribution of radioactive atropin in fetus. *Ann. Chir. Gynaec. Fenniae* 59, 80-84.
12. Kojima M., Ishama T., Taniguchi N., Kimura K., Sada H. and Sperlakis N. (1990) Developmental changes in  $\beta$ -adrenoceptors, muscarinic cholinceptors and  $Ca^{2+}$  channels in rat ventricular muscles. *Br. J. Pharmac.* 99, 334-339.
13. Komáromy B. (1973) A magzati szív működés vizsgálata. In: Intenzív szülészoba (Lampé L., ed.), Medicina, Budapest, p. 98.
14. Marvin W.J., Hersmeyer K., McDonald R.I., Roskoski L. and Roskoski R. (1980) Ontogenesis of cholinergic innervation in the rat heart. *Circ. Res.* 46, 690-695.

15. Mendez-Bauer C., Poseiro J.J., Arellano-Hernández G., Zambrana M.A. and Caldeyro-Barcia R. (1963) Effects of atropine on the heart rate of the human fetus during labor. *Am. J. Obstet. Gynec.* 85: 1033-1053.
16. Mirkin B.L. (1973) Drug distribution in pregnancy. In: Fetal Pharmacology (Boréus L., ed.), Raven Press, New York, pp. 1-27.
17. Nedoma J., Slaviková J. and Tucek S. (1986) Muscarinic acetylcholine receptors in the hearts of rats before and after birth *Pflüger's Arch.* 406, 45-50.
18. Németh M. and Papp J.Gy. (1980) Age-dependent changes of muscarinic effects in pre- and postnatal human heart preparations. *Acta physiol. Acad. Sci. hung.* 52, 62.
19. Papp J.Gy. (1973) Hormones, drug-hormone interactions and the electrical activity of the heart. *Proceedings of the Second International Symposium on Pharmacodynamics of Circulation*, Smolenice, p. 32.
20. Papp J.Gy. (1976). Responsiveness of the foetal and adult myocardium to drugs influencing the adenylate cyclase system. In: Symposium on pharmacology of the heart. (Knoll J., gen. ed.), Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 127-140.
21. Papp J.Gy. (1987) Basic heart research relating to the pharmacotherapy of the prenatal cardiac patient. *Cardiologia* 32, 435-437.
22. Papp J.Gy. (1988) Autonomic responses and neurohumoral control in the human early antenatal heart. *Basic.Res.Cardiol.* 83, 2-9.
23. Papp J.Gy. (1990) Cardiac responses to drugs at the extremes of age. *Actual. Pharmacol.* (in press).
24. Papp J.Gy. and Resch B.A. (1974) Development of responsiveness to histamine in foetal and postnatal hearts. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 285, R61.
25. Papp J.Gy. and Resch B.A. (1975) Histaminergic mechanisms in the developing human heart. *Agents and Actions* 5, 462.

26. Papp J.Gy. and Resch B.A. (1986) Emergence of parasympathetic control of sino-atrial automaticity in the human fetal heart. Abstract Book of the 10th World Congress of Cardiology, Washington, p. 148.
27. Papp J.Gy., Szekeres L. and Resch B.A. (1973) Electrical activity and drug sensitivity of early human embryonic hearts. Acta physiol. Acad. Sci. hung. 44, 381.
28. Papp J.Gy. and Vaughan Williams E.M. (1969) The effect of bretylium on intracellular cardiac action potentials in relation to its anti-arrhythmic and local anaesthetic activity. Brit. J. Pharmacol. 37, 380-390.
29. Pappano A.J. (1977) Ontogenetic development of autonomic neuroeffector transmission and transmitter reactivity in embryonic and fetal hearts. Pharm. Rev. 29, 3-33.
30. Pappano A.J. and Löffelholz K. (1974) Ontogenesis of adrenergic and cholinergic neuroeffector transmission in chick embryo heart. J. Pharmacol. Exp. Ther. 191, 468-478.
31. Resch B.A. and Papp J.Gy. (1982) Verfahren zur Bestimmung der mechanischen Aktivität und der elektrophysiologischen Eigenschaften isolierter menschlicher embryonaler Herzen. Zbl. Gynäkol. 104, 1298-1306.
32. Resch B., Papp J.Gy. and Herczeg J. (1978) Die Wirkung von Atropin auf die fetale Herzfrequenz. Zbl. Gynäkol. 100, 496-503.
33. Resch B.A., Papp J.Gy., Szontágh F. and Szekeres L. (1974) Comparison of spontaneous contraction rates of in situ and isolated fetal hearts in early pregnancy. Am. J. Obstet. Gynec. 118, 73-76.
34. Roeske W.R. and Yamamura H.I. (1978) Maturation of mammalian myocardial muscarinic cholinergic receptors. Life Sci. 23, 127-132.
35. Roeske W.R. and Wildenthal K. (1981) Responsiveness to drugs and hormones in the murine model of cardiac ontogenesis. Pharmac. Ther. 14, 55-66.



36. Schifferli P.Y., Caldeyro-Baarcia R. (1973) Effects of atropine and beta-adrenergic drugs on the heart rate of the human fetus. In: Fetal Pharmacology (Boréus L., ed.), Raven Press, New York, pp. 259-279.
37. Sissmann N.J. (1970) Developmental landmarks in cardiac morphogenesis: comparative chronology. *Am. J. Cardiol.* 25, 141-148.
38. Smith R.B. (1970) The development of the intrinsic innervation of the human heart between the 10 and 70 mm stages. *J. Anat.* 107, 270-279.
39. Sperelakis N. and Pappano A.J. (1983) Physiology and pharmacology of developing heart cells. *Pharmac. Ther.* 22, 1-39.
40. Walker D. (1975) Functional development of the autonomic innervation of the human fetal heart. *Biol. Neonate* 25, 31-43.
41. Walls E.W. (1947) The development of the autonomic innervation of the human fetal heart. *Biol. Neonate* 25, 31-43.
42. Ward R.M., Singh S. and Mirkin B.L. (1980) Fetal clinical pharmacology. In: Drug Treatment (Avery G.S., ed.) Adis Press, Sydney and New York, p. 76.
43. Wildenthal K. (1973) Maturation of responsiveness to cardioactive drugs. Differential effects of acetylcholine, norepinephrine, theophylline, tyramine, glucagon and dibutyryl cyclic AMP on atrial rate in hearts of fetal mice. *J. Clin. Invest.* 52, 2250-2258.
44. Wollemann M. and Papp J.Gy. (1979) Blockade by cimetidine of the effects of histamine on adenylate cyclase activity, spontaneous rate and contractility in the developing prenatal heart. *Agents and Actions* 9, 29-30.



# KOLINERG-NORADRENERG KÖLCSÖNHATÁS SZÍVEN: IZOMRELAXÁNSOK HATÁSA

VIZI E. SZ., TÖRŐCSIK A., OBERFRANK F., DÓDA M.

MTA Kísérletes Orvostudományi Kutató Intézete, Budapest

Bár a membránstabilizáló izomrelaxánsok előtérben álló farmakológiai hatása az acetilkolin neuromusculáris hatásainak antagonizálása, más kolinerg receptorokat is gátolhatnak (BROWN és CROUT, 1970; HUGHES és CHAPPLE, 1976; LEE SON és WAUD, 1977; MUSCHOLL, 1980).

A membránstabilizáló izomrelaxánsok ismert tachycardizáló mellékhatása több tényezőnek tudható be. Ismert e szerek vagolítikus hatása (BONTA és mtsai, 1968; LEE SON és WAUD, 1980), indirekt szimpatikus hatása (BROWN és CROUT, 1970, COLEMAN és mtsai, 1972; DOMENECH és mtsai, 1976) valamint a noradrenalin neuronális újrafelvételét gátló hatásuk (IVANOVICS és mtsai, 1975; BOWMAN, 1982).

Fenti tényezők közül leglényegesebbnek a vagolítikus hatást tartották. A membránstabilizáló izomrelaxánsok a nikotin receptor bénító hatáson kívül a szívizom muszkarin receptorait is antagonizálják, ez lehet felelős a vagolítikus hatásért. Úgy tűnik azonban, hogy a vagus bénítás mechanizmusa bonyolultabb, nem pusztán a pitvari pacemakeren elhelyezkedő muszkarin receptorok bénítása okozza. LEE SON és WAUD (1978) kimutatták, hogy a muszkarin receptorok gátlásához szükséges koncentráció magasabb, mint amely kimutatható vagolízist okoz, és te-

rápiás alkalmazás során pedig valószínűleg ennél is nagyságrendekkel alacsonyabb koncentrációt érnek el a drogok a szívizomban.

Mivel béta-blokkolókkal vagy kémiai szimpatektómiával (rezerpinnel) a tachycardia kivédhető volt, feltételezték, hogy a neuromuszkuláris bénítók szimpatikus izgalom által okoznak tachycardiát. A plazma katekolamin koncentrációjának emelkedése valóban kimutatható volt az alkalmazásuk során. A felszabaduló adrenalin és noradrenalin feltételezhetően szimpatikus idegvégződésekből származott.

Mindmáig azonban nem vizsgálták meg annak a lehetőségét, hogy az izomrelaxánsok tachycardizáló hatásában szerepe lenne a szívet beidegző rostokon kifejtett, az ott található, preszinaptikus, receptorokra kifejtett, vagyis a neurotranszmitter felszabadulást befolyásoló hatásuknak is. Jól ismert azonban, hogy a szívizmot beidegző szimpatikus rostokból a noradrenalin felszabadulást tónusosan gátolja a vagus rostjaiból felszabaduló acetylcholin (MUSCHOLL, 1980), preszinaptikus muszkarin receptorok ingerlése révén. Megalapozott azonban az a feltételezés, hogy a muszkarin receptor bénító hatással is rendelkező membránstabilizáló izomrelaxánsok, a noradrenalin felszabadulását szabályozó muszkarin hetero-receptorokat is gátolni képesek, és így a "gátlástalanítás" jól ismert mechanizmusával serkentik a szívben a noradrenalin felszabadulást.

A tachycardizáló mellékhatás mechanizmusának feltárása fontos klinikai konzekvenciákkal járhat. Műtéti nar-kózis során gyakran használnak izomrelaxánsokat, melyeknek tachycardizáló mellékhatása nem kívánatos, és szívbetegeken műtéti szövődményekhez vezethet. Ezért vállalkoztunk arra, hogy a neuromuszkuláris blokkolók tachycardi-

záló mellékhatásának háttérében álló neurokémiai folyamatokat elemezzük, hogy feltárjuk a szívet beidegző szimpatikus és paraszimpatikus rostok között létrejövő preszinaptikus kölcsönhatások jelentőségét a tachycardia kialakulása során.

Kísérleti modellnek az izolált tengerimalac jobb szívpitvar preparátumot választottuk, amely az emberi szívhez hasonlóan el van látva mind szimpatikus-, mind vagus beidegzéssel. E preparátum szimpatikus posztganglionáris rostjaiból *in vitro* radioizotópos módszerrel mérhető a noradrenalin felszabadulás. A rostok végkészülékekben akkumulálják a tríciummal jelzett noradrenalint, majd elektromos tér-ingerlést alkalmazva szcintillációs spektrometriával mérhető a rostokból felszabadult noradrenalint jelző radioaktivitás. Az elektromos téringerlésre jellemző, hogy amennyiben igen rövid ingerszélességgel végezzük (1 ms) depolarizálja a sejttest és az idegnyúlványok sejtmembránját, tovaterjedő akciós potenciált vált ki. Nem képes azonban depolarizálni a végkészülékek sejtmembránját, így azok az axon felől, a fiziológias úton kerülnek ingerületbe. A sejttesten és az axonon tehát a minden vagy semmi jellegű, nem modulálható akciós potenciált váltunk ki, a végkészüléken azonban lehetőség nyílik a végigfutó elektromos szignál transzmitter felszabadulást előidéző hatásának preszinaptikus receptorokon történő modulációjára.

A vizsgálati módszerünk kifejlesztése és beállítása során (FÖLDES és mtsai, 1983) elektrokémiai detektálással végrehajtott magas nyomású folyadékkromatográfiás eljárással is meghatároztuk a pitvarpreparátumból felszabaduló noradrenalin mennyiségét, és megállapítottuk, hogy az elektromos tér-ingerlésre felszabaduló trícium több, mint 90%-a noradrenalin molekulákat jelöl, és csak elhanyagol-

ható hányada felel meg a noradrenalin metabolitjainak.

Ismert, hogy az acetilkolin muszkarin receptorok ingerlésével bradikardiát okoz a szíven. A bradikardizáló hatás mechanizmusában a pitvari autonóm ingerképző sejteken levő posztszinaptikus és a noradrenerg szimpatikus végkészülékeken jelenlevő preszinaptikus muszkarin receptorok ingerlése játszhat szerepet. Első eredményeink (KOBAYASHI és mtsai, 1987) direkt neurokémiai bizonyítékokat szolgáltatottak, hogy a szívet beidegző vagus rostokból felszabaduló acetilkolin preszinaptikus muszkarin receptorok ingerlésével gátolja a szimpatikus rostokból a noradrenalin felszabadulását. A kémiailag stabil, M2 szelektivitással rendelkező muszkarin receptor agonista oxotremorin gátolta az izolált tengerimalac jobb pitvari preparátumból a tríciált noradrenalin felszabadulását, és ez a hatása atropinnal antagonizálható volt. Atropin önmagában is fokozta a noradrenalin felszabadulását. Az általunk vizsgált izomrelaxánsok közül a gallamin és pancuronium az atropinhoz hasonlóan, kivédte az oxotremorin noradrenalin felszabadulást gátló hatását. Más izomrelaxánsok, így pl. a d-tubocurarin és a vencuronium nem befolyásolták az oxotremorin preszinaptikus hatását.

A szívfrekvenciát a vegetatív idegrendszer szimpatikus és paraszimpatikus része egyaránt szabályozza: a kolinerg vagus beidegzés lassítja, míg a noradrenerg szimpatikus idegek gyorsítják a frekvenciát. A felszabaduló acetilkolin direkt posztszinaptikus hatásán kívül befolyásolja a noradrenalin felszabadulását is: preszinaptikus muszkarin receptorokon keresztül gátolja azt. Eképpen az acetilkolin mind preszinaptikus, mind posztszinaptikus hatásával csökkenti a szívfrekvenciát. Az acetilkolin és a noradrenalin között fenálló preszinaptikus kölcsönhatás sokkal gazdaságosabb antagonizmust

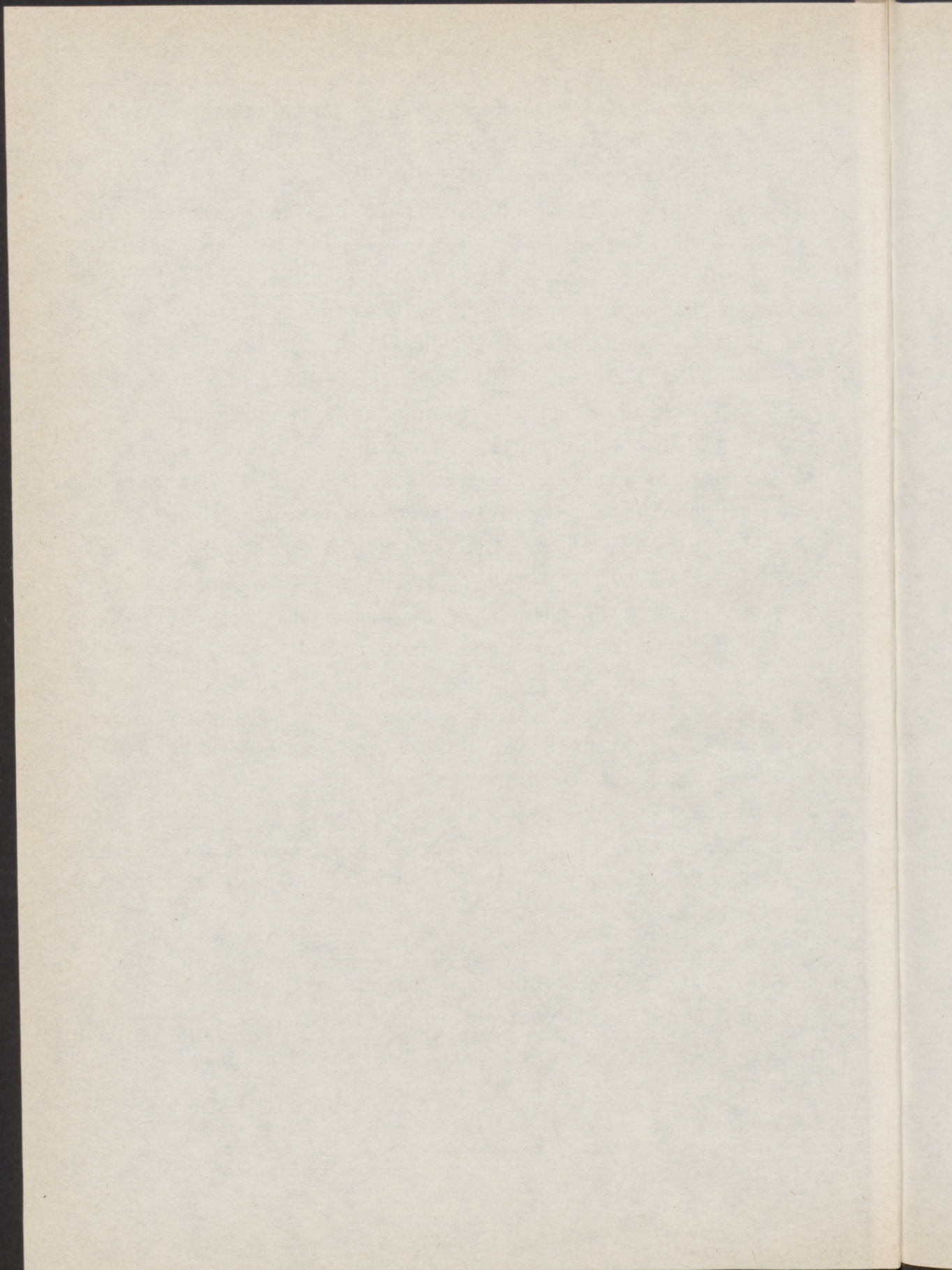
tesz lehetővé, mint amelyet a posztszinaptikus receptorhatások kölcsönös közömbösítése okoz. Fontos, megválaszolható kérdés volt, hogy vajon ez a preszinaptikus kölcsönhatás fiziológias körülmények között is működik vagy a preszinaptikus muszkarin receptorok jelenléte a szimpatikus végkészülékeken csupán a farmakológiai gátlás lehetőségét teremti-e meg. Kísérleteinkben kimutattuk (FÖLDES és mtsai, 1988), hogy atropin önmagában, külsőleg alkalmazott muszkarin agonista nélkül is fokozza a szívpitvar szimpatikus rostjaiból a noradrenalin felszabadulását. Feltételezhető tehát, hogy a vagus végkészülékeiből a szimpatikus rostok szomszédságában felszabaduló acetilkolin preszinaptikus receptorok által folyamatos, tónusos gátló hatást fejt ki a szimpatikus idegvégződésekre, és muszkarin receptor antagonisták felszabadítják a szimpatikus végkészülékeket e gátló hatás alól, felfüggesztik az endogén kolinerg gátlást, így fokozzák a noradrenalin felszabadulását. A muszkarin receptor bénítók tehát tachycardizáló hatásukat az endogén acetilkolin pre- és posztszinaptikus hatásainak felfüggesztésével érik el: gátolják az acetilkolin hatását a pitvari autonóm ingerképző sejteken levő posztszinaptikus receptorokon, és serkentik a tachycardizáló noradrenalin felszabadulását. Az általunk vizsgált izomrelaxánsok közül a gallamin és a pancuronium atropinhoz hasonlóan önmagukban is fokozták a noradrenalin felszabadulását, így sokkal feltételezhető, hogy tachycardizáló mellékhatásukat legalábbis részben a preszinaptikus úton idézik elő.

IRODALOM

- BONTA I.L., GOORISSEN E.M., DERKS F.H. (1968) Pharmacological interaction between pancuronium bromide and anesthetics.  
Eur. J. Pharmacol. 4, 83-90
- BOWMAN W.C. (1982) Non-relaxant properties of neuromuscular blocking drugs.  
Br. J. Anaesth. 54, 147-158
- BROWN B.R.Jr., CROUT J.R. (1970) The sympathomimetic effect of gallamine on the heart.  
J. Pharmacol. Exp. Ther. 172, 266-273
- COLEMAN A.J., DOWNING J.W., LEARY W.P., MOYES D.G., STYLES M. (1972) The immediate cardiovascular effects of pancuronium, alcuronium and tubocurarine in man.  
Anesthesia 27, 415-422
- DOMENECK J.S., GARCIA R.C., SAIN J.M.R. (1976) Pancuronium bromide: an direct sympathetic agent.  
Br. J. Anaesth. 48, 1143-1148
- FÖLDES F.F., KOBAYASHI O., KINJO M., HÁRSING L.G.Jr., NAGASHIMA H., DUCALF D., GOLDINER P.L., VIZI E.S. (1988) Presynaptic effect of muscle relaxants on the release of 3H-norepinephrine controlled by endogenous acetylcholine in guinea-pig atrium.  
J. Neural Transmission 76, 169-180
- FÖLDES F.F., NAGASHIMA H., BOROS M., TASSONYI E., FITZAL S., AGOSTON S. (1983) Muscular relaxation with atracurium, vecuronium and duador under balanced anaesthesia.  
Br. J. Anaesth. 55, 97S-103S



- HUGHES R., CHAPPLE D.J. (1976) Effect of non-depolarizing neuromuscular blocking agents on peripheral autonomic mechanisms in cats.  
Br. J. Anaesthesiol. 18, 59-67
- IVANCOVICH A.D., MILETICH D.J., ALBRECHT R.F., ZAHED B. (1975) The effect of pancuronium on myocardial contraction and catecholamine metabolism.  
J. Pharm. Pharmac. 27, 837-841
- KOBAYASHI O., NAGASHIMA H., DUNCALF D., CHAUDHRY I.A., HÁRSING L.G. Jr., FÖLDES F.F., GOLDINER P.L., VIZI E.S. (1987) Direct evidence that pancuronium and gallamine enhance the release of norepinephrine from the atrial sympathetic nerve by inhibiting prejunctional muscarinic receptors.  
J. Autonomic Nerv. System 18, 55-60
- LEE SON S., WAUD B.E. (1977) Potencies of neuromuscular blocking agents at the receptors of the atrial pacemaker and the motor endplate of the guinea pig.  
Anesthesiology 47, 34-36
- LEE SON S., WAUD D.R. (1978) A vagolytic action of neuromuscular blocking agents at the pacemaker of the isolated guinea pig atrium.  
Anesthesiology 48, 191-194
- LEE SON S., WAUD B.E. (1980) Effects of non depolarizing blocking agents on the cardiac vagus nerve in the guinea-pig.  
Br. J. Anaesthesiol. 52, 981-986
- MUSCHOLL E. (1980) Peripheral muscarinic control of norepinephrine release in the cardiovascular system.  
Am. J. Physiol. 239, H713-H720



# VAN-E A NÁTRIUMKONDUKTANCIÁNAK ENDOGEN HUMORÁLIS SZABÁLYOZÁSA A SZÍVIZOMSEJTEKBEN?

KELEMEN KÁROLY és MARKÓ RAISZA

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézete, Budapest

A szivizom munkavégző sejtjeinek akciós potenciálja alakjában jellegzetes módon eltér az egyéb ingerlékeny sejtek akciós potenciáljától, amennyiben a depolarizációs fázis (az akciós potenciál felszálló szára) és a repolarizáció között egy meglehetősen hosszú plató-fázis jelenik meg. Ennek a sajátos morfológiai differenciának egyéb tényezők mellett alapvetően az a magyarázata, hogy az idegsejtekkel és a harántcsikolt izomsejtekkel ellentétben a miokardiális sejtek depolarizációjában a nátriumkonduktancia változásai mellett a kalciumkonduktancia változásai is fontos szerepet játszanak.

A szivizomsejtek akciós potenciáljának depolarizációs sebességét döntően a nátriumkonduktancia változásai, míg az "overshoot" amplitudóját (az akciós potenciálnak az izoelektromos vonalhoz képest pozitív szakaszát) és a plató-fázist alapvetően a kalciumkonduktancia változásai szabják

meg. E konduktanciaváltozásoknak megfelelően idő- és membránpotenciál-függő tranziens, befelé irányuló ionáramok indulnak meg, melyek voltage-clamp módszerrel (a membránfeszültség átmeneti állandó szintentartásával) jól mérhetők és elemezhetők (Coraboeuf, 1978).

A ma használatos, klinikailag hatékony antiaritmiás gyógyszerek többsége ezeknek a membrán depolarizációjáért (vagyis a szivizomsejt nyugalmi állapotból ingerületbe jutásáért) felelős ionkonduktancia mechanizmusoknak a gátlása útján fejti ki hatását, akár közvetlenül, mint a nátrium-antagonisták vagy kalcium-antagonisták, akár közvetve, mint az adrenerg béta receptorbénító vegyületek (Hondeghem és Katzung, 1984).

Az érintett fiziológiai mechanizmusok felderítését, valamint az ezeket befolyásoló antiaritmiás szerek előállítását és experimentális farmakológiai elemzését nagymértékben elősegítette a specifikus "csatorna-gátlók" alkalmazása, mint a tetrodotoxin (Narahashi és mtsai, 1964), mely a szivizommembrán nátriumkonduktanciáját is képes szelektíven gátolni (Dudel és mtsai, 1967), illetve a kalciumkonduktivitást a különböző kétértékű ionoknál (mangán, kobalt, nikkell, lantán: Rougier és mtsai, 1969; Bernard és mtsai, 1974) egyértelműbben és szelektívebben gátló kalciumantagonisták, elsősorban a D-600 jelű vegyület (gallopamil) (Kohlhardt és mtsai, 1972; Nawrath és mtsai, 1977).

A szív befelé irányuló, "depolarizáló" ionáramait nemcsak gátolni, hanem serkenteni is lehet. Ez egyrészt jól felhasználható a gyakorlatban az antiaritmiás szerek hatásmódjának vizsgálatában, a nátrium- illetve kalciumáramot gátló vegyületek preklínai

elkülönítésében (Kelemen és Markó, 1985), másrészt felveti azt a kérdést is, hogy az egyes mechanizmusok stimulálására használt, és a többnyire izolált preparátumokhoz hozzáadott endogén anyagok hatásai mennyire tekinthetők nemcsak farmakológiai, hanem a szervezeten belül is érvényesülő fiziológiai, regulációs effektusoknak.

### A kalciumkonduktancia endogén serkentő anyagai

A lassú befelé irányuló áram létezését a szívben elsőként Reuter (1967) igazolta. Ezt az áramot alapvetően kalciumionok szállítják (Reuter és Scholz, 1977; Coraboeuf, 1978).

Ezt az áramot, illetve az alapját képező kalciumkonduktanciát a katecholaminok serkentik. Ezt a serkentő hatást béka- és emlősszívkészítményeken egyaránt igazolták az adrenalinra (Kass és Tsien 1976; Kelemen és mtsai, 1968; Vassort és mtsai, 1969), a noradrenalinra (Reuter, 1974) és a dopaminra (Gelles és Aronson, 1977; Markó, 1983). A katecholaminok a lassú áram amplitudóját az adrenerg béta receptorok izgatása útján, a csatorna szelektivitásának és az áram megfordulási potenciáljának befolyásolása nélkül növelik, hatásukat a béta-receptor gátlók felfüggesztik, az alfa-receptor bénítók nem befolyásolják. A katecholaminok fiziológiai szerepe a szivizom kalciumkonduktanciájának szabályozásában általánosan elfogadott.

Ismeretes, hogy a külső káliumkoncentráció emelésével (20-25 mmol/l) depolarizált és ingerelhetetlenné tett szíven a katecholaminokhoz hasonlóan hisztaminnal is ki lehet váltani kizárólag

kálcium-mechanizmus útján létrejövő ún. "lassú akciós potenciálokat" (Houki, 1973; Kecskeméti, 1981). Voltage clamp módszerrel sikerült kimutatni, hogy a hisztamin a békaszív szinoatriális rostjain a katecholaminokhoz hasonlóan növeli a lassu befelé irányuló áram amplitudóját (Markó, 1983). Ezeket a hatásokat hisztamin  $H_1$  receptorbénítók felfüggesztik,  $H_2$  receptorbénítók és adrenerg béta-adrenerg blokkoló szerek nem befolyásolják. Ugyanakkor a hisztaminnak a szív kontraktilias működésére kifejtett hatását másoknak hisztamin  $H_2$  receptorbénítőkkel sikerült felfüggeszteni (Bertaccini és Coruzzi, 1981; Papp és Resch, 1975). Endogén hisztaminerg mechanizmusok közreműködése sem zárható ki tehát a szív kálciumkonduktanciájának szabályozásában.

#### A nátriumkonduktancia endogén serkentő anyagai

Azt a tényt, a hogy a nátriumkonduktancia a szívben farmakológiai úton növelhető, elsőként mi mutattuk ki a cellulin, a békabőrből Knoll (1965) által előállított pozitív inotrop hatású anyag példáján (Kelemen és mtsai, 1972). A cellulin-A egyaránt növeli a szivizomsejtek akciós potenciáljának depolarizációs sebességét és overshootját, valamint a befelé irányuló áram gyors (nátrium) és lassú (kálcium) komponensét (Kelemen, 1981). Szelektív antagonisták és a "cellulin-anyagcsere" ismeretének hiányában azonban e rendkívül érdekes anyag feltételezhető endogén regulációs szerepét csak további kutatások igazolhatják.

A cellulinkutatások nyomán kezdtük el a prostaglandinok szívhatásainak vizsgálatát. Míg a "primer" prostaglandinok ( $PGE_1$ ,  $PGE_2$ ,  $PGF_{2\alpha}$ ) az

akciós potenciál maximális depolarizációs sebességét az alkalmazott koncentráció függvényében szignifikánsan növelték (alacsony koncentrációk), illetve gátolták (magas koncentrációk) (Kecskeméti és mtsai, 1973; Kelemen és mtsai, 1980), addig a prosztaciklin ( $\text{PGI}_2$ ) minden alkalmazott koncentrációban következetes és a koncentráció emelésével egy bizonyos határig növekedő serkentő hatást gyakorolt mind az akciós potenciál depolarizációs sebességére (Kecskeméti és mtsai, 1980), mind a voltage clamp módszerrel mért nátriumáram amplitudójára (Markó és mtsai, 1982). A prosztaciklin hatékony koncentrációi érintetlenül hagyják a gyors Nátrium inaktivációs folyamatát és nem befolyásolják sem a befelé irányuló kalciumáramot, sem a kifelé irányuló bruttó káliumáramot (Markó, 1983).

Noha ezek az adatok egyértelműen igazolják a prosztaciklin következetes, erőteljes és szelektív serkentő hatását a szivizomsejtek nátriumkonduktanciájára, önmagukban még nem bizonyítják a prosztaglandin-rendszer endogén regulációs szerepét a sziv elektrogenézisében. Ciklooxygenáz gátlók (pl. indometacin) önmagukban nem okoznak a prosztaciklinnel ellentétes hatást, azaz nem csökkentik a nátriumáram amplitudóját. Ez látszólag az endogén prosztaglandinok szabályozó szerepe ellen szól, figyelemreméltó azonban, hogy a prosztaglandinszintézis gátlásával nagyon kevés prosztaglandin-függőnek tartott élettani folyamatot lehet látványosan megváltoztatni és a szalicilátok tömeges fogyasztása sem okozott egy évszázad során olyan klinikai effektusokat, amelyeket egy univerzális regulációs szisztéma kikapcsolásától várhatnánk.

A kérdést egy másik oldalról sikerült megközelítenünk. Ismert, hogy a paracetamol az endogén prosztaglandinszintézis serkentésével gátolja a szalicilátok ulcerogén hatását (Seegers és mtsai, 1979). Szokásos kísérleti feltételeink mellett 6.6  $\mu\text{mol/l}$  paracetamol mind fiziológiás ionmilióben, mind kálciummentes oldatban 0.27  $\mu\text{mol/l}$  prosztaciklinnel azonos mértékben növelte a befelé irányuló gyors nátrium áramot a békaszív szinoatriális rostjaiban, és a paracetamolnak ezt a hatását 2.0  $\mu\text{mol/l}$  indometacin (mely a prosztaciklin hatását nem befolyásolja) tökéletesen meg lehetett gátolni (Kelemen és Markó, 1988).

Knoll és mtsai (1987), valamint Gyires és mtsai (1989) leírták, hogy a gyulladásgátló és fájdalomcsillapító hatású homopirimidazolok preventíven adva meggátolják a szalicilátok, az indometacin, és az etilalkohol ulcerogén hatását. Feltételezve, hogy a homopirimidazolok a paracetamolhoz hasonló módon hatnak, megvizsgáltuk egyik képviselőjük, a rimazolium (Probon<sup>R</sup>) hatását. A rimazolium a paracetamollal azonos hatást fejtett ki a békaszív szinoatriális rostjainak voltage clamp módszerrel mért ionáramaira. A rimazolium 30  $\mu\text{mol/l}$  koncentrációban fejtett ki 0.27  $\mu\text{mol/l}$  prosztaciklinnel azonos serkentő hatást a befelé irányuló ionáram gyors nátrium komponensére, mind normális ionösszetételű, mind kálciummentes oldatban, a kálciumáram és a kifelé irányuló ionáramok befolyásolása nélkül. Indometacin (2.0  $\mu\text{mol/l}$ ), a paracetamoléhoz hasonlóan, a rimazolium serkentő hatását is felfüggesztette (Kelemen és Markó, 1990).

Ugy látszik tehát, hogy egyrészt mind a paracetamol, mind a rimazolium fokozza az endogén



prostaglandin termelődést a szívben, másrészt a prostaglandinok serkentő hatása a szívizomsejtek befelé irányuló ionáramának gyors Na-komponensére nem csak farmakológiai effektusként érvényesül, hanem a fokozott szöveti prostaglandin szintézis is azonos következményekkel jár.

#### IRODALOM

- Bernard C., Sassine A., Gargouil Y.-M.(1974) Actions of Ca, Sr, and Ba ions on the electrical properties of cardiac membrane. Bioelectrochem. Bioenergetics, 1,200-207
- Bertaccini G., Coruzzi G.(1981) Effect of some new histamine H<sub>2</sub> receptor antagonists on the guinea pig papillary muscle. Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.,317,225-227
- Coraboeuf E.(1978) Ionic basis of electrical activity in cardiac tissues. Am.J.Physiol.,234,101-116
- Dudel J., Peper K., Rudel R., Trautwein W.(1967) The effect of tetrodotoxin on the membrane current in cardiac muscle. Pfluegers Arch.ges.Physiol.,295,213-226
- Gelles J.M., Aronson R.S.(1977) Voltage clamp analysis of the effects of dopamine on the transmembrane ionic currents underlying the action potential of sheep cardiac Purkinje fibers. Circulation Res., 40,561-566
- Gyires K., Hermez I., Knoll J.(1989) The effect of some anti-ulcer agents on the early vascular injury of gastric mucosa induced by ethanol in rats. Acta Physiol.Hung.,73,149-154
- Houki S.(1973) Restoration effects of histamine on action potential in potassium-depolarized guinea pig papillary muscle. Arch.Int. Pharmacodyn.,206,113-116
- Hondeghem L.M., Katzung B.G.(1984) Antiarrhythmic agents: Modulated receptor mechanism of action of sodium and calcium channel-blocking drugs. Ann.Rev.Pharmacol.Toxicol.,24,387-420

- Kass R., S., Tsien R.W. (1976) Control of action potential duration by calcium ions in cardiac Purkinje fibers. *J. Gen. Physiol.*, 67, 599-617
- Kecskeméti V. (1981) Effects of  $H_1$  and  $H_2$  receptor antagonists on calcium-dependent action potential produced by histamine in rabbit left auricle depolarized by potassium. *Agents and Actions*, 11, 114-116
- Kecskeméti V., Kelemen K., Knoll J. (1973) Effect of prostaglandin  $E_1$  on the cardiac transmembrane potentials. *Eur. J. Pharmacol.*, 24, 289-295
- Kecskeméti V., Kelemen K., Knoll J. (1980) Effect of primary prostaglandins and prostacyclin on cardiac transmembrane potentials. In: *Prostanoids*. pp. 81-88, Akad. Kiadó-Pergamon Press, Budapest.
- Kelemen K. (1981) A hypothetical functional model of the cardiac cell membrane. *Trends in Pharmacol. Sci.*, 2, 101-104
- Kelemen K., Kecskeméti V., Scultéty L., Friedmann T. (1968) Activity index of frog heart ventricle cells. Analysis of the correlation between resting potential and activity of the sodium carrier system in the frog heart by means of cellulose and adrenaline. *Acta Physiol. Hung.* 33, 269-284
- Kelemen K., Kecskeméti V., Knoll J. (1972) Cellulin-A hatása a szívizomsejtek "gyors" és "lassú" nátrium-csatornájára. *Orvostudomány*, 23, 375-389
- Kelemen K., Markó R. (1985) The voltage clamp technique as a tool in the pharmacology of the heart. In: *Neuropharmacology '85* (pp. 277-282). Akad. Kiadó, Budapest.
- Kelemen K., Markó R. (1988) Paracetamol-induced prostaglandin release in the heart. *Pharmacol. Res. Comm.*, 20, Suppl. 1, 97-98
- Kelemen K., Markó R. (1990) Prostaglandin releasing effect of pyrido-pyrimidines in the heart. *Acta Physiol. Hung.* (in press).
- Knoll J. (1965) Cellulin: egy specifikus hatásmódú kardiotonikus hatású szöveti anyag. *I. MTA V. Oszt. Közl.*, 16, 311-329
- Knoll J., Gyires K., Hermez I. (1987) 1-6-dimethyl-4-oxo-1,6,7,8,9,9a-hexahydro-4H-pyrido(1,2-a)-pyrimidine-3-carboximide (CH-127) protects against the intestinal damage in rats caused by indomethacin. *Drugs Exptl. Clin. Res.* 13, 253-258

- Kohlhardt M., Bauer B., Krause H., Fleckenstein A. (1972) Differentiation of the transmembrane Na and Ca channels in mammalian cardiac fibres by the use of specific inhibitors. *Pfluegers Arch.ges. Physiol.*, 335, 309-322
- Markó R. (1983) A szivizomsejtek bemenő áramainak farmakológiai elemzése. Kand.dissz. Budapest
- Markó R., Kelemen K., Kecskeméti V., Knoll J. (1982) Effect of prostacyclin on cardiac transmembrane currents. *Advances in Myocardiology*. Vol.3. pp 107-113. Plenum Publ.Corp. New York.
- Narahashi T., Moore J.W., Scott W.R. (1964) Tetrodotoxin blockage of sodium conductance increase in lobster giant axons. *J.Gen.Physiol.*, 47, 965-974
- Nawrath H., Ten Eick R.E., McDonald T.F., Trautwein W. (1974) On the mechanism underlying the action of D-600 on slow inward current and tension in mammalian myocardium. *Circulation Res.* 40, 408-414
- Papp Gy., Resch B.A. (1975) Histaminergic mechanism in the developing human heart. *Agents and Actions*, 5, 462.
- Reuter H. (1967) The dependence of slow inward current in the Purkinje fibers on the extracellular calcium concentration. *J.Physiol.*, 192, 479-492
- Reuter H. (1974) Localization of beta adrenergic receptors, and effects of noradrenaline and cyclic nucleotides on action potentials, ionic currents and tension in mammalian cardiac muscle. *J.Physiol.*, 242, 429-451
- Reuter H., Scholz H. (1977) The regulation of calcium conductance of cardiac muscle by adrenaline. *J.Physiol.*, 264, 49-62
- Rougier O., Vassort G., Garnier D., Gargouil Y.-M., Coraboeuf E. (1969) Existence and role of a slow inward current during the frog atrial action potential. *Pfluegers Arch.ges. Physiol.* 308, 91-110
- Vassort G., Rougier O., Garnier D., Sauviat M.P., Coraboeuf E., Gargouil Y.-M. (1969) Effect of adrenaline on membrane inward currents during the cardiac action potential. *Pfluegers Arch.*, 309, 70-81

B

b

N

c

i

K

p

l

o

N

t

/

z

N

l

N

é

t

A

# PERIFÉRIÁS NORADRENERG TRANSZMISSZIÓ ÉS A NÁTRIUM-PUMPA

TÖRÖK TAMÁS és MAGYAR KÁLMÁN

SOTE, Gyógyszerhatástani Intézet, 1089 Budapest, Nagyvárad tér 4.

## BEVEZETÉS

Az ideg és izomsejtek membránja polarizált, a membrán belső felszíne negatív a külső felszínhez viszonyítva. Nyugalmi körülmények között az intracelluláris  $\text{Na}^+$ -koncentráció alacsony, a  $\text{K}^+$  pedig magas. Ennek fordítottja igaz az extracelluláris térre. A  $\text{Na}^+$  kihajtása, ill. a  $\text{K}^+$  felvétele energiaigényes folyamat. A jelenség  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -pumpa néven közismert /Ussing, 1949; Hodgkin és Keynes, 1955; Caldwell és Keynes, 1957; Caldwell és mtsai. 1960/.

Schatzmann /1953/ elsőként ismerte fel, hogy a kardi-otónikumok szelektíven gátolják a  $\text{Na}^+$ -pumpát. Később Niedergegerke /1963/, Repke /1964/ és Langer /1971/ feltételezték, hogy a szivizom  $\text{Na}^+$ -grádiensének csökkenése / $\text{Na}^+$ -pumpa gátlás/ fokozza az un. nyugalmi és aktiv izomtónust. Repke /1964/ ugyancsak felismerte, hogy a  $\text{Na}^+$ -pumpa gátlás valamilyen módon növeli az intracelluláris szabad  $\text{Ca}^{2+}$ -szintet.

Az intracelluláris  $\text{Na}^+$  és  $\text{Ca}^{2+}$  közötti kapcsolat a  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -csere, melyet szivizmon /Reuter és Seitz, 1968/ és tintahal óriás axonon /Baker és mtsai., 1969; Blaustein és Hodgkin, 1969/ fedeztek fel.

A  $\text{Na}^+$  elektrokémiai grádiensét a  $\text{Na}^+$ -pumpa hozza létre.

Baker és mtsai. /1969/ elsőként mutatták ki, hogy az intracelluláris  $\text{Na}^+$ -koncentráció emelkedése fokozza a  $\text{Ca}^{2+}$ -belépést a fordított  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -csere révén. Ez különösen szivizomra érvényes, ahol az akciós potenciál plátó fázisa hosszú /Mullins, 1981; Blaustein, 1985/. Repolarizáció során viszont az intracelluláris  $\text{Na}^+$ -koncentráció csökkenésével párhuzamosan helyreálló  $\text{Na}^+$ -grádiens az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentrációt az eredeti szintre csökkenti /normál módon működő  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -csere/. Mivel a  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -csere, csakugy mint a  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -csere elektrogén /Blaustein, 1977; Baker és Di Polo, 1984/, kismértékű  $\text{Na}^+$ -koncentráció emelkedés tetemes  $\text{Ca}^{2+}$ -belépést eredményez szivizmon /Blaustein, 1985/.

#### KÁLCIUM-FÜGGŐ TRANZMITTER FELSZABADULÁS

A  $\text{Ca}^{2+}$  döntő szerepet játszik a neurokémiai transzmisszióban /Katz és Miledi, 1967; Llinás és mtsai., 1976/.

Hodgkin és Keynes /1957/ mutatták ki elsőként, hogy a depolarizáció fokozza a  $\text{Ca}^{2+}$ -belépést.  $\text{Ca}^{2+}$ -érzékeny photoproteint 'aequorin'-t használva Llinás és mtsai. /1972/, valamint Llinás és Nicholson /1975/ összefüggést találtak a depolarizációt követő fény-válasz /'light response'/ és transzmitter felszabadulás között.

A depolarizáció viszont nem feltétlenül szükséges a transzmitter felszabaduláshoz, mivel  $\text{Ca}^{2+}$ -befecskendezése az idegvégződésbe transzmitter felszabadulást eredményez /Miledi, 1973; Baker, 1974/.

A  $\text{Ca}^{2+}$ -belépése tintahal óriás axonba két fázisra bontható /Baker és mtsai., 1971/. Az első /korai/ fázis TTX-el gátolható /Na-csatornán keresztüli  $\text{Ca}^{2+}$ -belépés/ és a késői fázis, mely nem gátolható TTX-el, gátolható

viszont  $Mn^{2+}$ -nal és  $Co^{2+}$ -tal. A depolarizáció során belépő  $Ca^{2+}$  /TTX-érzéketlen fázis/ feszültség-függő Ca-csatornákon keresztül lép be az intracelluláris térbe /Baker és mtsai., 1973a,b/. A  $Ca^{2+}$ -influx ugyanakkor azonban csak átmeneti jellegű és membrán potenciál függő /Baker és mtsai., 1973b/. Maximális 0-mV-nál, de rendkívül kicsivé válik +40 mV-nál.

A  $K^+$ -depolarizáció során a Ca-csatornák először szintén aktiválódnak, majd később inaktiválódnak és aequorint használva egy ún. 'fázisos'-, majd 'tónusos'- fény válasz mérhető /Baker és mtsai., 1973b/. A fázisos komponens megfelel a feszültség-függő Ca-csatornák aktivációjának, a tónusos komponens pedig a fordított  $Na^+/Ca^{2+}$ -cserén keresztüli  $Ca^{2+}$ -belépésnek. Ujabban kimutatták, hogy intracelluláris  $Na^+$ -hiányban a 'fázisos' -komponens eltűnik /Requena, 1983; Mullins és mtsai., 1983; Requena és mtsai., 1985/.

### Szimpatikus idegvégződés

Sziv szimpatikus idegvégződésein az ingerlést követő noradrenalin /NA/ felszabadulás csökkent az extracelluláris  $Ca^{2+}$ -csökkentésére /Hukovicz és Muscholl, 1962/. Később Eccles /1964/, valamint Burn és Gibbons /1965/ posztganglionáris szimpatikus idegrostokon dolgozva kimutatták, hogy a NA-felszabadulás külső  $Ca^{2+}$ -függő. Boullin /1967/ NA-felszabadulást mért macska colon-ból szimpatikus ingerlés hatására és azt találta, hogy a transzmitter felszabadulás teljes mértékben külső  $Ca^{2+}$ -függő.

A fenti eredményeket nyúl pulmonáris artérián Magyar és mtsai. /1986a/, valamint Pauló és mtsai. /1986/ megerősítették, kimutatva, hogy az idegingerlés /2Hz, 360 ütés/ hatására transzmitter felszabadulás nem mérhető, ha

a  $\text{Ca}^{2+}$ -grádiens fordított  $[\text{Ca}^{2+}$ -mentes közeg + 1 mM EGTA/. Ezzel szemben viszont kismértékű extracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -emelésre /2.5 mM-ról 7.5 mM-ra/ a NA felszabadulás nő macskalépből /Kirpekar és Misu, 1967/ és nyul pulmonáris artériából /Török és mtsai., 1987a/.

Másfelől viszont az extracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  tetemes emelése /20 mM/ gátolta az idegingerlésre létrejövő NA-felszabadulást macska lépből /Kirpekar és mtsai., 1972/. Kirpekar és mtsai. /1972/ ugyancsak kimutatták, hogy különböző 'átmeneti fémek' mint pl. a  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  vagy a  $\text{La}^{3+}$ , melyekről ismert, hogy gátolják a Ca-csatornát /Baker és mtsai., 1973a,b/ és a  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -cserét /Baker és mtsai., 1969; Baker és Di Polo, 1984/, gátolják az idegingerlésre felszabaduló NA mennyiségét.

A  $\text{K}^+$ -depolarizáció NA-t felszabadító hatása ugyancsak  $\text{Ca}^{2+}$ -függő /Garcia és Kirpekar, 1973a/ és átmeneti jellegű /Garcia és mtsai., 1976/.

Különböző vegyületek, mint pl. a tetraethylammonium /TEA/ vagy a 4-aminopyridine /4-AP/, melyek megnyújtják az akciós potenciált /Baker és mtsai., 1962/, feltehetően a feszültség-függő és a  $\text{Ca}^{2+}$ -aktiválta K-csatorna gátlása révén /Katz és Miledi, 1969; Meves és Pichon, 1977/ fokozták a  $\text{Ca}^{2+}$ -belépést és a NA-felszabadulást /Kirpekar és mtsai., 1972; Alberts és mtsai., 1981; Török és mtsai., 1984a, 1987a/. A TEA transzmittert felszabadító hatását a  $\text{Ca}^{2+}$ -megvonása a külső közegből felfüggesztette /Wakade és Wakade, 1981/.

Patkány vas deferens preparátumon Cena és mtsai./1985/ a BAY K 8644 hatását vizsgálták  $\text{K}^+$ -depolarizáció és idegingerlés /2Hz/ során. E vegyületről ismert, hogy aktiválja a Ca-csatornát. A BAY K 8644  $10^{-6}$  M/ nem befolyásolta a nyugalmi NA-kiáramlást, jelentősen fokozta viszont mind a  $\text{K}^+$ -ra, mind pedig az elektromos ingerlésre



felszabaduló transzmitter mennyiségét.

#### NÁTRIUM-PUMPA, ÁLTALÁNOS MEGFONTOLÁSOK

1957-ben Skou rák-idegen felfedezte a  $\text{Na}^+$ -pumpa enzimikus alapját a  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -aktiválta ATPáz enzimet. Az enzim minden szövetben megtalálható ahol a  $\text{Na}^+$ -pumpa működik /Skou, 1960, 1965/.

Az enzim / $\text{Na}^+$ -pumpa/ két aktivációs hellyel rendelkezik, ahol a  $\text{Na}^+$ , ill.  $\text{K}^+$  ionok hatnak /Glynn, 1964; Whittam és Ager, 1964; Baker, 1965, 1966; Schwartz és mtsai., 1975; Glynn és Karlish, 1975/.

Az egyik aktivációs hely a membrán belső felszínére lokalizálódik, melyhez a  $\text{Na}^+$  affinitása nagy, a  $\text{K}^+$  affinitása viszont kicsi. A  $\text{Na}^+$  itt aktivál, a  $\text{K}^+$  pedig gátol és a két alkáli fém ion között kompetíció áll fenn.

A másik aktivációs hely a membrán külső felszínén található, ahol a  $\text{K}^+$  aktivál, a  $\text{Na}^+$  pedig gátol és a  $\text{K}^+$ -affinitása jóval nagyobb mint a  $\text{Na}^+$ -é. Itt is kompetíció áll fenn a két fém között.

A külső aktivációs helyen a  $\text{K}^+$  jelenléte elengedhetetlenül szükséges a  $\text{Na}^+$ -pumpa aktivációjához /Kerkut és York, 1971; Thomas, 1972/. Más egyértékű fémek helyettesíteni képesek a  $\text{K}^+$ -ot a  $\text{Na}^+$ -pumpa aktivációjában /Baker és Connelly, 1966; Sjodin és Beaugé, 1968; Rang és Ritchie, 1968; Cavieres és Ellory, 1974/. Ezen kationok hatékonysági sorrendje tinthal axonon a következő:  $\text{Tl}^+ > \text{K}^+ > \text{Rb}^+ > \text{NH}_4^+ > \text{Cs}^+ > \text{Li}^+ > \text{Na}^+$ .

Az intracelluláris  $\text{Na}^+$  pumpát aktiváló hatása a 'belső aktivációs helyen' telithető /Post és mtsai., 1960; Brinley, 1980/. Itt a  $\text{Na}^+$  más fémekkel /mint pl. Li.-mal/ nem helyettesíthető /Keynes és Swan, 1959/.

A  $\text{Na}^+$  aktiváló hatását a  $\text{K}^+$  kompetitív gátolja és a  $\text{Na}^+$ -efflux lineáris jellegű /Baker, 1968; Baker és mtsai.,

1969b; Sjodin és Beaugé, 1967, 1968; Brinley és Mullins, 1968/.

### Kardiotónikumok hatása a Na<sup>+</sup>-pumpára

A Na<sup>+</sup>-pumpa jellegzetessége, hogy specifikusan gátlható kardiotónikumokkal /Baker és Manil, 1968; Baker és mtsai., 1969b; Glynn és Karlish, 1975; Schwartz és mtsai. 1975; Magyar és mtsai., 1986b/.

A kardiotónikumok gátló hatása a sejtmembrán külső fel-  
szinére lokalizálódik /Caldwell és Keynes, 1959; Brinley  
és Mullins, 1968; Baker és mtsai., 1969b/.

Az extracelluláris K<sup>+</sup>-megvonása - a kardiotónikumokhoz  
hasonlóan - gátlja a Na<sup>+</sup>-pumpát /Baker és mtsai.,  
1969b; Blaustein, 1974/, melynek oka az aktiváló kation  
megvonásában keresendő /Glitsch és mtsai., 1978/.

Tintahal óriás axonon az extracelluláris K<sup>+</sup> emelése  
gátolta az ouabain kötődését/hatását a Na<sup>+</sup>-pumpára /Ba-  
ker és Manil, 1968; Baker és Willis, 1970, 1972/. A kar-  
diotónikumok pumpát gátló hatása külső Na<sup>+</sup>-függő, ugyan-  
is Na<sup>+</sup>-mentes közegben az ouabain kötődése a membránhoz  
csökken /Baker és Willis, 1972/, kivéve, ha a Na<sup>+</sup>-ot  
Li<sup>+</sup>-mal helyettesítették /Beaugé, 1984/.

### NÁTRIUM-PUMPA ÉS TRANSZMITTER FELSZABADULÁS

Macska lépen  $10^{-7}$ - $10^{-4}$  M ouabain fokozta a NA-felsza-  
badulást /Garcia és Kirpekar, 1973b/. Ca<sup>2+</sup>-megvonása a  
külső közegből /EGTA nem volt jelen az oldatban/ részben  
gátolta az ouabain hatását. Külső Ca<sup>2+</sup> /25 mM/ viszont  
potencirozta azt. K<sup>+</sup>-megvonására az ouabain hatása nőtt,  
mely a Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> -kompetícióra utal.

Patkány iriszen Vizi /1977/, valamint Reading és Isbir  
/1980/ K<sup>+</sup>-megvonásra mérték a NA-felszabadulást. K<sup>+</sup>-men-  
tes közegben a NA-felszabadulás nőtt, K<sup>+</sup> /5.9 mM/ visz-

szadaására pedig hirtelen csökkent. Reading és Isbir /1980/ ugyancsak kimutatták, hogy a  $K^+$ -visszaadására a  $Ca^{2+}$ -pumpa aktivitása jelentősen nőtt, mely megmagyarázható a  $K^+$  fordított  $Na^+/Ca^{2+}$ -cserét aktiváló hatásával.

Nyul pulmonáris artérián Vizi és mtsai. /1984/ összefüggést találtak a  $Na^+$ -pumpa reaktivációját  $K^+$ -visszaadása a külső közegbe/ követő NA-felszabadulás gátlása és az azt megelőző  $Na^+$ -terhelés  $K^+$ -mentes perfúzió/ időtartama között. A NA-felszabadulás csökkenése egyenes arányban állt a  $Na^+$ -pumpa gátlásának időtartamával. Nakazato és mtsai. /1978/ tengeri malac vas deferens preparátumot használtak az ouabain  $10^{-4}M$ / NA-t felszabadító hatásának vizsgálatára. A NA-felszabadulás mintegy 20 percnyi késés után jelentkezett, és kb. 40-60 perc után érte el maximumát. Ezt követően fokozatosan csökkent, annak ellenére, hogy az ouabain jelen volt az oldatban.

Nyul pulmonáris artérián Török és mtsai. /1984b/ az ouabain  $10^{-4}M$ / hatására hasonló kezdeti késést és átmeneti hatást mértek. Szemben az ouabainnal,  $K^+$ -megvonásra azonnali NA-felszabadulás jött létre.

Tengeri malac vas deferens preparátumon az ouabain NA-t felszabadító hatása külső  $Ca^{2+}$ -függőnek bizonyult /Nakazato és mtsai., 1978/.  $Ca^{2+}$ -visszaadására /60 perces ouabain terhelés után/ a NA-felszabadulás jelentősen nőtt, a maximális hatás 20 percen belül jelentkezett. A NA-felszabadulás mértéke egyenes arányban állt a visszaadott  $Ca^{2+}$ -mennyiségével. Ezek az eredmények a fordított  $Na^+/Ca^{2+}$ -csere aktivációjára utalnak. A fenti szerzők ugyancsak kimutatták, hogy az ouabain hatása extracelluláris  $Na^+$ -függő, mely a  $Na^+$ -függő kötődést támogatja.

A  $Ca^{2+}$ -visszaadása előtt 20 perccel alkalmazott TTX gá-

tolta az ouabain-hatását /Nakazato és mtsai., 1980/, mely egy feszültség-függő komponensre utal. Más alkáli földfémek / $\text{Sr}^{2+}$  és  $\text{Ba}^{2+}$ / helyettesíteni tudták a  $\text{Ca}^{2+}$ -ot a NA-felszabadulásban. A  $\text{La}^{3+}$  viszont gátolta a visszadott  $\text{Ca}^{2+}$  NA-t felszabadító hatását.

Szinaptoszóma preparátumon az ouabain NA-felszabadulást hozott létre, gátolta a  $^{42}\text{K}$ -felvételt és csökkentette a szinaptoszómák  $\text{K}^+$ -tartalmát /Blaustein és Goldring, 1975/. Ezek a hatások  $\text{K}^+$ -mentes közegben kifejezettebbek voltak, alátámasztva a  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -kompetíciót. Ouabain hatására az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentráció nőtt /Nachshen, 1985/. Az ouabain gátolta viszont a külső  $\text{K}^+$   $^{45}\text{Ca}$ -felvételt fokozó hatását /Blaustein, 1975/.

Nyul pulmonáris artérián Török és mtsai. /1982/ vizsgálták a vanadát / $\text{V}^{5+}$ / NA-t felszabadító hatását. Ismert, hogy a  $\text{V}^{5+}$  gátolja a  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -aktiválta ATPázt /Beaugé és Glynn, 1978; Cantley és mtsai., 1978/ és az extracelluláris  $\text{K}^+$ -függő  $\text{Na}^+$ -efflux-ot /Beaugé és Di Polo, 1979/. A  $\text{V}^{5+}$  szintén gátolja a  $\text{Ca}^{2+}$ -pumpát /Di Polo és Beaugé, 1981; Baker és Singh, 1981/, mely effektus a membrán belső felszínére lokalizálódik. A  $\text{V}^{5+}$   $\text{Na}^+$ / $\text{Ca}^{2+}$ -cserére gyakorolt hatása preparátum függő. Kacsa-kagyló izomroston gátló hatással rendelkezik /Nelson és Blaustein, 1981/ tintahal axonon viszont nincs hatással rá /Di Polo és mtsai., 1979/.

Pulmonáris artérián a  $\text{V}^{5+}$  koncentráció-függően potencirozta az ideg ingerlés /2Hz/ NA-t felszabadító hatását /Török és mtsai., 1982/. Ezt a hatást a preszinaptikus  $\alpha_2$ -receptorok aktivációja / $10^{-6}$  M l-NA/ felfüggesztette. A preferenciális  $\alpha_2$ -receptor antagonistá yohimbin / $3 \times 10^{-7}$  M/ viszont antagonizálta az l-NA gátló hatását. A  $\text{Na}^+$ -pumpa gátlása / $\text{K}^+$ -mentes közeg/ fokozta a NA-felszabadulást, melyet a  $\text{V}^{5+}$  nem fokozott tovább.

## Extracelluláris $\text{Ca}^{2+}$ -független transzmitter felszabadulás: az intracelluláris Ca-raktárak szerepe

A  $\text{Na}^+$ -pumpa gátlására létrejövő transzmitter felszabadulás csak részben extracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -függő /Paton és mtsai., 1971; Vizi, 1972, 1977; Baker és Crawford, 1975; Schoffemeer és Mulder, 1983; Török és mtsai., 1984b, 1987b; Magyar és mtsai., 1987; Török, 1989/, mely az intracellulárisan megemelkedett  $\text{Na}^+$  raktárakból való  $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadító hatásával hozható összefüggésbe /Baker és Crawford, 1975; Carafoli és Crompton, 1978; Baker és Di Polo, 1984; Török, 1989/.

A transzmitter felszabadulás fordított  $\text{Ca}^{2+}$ -grádiens alatt valóban nő olyan kísérleti körülmények között, melyekről ismert, hogy fokozzák az intracelluláris  $\text{Na}^+$ -koncentrációt, mint pl. nagyfrekvenciás ingerlés /Baker és Crawford, 1975; Alnaes és Rahamimoff, 1975; Erulkar és Rahamimoff, 1978/, vagy veratrin/veratridin alkalmazása /Szerb, 1979; Schoffemeer és Mulder, 1983; Török és mtsai, 1984b, 1987b/.

Sandoval /1981/ fordított  $\text{Ca}^{2+}$ -grádiens alatt kimutatta, hogy a kardiotoxikumok  $\text{Na}^+$ -mentes közegben nem okoznak transzmitter felszabadulást, mely szintén megerősíti az intracelluláris  $\text{Na}^+$   $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadító hatását intracelluláris raktárakból. Az intracelluláris raktárak a mitokondrium és a sima endoplazmatikus retikulum /Baker, 1976; Baker és Di Polo, 1984; Blaustein, 1979; Blaustein és mtsai., 1980; Brinley, 1980; Carafoli, 1984/.

$\text{Ca}^{2+}$ -mentes közegben Palaty /1981/ jelentős NA-felszabadulást mért patkány-farok artériából  $\text{Na}^+$ -pumpa gátlás / $\text{K}^+$ -mentes közeg + 1 mM ouabain/ hatására. Patkány agyszeleten az ouabain [ $10^{-4}$ M] ugyancsak jelentős NA-felszabadulást hozott létre  $\text{Ca}^{2+}$ -mentes [+ 1 mM EGTA] közegben /Schoffemeer és Mulder, 1983/. Veratrin

hatására a NA-felszabadulás ugyancsak nőtt fordított  $\text{Ca}^{2+}$ -grádiens alatt. A veratrinról ismert, hogy aktiválja a feszültség-függő /TTX-el gátolható/ Na-csatornákat és ezáltal fokozza az intracelluláris  $\text{Na}^+$ -koncentrációt. Nyul pulmonáris artérián a NA-felszabadulás szintén nő ouabain / $10^{-4}\text{M}$ /, ill.  $\text{K}^+$ -megvonás hatására fordított  $\text{Ca}^{2+}$ -grádiens alatt is /Török és mtsai., 1984b/. Mindkét esetben a transzmitter felszabadulás egy un. 'kezdeti késés' után jelentkezett, jelezve, hogy egy bizonyos mértékű  $\text{Na}^+$ -felhalmozódás szükséges a raktárakból való  $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadulás kiváltásához. A fenti szerzők kimutatták továbbá, hogy az ouabain transzmittert felszabadító hatása függ az intracelluláris raktárakban maradt Ca mennyiségétől. Ugyanis veratridin / $10^{-4}\text{M}$ / perfuziója után - mely jelentős NA-felszabadulást okozott - az ouabain hatástalan volt. A veratridin hatásának részleges gátlása TTX-el / $3 \times 10^{-7}\text{M}$ / visszaállította az ouabain NA-t felszabadító hatását. Az ouabain / $10^{-4}\text{M}$ / fordított  $\text{Ca}^{2+}$ -grádiens alatt szintén hatástalan, ha a Ca-raktárakat  $\text{Na}^+$ -megvonással / $\text{K}^+$ -helyettesítés/ előzetesen kiüritjük /Török és Magyar, 1986/.

A  $\text{Na}^+$ -pumpa reaktivációja / $\text{K}^+$ -visszaadása a külső közegbe/ fordított  $\text{Ca}^{2+}$ -grádiens alatt is megszünteti a transzmitter felszabadulást /Baker és Crawford, 1975; Török és mtsai., 1987b; Magyar és mtsai., 1987/. Veratrin / $10^{-4}\text{ g/ml}$ / jelenlétében visszaadott  $\text{K}^+$  azonban átmenetileg fokozta a NA-felszabadulást /Török és mtsai., 1987b/. Ilyenkor ugyanis a reaktivált  $\text{Na}^+$ -pumpa nem képes helyreállítani a  $\text{Na}^+$ -grádiens, mivel veratrin jelenlétében az intracelluláris  $\text{Na}^+$ -koncentráció magas marad. Egy további kísérletsorozatban Török és mtsai. /1987b/ a  $\text{Na}^+$ -pumpát a mitokondriális légzésgát-

ló carbonyl-cyanide-chlorophenyl-hydrizon /CCCP,  $10^{-5}$ M/ és a  $\text{Ca}^{2+}$ -ionofór A-23187 / $3 \times 10^{-6}$ M/ jelenlétében reaktíváltak. Az A-23187-ről ismert, hogy preferenciálisan a sima endoplazmatikus retikulumba lokalizálódó Ca-ot szabadítja fel /Blaustein és mtsai., 1980/. Ezek a kísérletek szintén  $\text{Ca}^{2+}$  és  $\text{K}^{+}$ -mentes közegben történtek, a plazma membrán  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ -cseréjének kizárására, ill.  $\text{Na}^{+}$ -terhelés elérésére. CCCP + A-23187 tovább fokozta a NA-felszabadulást  $\text{K}^{+}$ -mentes közegben.  $\text{K}^{+}$ -visszaadására viszont a NA-felszabadulás szignifikánsan csökkent annak ellenére, hogy a fenti két vegyület jelen volt a perfúziós oldatban. Ennek valószínű magyarázata az, hogy a reaktívált  $\text{Na}^{+}$ -pumpa visszaállítja mind a plazma membrán, mind pedig a Ca-raktárak membránjának  $\text{Na}^{+}$ -grádiensét, mely lecsökkenti az intracelluláris szabad  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentrációt.

#### IRODALOM

- Alberts, P., Bártfai, T. and Stjärne, L. /1981/ J. Physiol., Lond. 312, 297-334
- Alnaes, E. and Rahamimoff, R. /1975/ J. Physiol. Lond., 248, 285-306
- Baker, P.F. /1965/ J. Physiol. Lond., 180, 383-423
- Baker, P.F. /1966/ Endeavour 25, 166-172
- Baker, P.F. /1968/ J. gen. Physiol. 51, /suppl./ 172-179
- Baker, P.F. /1974/ In: Recent Advances in Physiology, Vol. 9, pp. 51-86. Ed. R.J. Linden. Churchill Livingstone: London
- Baker, P.F. /1976/ Fedn. Proc. 35, 2589-2595
- Baker, P.F., Blaustein, M.P., Hodgkin, A.L. and Steinhardt, R.A. /1969/ J. Physiol. Lond., 200, 421-458
- Baker, P.F., Blaustein, M.P., Keynes, R.D., Manil, J., Shaw, T.I. and Steinhardt, R.A. /1969b/ J. Physiol. Lond., 200, 459-496

- Baker, P.F. and Connelly, C.M. /1966/ J. Physiol. Lond., 185, 270-297
- Baker, P.F. and Crawford, A.C. /1975/ J. Physiol. Lond., 247, 209-226
- Baker, P.F. and Di Polo, R. /1984/ Curr. Top. Membr. Transp. 22, 195-247
- Baker, P.F., Hodgkin, A.L. and Ridgway, E.B. /1971/ J. Physiol. Lond., 218, 709-755
- Baker, P.F., Hodgkin, A.L. and Shaw, T.I. /1962/ J. Physiol., Lond., 164, 335-374
- Baker, P.F. and Manil, J. /1968/ Biochem. biophys. Acta 150, 328-330
- Baker, P.F., Meves, H. and Ridgway, E.B. /1973a/ J. Physiol. Lond., 231, 511-526
- Baker, P.F., Meves, H. and Ridgway, E.B. /1973b/ J. Physiol. Lond., 231, 527-548
- Baker, P.F. and Singh, R. /1981/ Biochem. biophys. Acta 646, 450-456
- Baker, P.F. and Willis, J.S. /1970/ Nature 226, 521-523
- Baker, P.F. and Willis, J.S. /1972/ J. Physiol. Lond., 224, 463-475
- Beaugé, L.A. /1984/ Curr. Top. Membr. Transp. 22, 131-175
- Beaugé, L.A. and Di Polo, R. /1979/ Biochem. biophys. Acta 551, 220-223
- Beaugé, L.A. and Glynn, I.M. /1978/ Nature 272, 551-552
- Blaustein, M.P. /1974/ Rev. Physiol. biochem. Pharmacol. 70, 33-81
- Blaustein, M.P. /1975/ J. Physiol. Lond., 247, 617-655
- Blaustein, M.P. /1977/ Biophys. J. 20, 79-111
- Blaustein, M.P. /1979/ In: The Release of Catecholamines from Adrenergic Neurons, pp. 39-58. Ed. D.M. Paton. Pergamon: Oxford
- Blaustein, M.P. /1985/ Trends Pharmacol. Sci. 6, 289-292
- Blaustein, M.P. and Goldring, J.M. /1975/ J. Physiol. Lond., 247, 589-615



- Blaustein, M.P. and Hodgkin, A.L. /1969/ J. Physiol. Lond., 200, 497-527
- Blaustein, M.P., Mc Graw, C.F., Somlyo, A.V. and Schweitzer, E.S. /1980/ J. Physiol. Paris, 76, 459-470
- Boullin, D.J. /1967/ J. Physiol. Lond., 189, 85-99
- Brinley, F.J., J.r. /1980/ Fedn. Proc. 39, 2778-2782
- Brinley, F.J., J.r. and Mullins, L.J. /1971/ J. gen. Physiol. 52, 181-211
- Burn, J.H. and Gibbons, W.R. /1965/ J. Physiol. Lond., 181, 214-223
- Caldwell, P.C. and Keynes, R.D. /1957/ J. Physiol. Lond., 137, 12P
- Caldwell, P.C. and Keynes, R.D. /1959/ J. Physiol. Lond., 148, 8P
- Caldwell, P.C., Hodgkin, A.L., Keynes, R.D. and Shaw, T. I. /1960/ J. Physiol. Lond., 152, 561-590
- Cantley, L.C., J.r., Cantley, L.G. and Josephson, L. /1978/ J. biol. Chem. 253, 7361-7368
- Carafoli, E. /1984/ In: Mechanisms of Intestinal Electrolyte Transport and Regulation by Calcium, pp. 121-134. Alan R. Liss., Inc: New York
- Carafoli, E. and Crompton, M. /1978/ Curr. Top. Membr. Transp. 10, 151-216
- Cavieres, J.D. and Ellory, J.C. /1974/ J. Physiol. Lond. 242, 243-266
- Cena, V., Garcia, A.G., Khoyi, M.A., Salaices, M. and Sanchez-Garcia, P. /1985/ Br. J. Pharmacol. 85, 691-696
- Di Polo, R. and Beaugé, L.A. /1981/ Biochem. biophys. Acta 645, 229-236
- Di Polo, R., Rojas, H.R. and Beaugé, L.A. /1979/ Nature 281, 228-229
- Eccles, J.C. /1964/ The Physiology of Synapses, p. 61 Academic Press: New York.
- Erulkar, S.D. and Rahamimoff, R. /1978/ J. Physiol. Lond., 278, 501-511
- Garcia, A.G. and Kirpekar, S.M. /1973a/ J. Physiol. Lond., 235, 693-713
- Garcia, A.G. and Kirpekar, S.M. /1973b/ Br. J. Pharmac. 47, 729-747

- Garcia, A.G., Kirpekar, S.M. and Sanchez-Garcia, P.  
/1976/ J. Physiol. Lond., 261, 301-317
- Glitsch, H.G., Grabowski, W. and Thiehen, J. /1978/  
J. Physiol. Lond., 276, 515-524
- Glynn, I.M. /1964/ Pharmacol. Rev. 16, 381-407
- Glynn, I.M. and Karlsh, S.J.D. /1975/ Ann. Rev. Physi-  
ol. 37, 13-55
- Hodgkin, A.L. and Keynes, R.D. /1955/ J. Physiol. Lond.,  
128, 28-60
- Hodgkin, A.L. and Keynes, R.D. /1957/ J. Physiol. Lond.,  
131, 28-60
- Hukovic, S. and Muscholl, E. /1962/ Naunyn-Schmiedeberg'  
s Arch. Exp. Path. Pharmac. 244, 81-96
- Katz, B. and Miledi, R. /1967/ J. Physiol. Lond., 192,  
407-436
- Katz, B. and Miledi, R. /1969/ J. Physiol. Lond., 203,  
459-487
- Kerkut, G.A. and York, B. /1971/ The Electrogenic Sodi-  
um Pump. Scientifica: Bristol.
- Keynes, R.D. and Swan, R.C. /1959/ J. Physiol. Lond.,  
147, 626-638
- Kirpekar, S.M. and Misu, Y. /1967/ J. Physiol. Lond.,  
188, 219-234
- Kirpekar, S.M., Prat, J.C., Puig, M. and Wakade, A.R.  
/1972/ J. Physiol. Lond., 221, 601-615
- Langer, G.A. /1971/ New Engl. J. Med. 285, 1065-1071
- Llinás, R. and Nicholson, C. /1975/ Proc. natn. Acad.  
Sci. U.S.A. 72, 187-190
- Llinás, R., Blinks, J.R. and Nicholson, C. /1972/  
Science N.Y. 176, 1127-1129
- Llinás, R., Steinberg, I.Z. and Walton, K. /1976/ Proc.  
natn. Acad. Sci. U.S.A. 73, 2918-2922
- Magyar, K., Fekete, M.I.K., Tekes, K. and Török, T.L.  
/1986a/ Eur. J. Pharmac. 130, 219-227
- Magyar, K., Nguyen, T.T., Török, T.L. and Tóth, P.T.  
/1986b/ Br. J. Pharmac. 87, 63-71
- Magyar, K., Nguyen, T.T., Török, T.L. and Tóth, P.T.  
/1987/ J. Physiol. Lond., 393, 29-42

- Meves, H. and Pichon, Y. /1977/ J. Physiol. Lond., 268, 511-532
- Miledi, R. /1973/ Proc. R. Soc. Lond. B. 183, 421-425
- Mullins, L.J. /1981/ J. Physiol. Paris 77, 1139-1144
- Mullins, L.J., Tiffert, T., Vassort, G. and Whitttembury, J. /1983/ J. Physiol. Lond. 338, 295-319
- Nachshen, D.A. /1985/ J. Physiol. Lond. 363, 87-101
- Nakazato, Y., Ohga, A. and Onoda, Y. /1978/ J. Physiol. Lond., 278, 45-54
- Nakazato, Y., Ito, S. and Ohga, A. /1980/ Eur. J. Pharmac. 68, 327-337
- Nelson, M.T. and Blaustein, M.P. /1981/ Nature 289, 314-316
- Niedergerke, R. /1963/ J. Physiol. Lond., 167, 515-550
- Palaty, V. /1981/ Can. J. Physiol. Pharmac. 59, 347-350
- Paton, W.D.M., Vizi, E.S. and Zar, M.A. /1971/ J. Physiol. Lond., 215, 819-848
- Pauló, T., Tóth, P.T., Nguyen, T.T., Forgács, L., Török, T.L. and Magyar, K. /1986/ J. Pharm. Pharmac. 38, 668-673
- Post, R.L., Merritt, C.R., Kinsolving, C.R. and Albright, C.D. /1960/ J. biol. Chem. 235, 1796-1802
- Rang, H.P. and Ritchie, J.M. /1968/ J. Physiol. Lond., 196, 183-221
- Reading, H.W. and Isbir, T. /1980/ Q. Jl. exp. Physiol. 65, 105-116
- Repke, K. /1964/ Klin. Wochenschrift. 42, 157-162
- Requena, J. /1983/ Ann. Rev. biophys. Bioeng. 12, 237-257
- Requena, J., Whitttembury, J., Tiffert, T., Eisner, D.A. and Mullins, L.J. /1985/ J. gen. Physiol. 85, 789-804
- Reuter, H. and Seitz, N. /1968/ J. Physiol. Lond., 195, 451-470
- Sandoval, M.E. /1981/ In: Regulatory Mechanisms of Synaptic Transmission, pp. 187-203. Eds. R. Tapia and C.W. Cotman. Plenum Press: New York.
- Schatzmann, H.J. /1953/ Helv. Physiol. Pharmacol. Acta 11, 346-354

- Schoffemeer, A.N.M. and Mulder, A.H. /1983/ J. Neurochem. 40, 615-621
- Schwartz, A., Lindenmayer, G.E. and Allen, J.C. /1975/ Pharmac. Rev., 27, 3-134
- Sjodin, R.A. and Beaugé, L.A. /1967/ Curr. Mod. Biol. 1, 105-115
- Sjodin, R.A. and Beaugé, L.A. /1968/ J. gen. Physiol. 52, 389-407
- Skou, J.C. /1957/ Biochem. biophys. Acta 23, 394-401
- Skou, J.C. /1960/ Biochem. biophys. Acta 42, 6-23
- Skou, J.C. /1965/ Physiol. Rev. 45, 596-617
- Szerb, J.C. /1979/ J. Neurochem. 32, 1565-1573
- Török, T.L. /1989/ Prog. Neurobiol. 32, 11-76
- Török, T.L. and Magyar, K. /1986/ Q. Jl. exp. Physiol. 71, 105-114
- Török, T.L., Rubányi, G., Vizi, E.S. and Magyar, K. Eur. J. Pharmac. 84, 93-97
- Török, T.L., Bunyevác, Zs., Nguyen, T.T., Hadházy, P., Magyar, K. and Vizi, E.S. /1984a/ Neuropharmac. 23, 37-41
- Török, T.L., Salamon, Zs., Nguyen, T.T. and Magyar, K. /1984b/ Q. Jl. exp. Physiol. 69, 841-865
- Török, T.L., Pauló, T., Tóth, P.T., Nguyen, T.T., Azzi-dani, A.M. and Magyar, K. /1987a/ J. Pharm. Pharmac. 39, 797-802
- Török, T.L., Tóth, P.T., Rácz, D., Nguyen, T.T., Medhin, D.G., Azzidani, A.M., Fekete, M.I.K. and Magyar, K. /1987b/ Neurochem. Int. 10, 205-211
- Ussing, H.H. /1949/ Physiol. Rev. 29, 127-155
- Vizi, E.S. /1972/ J. Physiol. Lond., 226, 95-117
- Vizi, E.S. /1977/ J. Physiol. Lond., 267, 261-280
- Vizi, E.S., Török, T.L. and Magyar, K. /1984/ J. Neurochem. 42, 670-676
- Wakade, A.R. and Wakade, T.D. /1981/ Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. 316, 237-277
- Whittam, R. and Ager, M.E. /1964/ Biochem. J. 97, 214-227

## A MEMBRÁN KÁLIUM-TRANSZPORT FOLYAMATAINAK SZEREPE AZ ADENOZIN MIOKARDIÁLIS HATÁSAIBAN

SZENTMIKLÓSI A. JÓZSEF, CSEPPENTŐ ÁGNES és KOVÁCS TIBOR\*

Debreceni Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézete és Élettani Intézete\*, Debrecen

Az adenzin jellegzetes elektrofiziológiai hatása, hogy mind tengerimalac ( JOHNSON és McKINNON, 1956 ), mind pedig patkány pitvarizomzaton ( HOLLANDER és WEBB, 1957 ) erősen rövidíti az intracellulárisan regisztrált akciós potenciálok időtartamát. Az adenzinnak ezt a repolarizációs fázist gyorsító effektusát később korrekációs jellegű szívűtététekből származó humán pitvarokon is igazolták ( De GUBAREFF és SLEATOR, 1965 ). A repolarizációs idő megrövidüléséért teoretikusan két alapvető mechanizmus tehető felelőssé: egyrészt a befelé irányuló lassú kálium áram ( "slow inward current" ) csökkenése, másrészt a kifelé irányuló kálium áram(ok) fokozódása. SCHRADER és mtsai ( 1975 ) közölték elsőként, hogy káliummal depolarizált tengerimalac pitvarizomzaton az adenzin erősen gátolja az izoproterenollal kiváltott lassú akciós potenciálok amplitudóját és a felszálló szár meredekségét. Hasonló eredményre jutottak BELARDINELLI és mtsai ( 1979 ) is a patkány pitvarizomzat vonatkozásában. A fenti adatok amellet szólnak, hogy az adenzin gátolja a lassú kálium csatornák funkcionális aktivitását.

Felvetődött, hogy az akciós potenciálok időtartamának megrövidülésében az adenzin esetleges K-permeabilitást fokozó hatása is szerepet játszhat. Ennek a feltételezésnek a létjogosultságát HARTZELL bizonyította 1979-ben, amikor sikerült kísérletesen igazolnia, hogy az adenzin hiperpolarizációt idéz elő és fokozza a kálium konduktanciát béka sinus venosus preparátumokon. A későbbiek során a membránáramok mikroelektrofiziológiai és a K-transzport folyamatok izotóptechnikai elemzésével sikerült kimutatni, hogy az adenzin emlős pitvarizomzaton is erősen fokozza a kifelé irányuló kálium áramot ill. a K-"efflux"szot (SCHMITZ és mtsai, 1982; BELARDINELLI és ISENBERG, 1983; JOCHEM és NAWRATH, 1983; SZENTMIKLÓSI és mtsai, 1983, 1984; BRÜCKNER és mtsai, 1985).

A most ismertetendő kísérleteink során azt vizsgáltuk, hogy 1./ hogyan változik az adenzinnak a  $^{42}\text{K}$ -transzportot aktiváló hatása a koncentráció és az expozíciós idő függvényében, 2./ befolyásolja-e az adenzin a  $^{42}\text{K}$ -"influx"szot ill. a pitvari szövet kálium-tartalmát. Megkíséreltünk speciális farmakológiai módszerekkel adatokat szerezni arra vonatkozóan, hogy a K-transzport folyamatok változása összefüggésben áll-e a pitvari A1 adenzin receptorok aktivációjával, továbbá megpróbáltuk lokalizálni az adenzinnak a K-csatornára kifejtett támadáspontját.

## 1. MÓDSZEREK ÉS ANYAGOK

### 1.1. A SZÍVIZOM $^{42}\text{K}$ -LEADÁSÁNAK VIZSGÁLATA

Tengerimalac bal pitvari preparátumokat speciálisan kiképzett, rozsdamentes acélból készült tartókereten rögzítettük, amely részben az elektromos ingerlést ( 2 Hz, 1 ms, kétszeres küszöbfeszültség ), a preparátumok megfelelő előfeszítését, ill. a tápoldat oxigenizációját (95%  $\text{O}_2$ -5%  $\text{CO}_2$ ) is biztosította. Az izmokat a kimosási kísérletek megkezdése előtt 3 órán keresztül inkubáltuk (37°C) olyan Krebs oldatban, amelyben a KCl egy részét  $^{42}\text{K}$ -al helyettesítettük. Ennek radioaktivitása 0,37 MBq volt. A hiányzó KCl-ot 1 mol/l-es inaktív KCl-ból pótoltuk.

A radioaktív káliummal történt expozíció után az izmokat kiemeltük az aktív Krebs oldatból, majd -a tartókeret segítségével- megfelelő időközönként, előre elkészített ( 5-5 ml inaktív Krebs oldatot, ill. a megfelelő koncentrációjú adenzinnal kiegészített tápoldatot tartalmazó ) kémcsőn vettük végig. A kimosási idők 2-3-5, ill. 10 percig tartottak. Az utolsó csőből való kiemelés után az izmokat levágtuk a tartókeretről, felszínüket óvatosan leitatottuk, majd koncentrált salétromsavval forralva elroncsoltuk a szöveteket. A roncsolatokat inaktív Krebs oldattal egészítettük ki 5 ml-re.

A minták aktivitását tallium-aktivált, üreges NaJ kristályban mértük, a beütésszámot pedig NK-350 típusú (GAMMA) szcintillációs számlálón olvastuk le.

Ezzel az eljárással folyamatosan követtük az inaktív Krebs oldatba leadott aktivitás változását. A mérési eredmények értékelésére először megszerkesztettük az egyes kémcsővekben mért aktivitások és az aktuális gyűjtési idők hányadosait a kimosási idő függvényében ("differential effluent counts"), majd kiszámítottuk a leadás se-

bességi koefficienseit, az ún. "rate constant"-okat. Eből a célból először meghatároztuk az ún. integrált aktivitást, amelyet úgy nyertünk, hogy a kimosási szekven-  
cia végén az izomban visszamaradt aktivitáshoz hozzáadtuk az utolsó csőben mért aktivitást. Az így kapott összeghez hozzáadtuk az utolsó előtti cső aktivitását, majd az azt megelőzőét, és így tovább: azaz fordított sorrendben valamennyi cső aktivitását összegeztük. Ezzel a módszerrel nyertük az ún. "integral counts"-t, amely érték azt jelezte, hogy a kimosás egyes lépéseinek megkezdésekor mennyi volt az izom aktivitása. A sebességi koefficiens-t úgy kaptuk meg, hogy a leadás adott időpontjában a "differential effluent counts" értékét osztottuk az ugyanazon időpontban mért "integral counts" értékével. A sebességi koefficiens dimenziója:  $\text{perc}^{-1}$ , ha a minták aktivitását beütés  $\cdot \text{min}^{-1}$  (cpm)-ben fejeztük ki.

A számításokat PTK-1072 típusú kézi számítógépen végeztük. A számítógép a program alapján kiszámította az egyes csövekben mért aktivitások átlagát (figyelembe véve a háttér aktivitást), az aktivitásokat a bomlási faktor segítségével  $t=0$  időre korigálta, kiszámította továbbá a kísérlet adott időpontjaiban az "integral" és "differential effluent count"-okat és a sebességi hányadosokat. A további részleteket ld. KOVÁCS ( 1973, 1977 ), valamint CALDWELL és KEYNES ( 1969 ) munkáiban.

## 1.2. A SZÍVIZOM $^{42}\text{K}$ -FELVÉTELÉNEK VIZSGÁLATA

A kísérleteket PFLIEGLER és mtsai ( 1980 ) módszerével végeztük. A felvételi idő 20 perc volt és az influx számításánál az ún. "back-flux"-ot korrekcióba vettük. Az adenzin jelen volt a  $^{42}\text{K}$ -felvétel teljes periódusa alatt.



### 1.3. A SZÍVIZOM KÁLIUM-TARTALMÁNAK MEGHATÁROZÁSA

Az elektromosan ingerelt tengerimalac pitvarokat a kísérleti periódus befejezése után szűrőpapírral leitat-  
tuk, majd a nedves súly lemérése után 96°C-on szárító-  
szekrényben súlyállandóságig szárítottuk. A száraz súly  
pontos lemérése után a mintákat 1 ml 30%-os hidrogénper-  
oxidral roncsoltuk ugyancsak 96°C-on szárítószekrényben.  
Ezután a mintákat 2 ml bidesztillált vízzel feloldottuk,  
majd azokból 100-szoros hígításokat készítettünk. A ron-  
csolatok hígításaiból a káliumot 771 nm hullámhosszon  
mértük fotomultiplier detektorral ellátott FLAVOKOL (Zeiss,  
Jena) lángfotométeren. Az izmok kationtartalmát  $\mu\text{Eq/g}$   
száraz súlyra számítottuk át.

### 1.4. AZ EREDMÉNYEK STATISZTIKAI ÉRTÉKELÉSE

A számszerű eredmények közlésekor mindig a számtani  
átlagot és a középérték standard hibáját adtuk meg. Az  
észlelt változások statisztikai szignifikanciáját a pá-  
ros t-próbával vizsgáltuk.

Anyagok: adenzin (Boehringer, Mannheim), ammóniumszul-  
fát (Reanal, Budapest), aminophyllin (Richter,  
Budapest), coformycin (Prof. Umezawa, Microbial  
Chemistry, Tokyo), dipyridamol (Sigma, St. Louis),  
inozin (Boehringer, Mannheim), a  $^{42}\text{K}$ -ot az MTA  
Izotóp Intézetéből szereztük be.

## 2. EREDMÉNYEK

### 2.1. ADENOZIN HATÁSA AZ INGERELT ÉS NYUGALOMBAN LÉVŐ PITVARIZOMZAT $^{42}\text{K}$ -LEADÁSÁRA

Kísérleteinkben az adenzin a tengerimalac pitvari miokardium  $^{42}\text{K}$ -efflux-szát egyértelműen és koncentrációfüggő mértékben fokozta ( I. táblázat ). A hatás az ade-

I. táblázat Adenzin hatása a  $^{42}\text{K}$ -leadás sebességi konstansára elektromosan ingerelt tengerimalac pitvarkészítményeken

Adenzin koncentrációja	n	$^{42}\text{K}$ -leadás sebességi konstansának %-os fokozódása
1 $\mu\text{mol/l}$	4	17,8 $\pm$ 4,1
10 $\mu\text{mol/l}$	10	51,4 $\pm$ 7,2
100 $\mu\text{mol/l}$	9	68,2 $\pm$ 5,5

nozzinnal történt kezelés 2.-5. percében kulminálódott, de a további adenzin expozíciók során fokozatosan csökkent (ld. 1. 2. és 3. ábrákat). Ez a deszenzibilizációs jelenség minden egyes adenzin koncentráció (1  $\mu\text{mol/l}$ -100  $\mu\text{mol/l}$ ) esetében megfigyelhető volt, annak ellenére, hogy a leadatás során az adenzin koncentrációját konstans szinten tartottuk.

Nyugalomban lévő preparátumokon (n=4) az adenzin (100  $\mu\text{mol/l}$ ) az elektromosan ingerelt pitvarkészítményeken tapasztaltakhoz hasonló effektusokat produkált. Jellemző volt az, hogy a  $^{42}\text{K}$ -leadás sebességi koefficiense

mindkét kísérleti feltétel mellett azonos mértékben fokozódott (  $68,2^{+5,5}\%$  ill.  $55,8^{+7,2}\%$ -al).

## 2.2. A $^{42}\text{K}$ -INFLUX VIZSGÁLATA ELEKTROMOSAN HAJTOTT PITVARI MIOKARDIUMON

Elektromosan ingerelt pitvarkészítmények  $^{42}\text{K}$ -felvétele a kezeletlen kontrollokéhoz ( $n=5$ ) képest  $100\ \mu\text{mol/l}$  adenozin jelenlétében ( $n=4$ ) nem változott szignifikánsan. Kontroll körülmények között a pitvari preparátumok  $^{42}\text{K}$ -felvétele  $0,987^{+0,19}\ \text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{perc}$  volt, míg  $100\ \mu\text{mol/l}$  adenozin jelenlétében  $1,075^{+0,22}\ \text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{perc}$ . Ilyen módon a K-transzport vizsgálatánál az adenozinnak a K-felvételre gyakorolt esetleges zavaró hatása minden valószínűség szerint kizárható.

## 2.3. ADENOZIN HATÁSA A PITVARI SZÍVIZOMZAT ÖSSZKÁLIUM TARTALMÁRA

Vizsgáltuk, hogy elektromosan hajtott készítményeken az adenozin befolyásolja-e a pitvari szívizomzat összkálium tartalmát. Mivel előkísérletekben már megállapítottuk, hogy a preparátumokat 5 percenként adenozint tartalmazó tápoldatba helyezve a maximális K-vesztés az inkubáció 10. percében következik be, így ennek az optimális hatásidőnek az ismeretében tanulmányoztuk a hatás koncentrációfüggését.  $1\ \mu\text{mol/l}$  adenozin az összkálium tartalmat még gyakorlatilag nem befolyásolta.  $10\ \mu\text{mol/l}$  adenozin már kismértékű, de még nem szignifikáns K-vesztést eredményezett. A purin nukleozid  $100\ \mu\text{mol/l}$  koncentrációjának jelenlétében a K-tartalom már mintegy 17%-al csökkent a kezeletlen kontrollokéhoz képest ( $p < 0.05$ ) (II. táblázat). A mérések tehát azt igazolják, hogy az adenozinnal történő inkubáció során nettó kálium-vesztéssel is számolnunk kell.

II. táblázat A szöveti kálium-tartalom alakulása az adenozin hatására elektromosan ingerelt tengerimalac pitvarkészítményeken

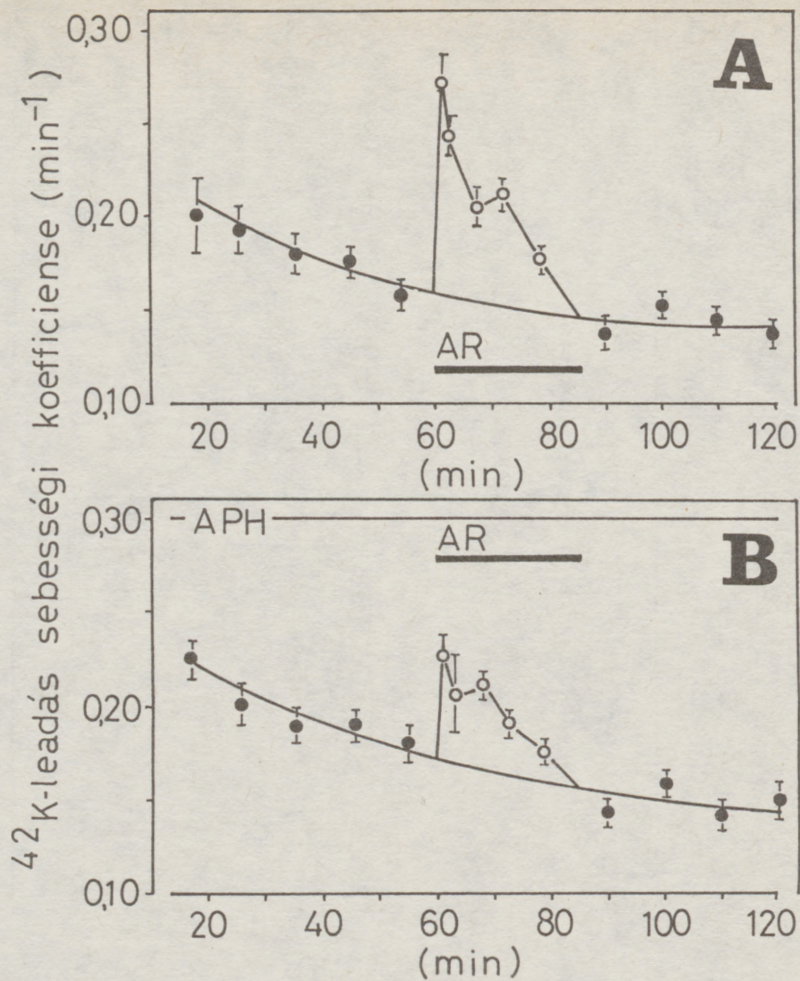
Adenozin koncentrációja	n	A szöveti összkálium-tartalom (uEq/g száraz súly)
0	18	382,4 ± 9,4
1 µmol/l	9	391,5 ± 10,2
10 µmol/l	8	355,7 ± 9,8
100 µmol/l	11	302,2 ± 12,0

2.4. ADENOZIN-RECEPTOR ANTAGONISTA AMINOPHYLLIN HATÁSA AZ ADENOZIN ÁLTAL AKTIVÁLT K-LEADÁSRA

A specifikus P<sub>1</sub> purinerg receptor antagonistá aminophyllin 50 ill 100 µmol/l koncentrációkban alkalmazva dózis-függő módon csökkentette a 100 µmol/l adenozin hatására létrejövő <sup>42</sup>K-kiáramlást. A gátlás mértéke 50 µmol/l aminophyllin jelenlétében 34% (n=3), míg a metilxantin 100 µmol/l koncentrációjával (n=7) történt expozíció esetében 49%-os volt ( 1. ábra ).

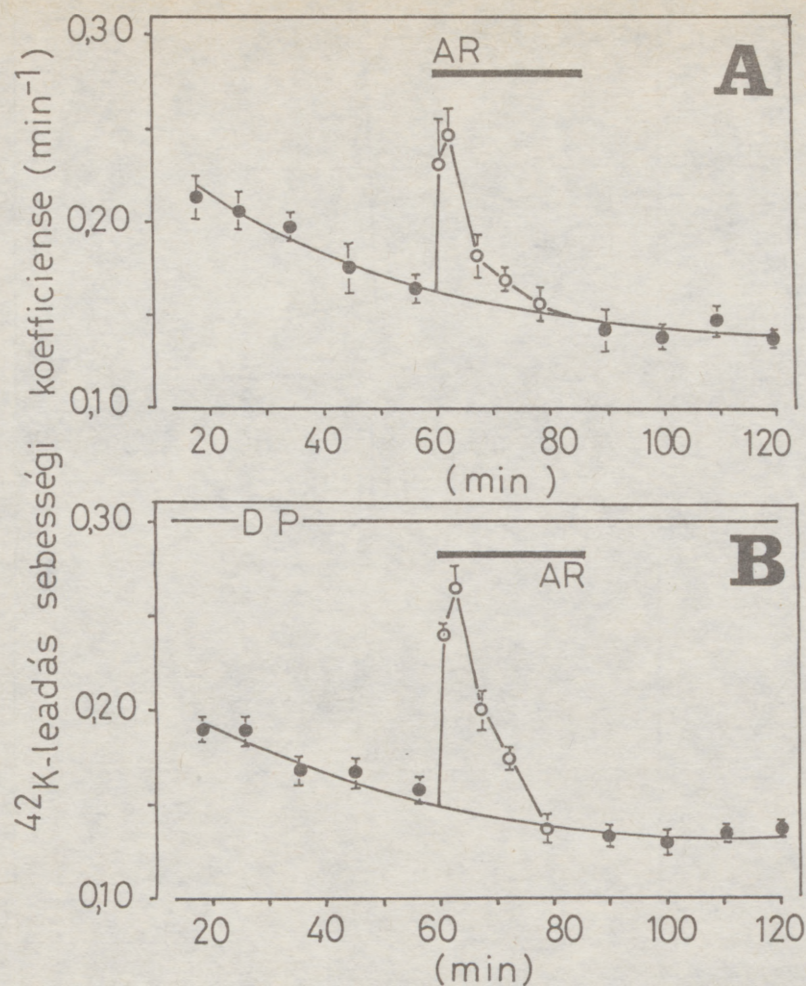
2.5. ADENOZIN HATÁSA A <sup>42</sup>K-LEADÁSRA ADENOZIN-FELVÉTEL GÁTLÓ SZER JELENLÉTÉBEN

10 µmol/l adenozin hatására a pitvari miokardium <sup>42</sup>K-leadásának sebességi koefficiense átlagosan 51,4<sup>+7,2</sup> %-al (n=10) fokozódott. 0,3 µmol/l dipyridamol jelenlétében ( 2. ábra ) ugyanezen koncentrációjú adenozin már 82,4<sup>+5,3</sup> %-os fokozódást idézett elő (n=7; p < 0.05 ).



1. ábra

100  $\mu\text{mol/l}$  adenzin hatása elektromosan ingerelt tengerimalac pitvarizomzat  $^{42}\text{K}$ -leadásának sebességi állandóra kontroll körülmények között (A), ill. 100  $\mu\text{mol/l}$  aminophyllin jelenlétében (B). AR: 100  $\mu\text{mol/l}$  adenzin, APH: 100  $\mu\text{mol/l}$  aminophyllin.



2. ábra

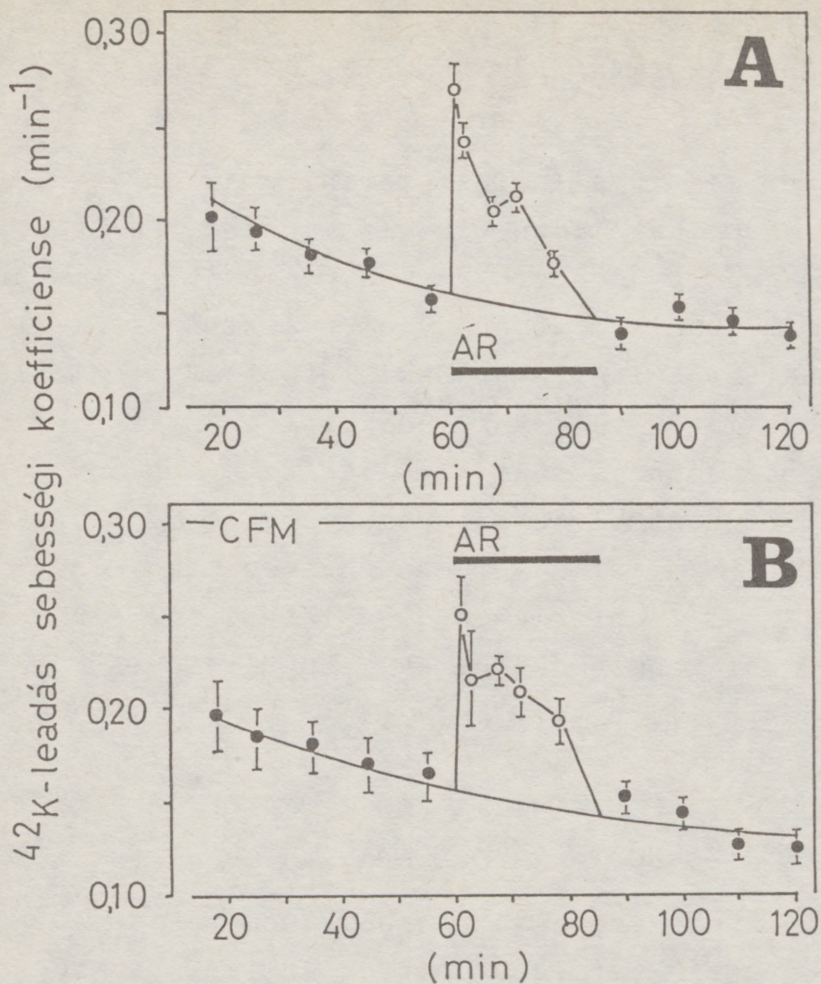
10  $\mu\text{mol/l}$  adenosin hatása elektromosan ingerelt tengerimalac pitvarkészítmények  $^{42}\text{K}$ -leadásának sebességi koefficiensére kontroll körülmények között (A) ill. 0,3  $\mu\text{mol/l}$  dipyridamol jelenlétében (B). AR: 10  $\mu\text{mol/l}$  adenosin, DP: 0,3  $\mu\text{mol/l}$  dipyridamol

## 2.6. AZ INTRACELLULÁRIS ADENOZIN DEZAMINÁZ SPECIFIKUS GÁTLÁSÁNAK HATÁSA AZ ADENOZIN $^{42}\text{K}$ -LEADÁST FOKOZÓ EFFEKTUSÁRA

Korábbi megfigyeléseink szerint a coformycin mint szelektív módon ható adenzin dezamináz gátló szer, első-sorban a magasabb adenzin koncentrációknak a pitvari miokardium mechanikai és elektromos aktivitására kifejtett hatásait erősítette (SZENTMIKLÓSI és mtsai, 1982). Ez a korábbi megfigyelésünk indokolta, hogy az analízis céljára a magasabb (100  $\mu\text{mol/l}$ ) adenzin koncentrációt válasszuk. Ez kontroll körülmények között  $68,2 \pm 5,5\%$ -al ( $n=9$ ) fokozta a  $^{42}\text{K}$ -leadás sebességi koefficiensét (3. ábra). 7  $\mu\text{mol/l}$  coformycin jelenlétében ez a hatás nem erősödött, sőt kismértékben még gyengült is ( $58,6 \pm 9,7\%$ -os fokozódás;  $n=7$ ;  $p > 0.05$ ).

## 2.7. AZ ADENOZIN FIZIOLÓGIÁS BOMLÁSTERMÉKEINEK HATÁSA A PITVARI IZOMRSTOK $^{42}\text{K}$ -LEADÁSÁRA

Teoretikusan szóba jöhet, hogy nemcsak az adenzin, hanem az adenzin természetes bontóenzime, az adenzin dezamináz hatására keletkező bomlástermékek, az inozin és az ammónia is részt vesznek az adenzinnak a K-transzport folyamatkora gyakorolt effektusában. Valóban, 100  $\mu\text{mol/l}$  végkoncentrációban mind az inozin ( $n=5$ ), mind pedig az ammónia ( $n=5$ ) rendelkezett enyhe fokú (19,7 ill. 21,3%-os fokozódás a  $^{42}\text{K}$ -efflux-ban) hatással. Természetesen ezek a hatások elhanyagolhatók az adenzin K-kiáramlást facilitáló aktivitásához viszonyítva, de az adenzin-effektusban való részvételükkel mindenképpen számolnunk kell.



3. ábra

100  $\mu\text{mol/l}$  adenzin effektusa elektromosan hajtott pitvari miokardiumon a  $^{42}\text{K}$ -leadás sebességi állandóra intact (A) ill. 7  $\mu\text{mol/l}$  coformycinnel gátolt adenzin dezamináz aktivitás mellett. AR: 100  $\mu\text{mol/l}$  adenzin, CFM: 7  $\mu\text{mol/l}$  coformycin



### 3. MEGBESZÉLÉS

Az adenzin pitvari miokardiumra kifejtett depresszív hatásának molekuláris alapjaira vonatkozó magyarázatok az intenzív kutatások ellenére sem tekinthetők lezártnak. Ismeretes, hogy pitvarizomzaton az adenzin az A<sub>1</sub> receptorok aktiválásával csökkenti az adenilcikláz működését ( COLLIS, 1983 ), de az adenzin esetében a cAMP szinten bekövetkező változások és a mechanikai aktivitás módosulása között nem mindig egyértelmű a korreláció ( SCHMITZ és mtsai, 1981, 1982; BRÜCKNER és mtsai, 1985 ). Egyre nyilvánvalóbb, hogy a jelenségek hátterében a lassú Ca<sup>2+</sup>-csatornák ill. a K<sup>+</sup>-csatornák funkcionális aktivitásának módosulását kell keresnünk.

Kísérleteink egyértelműen bizonyítják, hogy az adenzin a kálium-felvétel befolyásolása nélkül koncentrációfüggő módon aktiválja pitvari szívizomrostokon a kifelé irányuló kálium transzportot. Ez egyúttal nettó káliumvesztést is eredményez, amit az összkálium tartalom csökkenése jelez. Eredményeink összhangban vannak más szerzők izotópkinetikai, voltage-clamp ill. patch-clamp módszerekkel nyert adataival ( BELARDINELLI és ISENBERG, 1983; JOCHEM és NAWRATH, 1983; ISENBERG és mtsai, 1987 ). Az adenzin hatására a K-kiáramlás nagyon gyorsan aktiválódik, amely tény jó egyezést mutat a kontraktilitásra kifejtett prompt hatással. Meglepő volt számunkra az a jelenség, hogy változatlan külső adenzin koncentráció mellett a K-efflux tekintetében gyors deszenzibilizálódás következik be. Patch-clamp technikával végzett méréseik alapján újabban hasonló megfigyelésekről számoltak be ISENBERG és mtsai ( 1987 ) is, de a jelenségre ők sem tudtak egyértelmű magyarázatot adni. Feltételezzük, hogy az adenzin negatív inotrop hatásában a gyorsan kialakuló

ló és rövid ideig tartó K-permeabilitás fokozódás előidézője lehet az adenzin hatására kialakuló gyors kardio-depresszióknak, míg a negatív inotrop hatás fenntartásában -különösen magasabb adenzin koncentrációk esetében- más mechanizmusok kerülhetnek előtérbe (pl. a lassú  $Ca^{2+}$ -csatornák foszforiláció-függő kapuzó mechanizmusainak gátlása a cAMP szint csökkenése miatt).

Az a tény, hogy az aminophyllin -mint adenzin-antagonista- különböző koncentrációi jelentősen mérséklék az adenzin által aktivált K-kiáramlás fokozódást, arra enged következtetni, hogy az effektus közvetlenül összefügg a K-csatornákkal kapcsolatban lévő A<sub>1</sub> típusú purinerg receptorok izgalmaival. Újabban ugyanis felvetik és nem is alaptalanul, hogy az A<sub>1</sub> receptor aktivációja az ún. N<sub>1</sub>-típusú GTP-kötő fehérjék közreműködésével tevődik át a K-csatornákra ( FREDHOLM és DUNWIDDIE, 1988 ) és ennek a proteinnak pertussis toxinnal történő gátlása megakadályozza nemcsak a K-konduktancia fokozódást ( ISENBERG és mtsai, 1987 ), hanem az adenzin által kiváltott depresszív jellegű mechanikai és elektrofiziológiai hatásokat is ( BÖHM és mtsai, 1986 ).

A celluláris adenzin-felvétel gátló diprydamol az adenzinnak a K-transzportra gyakorolt hatását potenciálta. Mivel ilyen körülmények között az extracelluláris térben erősen fokozódik az adenzin receptorok rendelkezésére álló purin nukleozid mennyiség, ezért az adenzin hatás növekedése annak a bizonyítéka lehet, hogy az effektus elsősorban a membrán külső felszínén elhelyezkedő receptorok izgatásával áll kapcsolatban.

A coformycinről korábban már kimutattuk ( SZENTMIKLÓSI és mtsai, 1982 ), hogy mint az intracellulárisan lokalizálódó adenzin dezamináz enzim specifikus gátlószere, elsősorban a magasabb adenzin koncentrációk kardio-

depresszív hatását erősíti. Jelenlegi kísérleteinkben a 100  $\mu\text{mol/l}$  koncentrációban alkalmazott adenzin K-transzportra gyakorolt hatását a coformycin nem potenciózta, sőt minimális mértékben bár, de csökkentette. Feltételezük, hogy coformycin jelenlétében az adenzin dezamináz gátlása miatt nő az intracelluláris szabad adenzin koncentráció (amely fiziológias körülmények között elhanyagolható), és ez az intracelluláris oldal felől aktivál olyan biokémiai mechanizmusokat, amelyek már nem hozhatók közvetlen kapcsolatba a K-permeabilitás növekedésével. Ezek az adataink összhangban vannak RUBIO és mtsai (1983) korábbi teóriájával. A fenti szerzők a lassú akciós potenciálok viselkedését vizsgálták különböző tagszámú adenzin polimerek alkalmazása során és arra a felismerésre jutottak, hogy az adenzin részben a K-áram fokozásával, részben a lassú  $\text{Ca}^{2+}$ -áram csökkentésével hat, de a K-áram aktivációjáért felelős receptorok extracellulárisan helyezkednek el, míg a Ca-csatorna gátlásáért felelősek intramembránálisan, vagy esetleg a membrán belső felszínén (R. RUBIO: személyes közlés). Mindezek az elképzelések nincsenek ellentmondásban a GTP-kötő protein által mediált ioncsatorna mechanizmusok létezésével sem.

További kérdés, hogy az adenzin milyen típusú kálium csatornát ill. csatornákat aktivál. Kimutatott, hogy a szívizomzat tartalmaz ún. pitvari  $\text{K}^+$ -csatornákat, amelyeket különböző receptorokon keresztül az acetylcholin ill. az adenzin aktivál (ld. COOK, 1988). A jelenleg ismertett kísérleteink alapján nem dönthető el, hogy az adenzin kizárólag ezeket a speciális pitvari K-csatornákat aktiválja, vagy esetleg a feszültség-függő,  $\text{Ca}^{2+}$  ill. ATP-függő K-csatornákat is. Korábbi kísérleteink szerint (SZENTMIKLÓSI és mtsai, 1983) a 4-aminopyridin gátolja a pitvari kontraktilitás adenzin hatására létre-

jövő csökkenését. Ez az adat úgy is értelmezhető, mint funkcionális bizonyíték amellet, hogy a K-csatornák adenosin általi aktivációja valóban szerepet játszik a purin nukleozid jelenlétében létrejövő mechanikai aktivitás csökkenésében.

#### 4. IRODALOM

- BELARDINELLI L., RUBIO R., BERNE R.M. (1979) Blockade of  $Ca^{2+}$  dependent rat atrial slow action potentials by adenosine and lanthanum. Pflügers Arch. 380, 19-27
- BELARDINELLI L., ISENBERG G. (1983) Isolated atrial myocytes: adenosine and acetylcholine increase potassium conductance. Am. J. Physiol. 244, H734-H737
- BÖHM M., BRÜCKNER R., NEUMANN J., SCHMITZ W., SCHOLZ H., STARBATTY J. (1986) Role of guanine nucleotide-binding protein in the regulation by adenosine of cardiac potassium conductance and force of contraction. Evaluation with pertussis toxin. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 332, 403-405
- BRÜCKNER R., FENNER A., MEYER W., NOBIS T.M., SCHMITZ W., SCHOLZ H. (1985) Cardiac effects of adenosine and adenosine analogs in guinea-pig atrial and ventricular preparations. Evidence against a role of cyclic AMP and cyclic GMP. J. Pharmacol. exp. Ther. 234, 766-774
- CALDWELL P.C., KEYNES R.D. (1969) The exchange of  $^{22}Na$  between frog sartorius muscle and the bathing medium. In: Laboratory Techniques in Membrane Biophysics

(Passow H. and Stampfli R., eds.), Springer Verlag,  
Berlin, Heidelberg, New York, pp. 63-68

COLLIS M.G. (1983) Evidence for an  $A_1$ -adenosine receptor  
in the guinea-pig atrium.

Br. J. Pharmacol. 78, 207-212

De GUBAREFF T., SLEATOR W. (1965) Effects of caffeine on  
mammalian atrial muscle and its interaction with  
adenosine and calcium.

J. Pharmacol. exp. Ther. 148, 202-214

FREDHOLM B.B., DUNWIDDIE T.V. (1988) How does adenosine  
inhibit transmitter release ?

TIPS 9, 130-34

HARTZELL H.C. (1979) Adenosine receptors in frog sinus  
venosus: Slow inhibitory potentials produced by  
adenosine compounds and acetylcholine.

J. Physiol. (London) 293, 23-49

HOLLANDER P.B., WEBB J.L. (1957) Effect of adenine nuc-  
leotides on the contractility and membrane poten-  
tials of rat atrium.

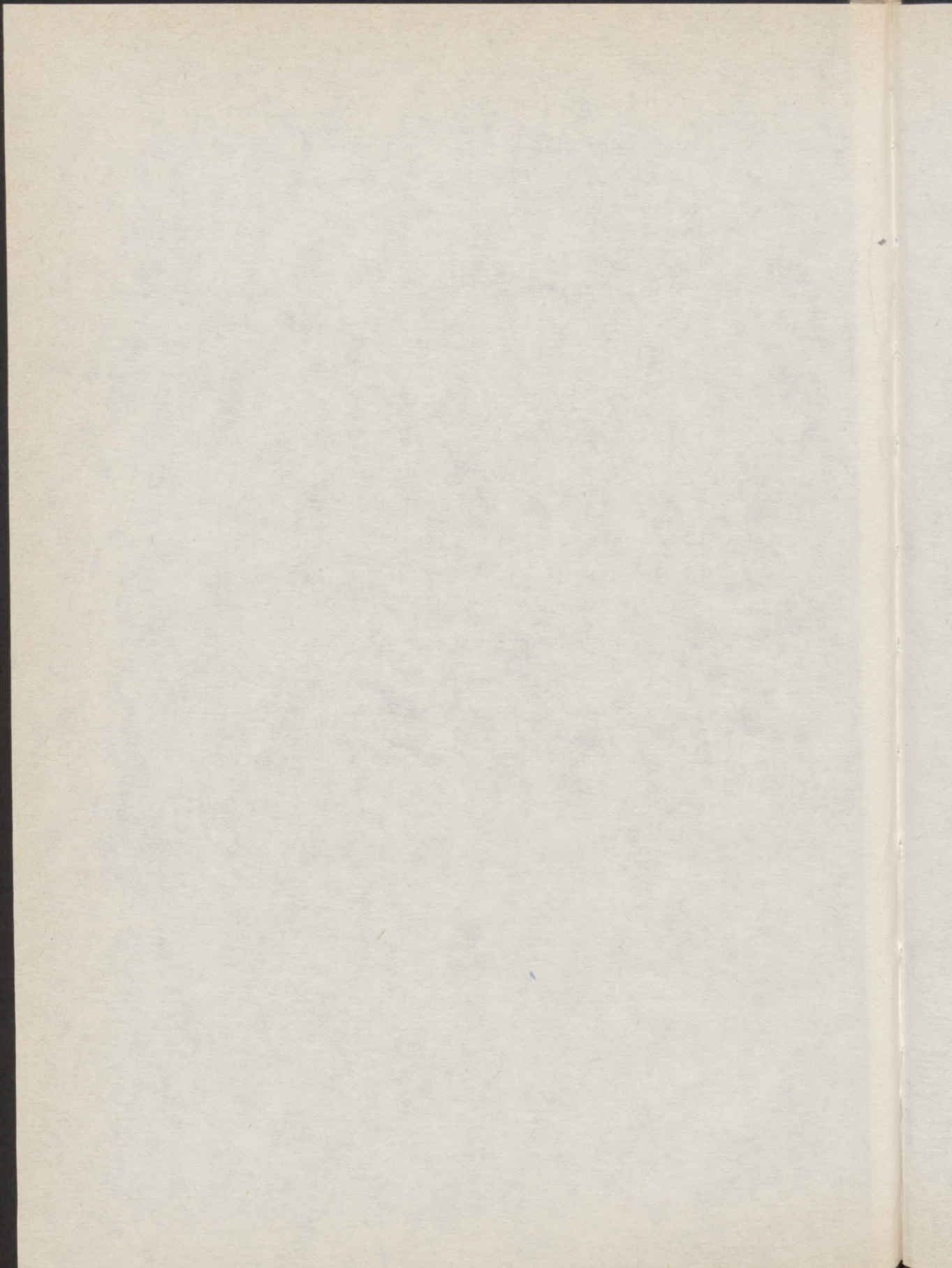
Circulat. Res. 5, 349-353

ISENBERG G., CERBAI E., KLÖCKNER U. (1987) Ionic chan-  
nels and adenosine in isolated hearts cells. In:  
Topics and Perspectives in Adenosine Researc  
(Gerlach E. and Becker B.F., eds.), Springer-Verlag,  
Berlin, pp. 323-335

JOCHEM G., NAWRATH H. (1983) Adenosine activates a potas-  
sium conductance in guinea-pig atrial heart muscle.  
Experientia 39, 1347-1349

- JOHNSON E.A., MCKINNON M.G. (1956) Effect of acetylcholine and adenosine on cardiac cellular potentials. *Nature* 178, 1174-1175
- KOVÁCS T. (1973) Az ingerületvezető membránok iontranszportjának vizsgálata; elméleti és gyakorlati problémák.  
MTA Biol. Oszt. Közl. 16, 341-362
- KOVÁCS T. (1977) A váz- és szívizom kationtranszportját befolyásoló tényezők.  
Doktori értekezés, Debrecen
- PFLIEGLER GY., KOVÁCS T., SZABÓ B. (1980) The inhibitory actions of eserine and ouabain on the K, Rb and Cs uptake in slow and fast twitch muscles of the rat. *Acta Physiol. Hung.* 57, 317-328
- RUBIO R., KNABB M.T., TSUKADA T., BERNE R.M. (1983) Mechanisms of action of adenosine on vascular smooth muscle and cardiac cells. *In: Regulatory Function of Adenosine* (Berne R.M., Rall T.W., Rubio R., eds.), Martinus Nijhoff, Boston, pp. 319-332
- SCHMITZ W., HACKBARTH I., HAUBITZ B., LINHART R., MEYER W., SCHOLZ H. (1981) Effect of adenosine and isoprenaline on force of contraction and on the cAMP system in guinea-pig atria.  
*Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 316, R34
- SCHMITZ W., BRÜCKNER R., HACKBARTH I., MEYER W., SCHOLZ H. (1982) Evidence against a role of cAMP and cGMP in the inotropic effects of adenosine and adenosine analogs in the mammalian heart.  
*Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 321, R40

- SCHRADER J., RUBIO R., BERNE R.M. (1975) Inhibition of slow action potentials of guinea pig atrial muscle by adenosine: a possible effect in  $\text{Ca}^{2+}$ -influx. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 7, 427-433
- SZENTMIKLÓSI A.J., NÉMETH M., CSEPPENTŐ Á., SZEGI J., PAPP J.GY., SZEKERES L. (1982) Potentiation of the myocardial actions of adenosine in the presence of coformycin, a specific inhibitor of adenosine deaminase. *Arch. int. Pharmacodyn.* 256, 236-252
- SZENTMIKLÓSI A.J., KOVÁCS T., CSEPPENTŐ Á., SZEGI J. (1983) On the possible mechanism underlying the inhibitory action of adenosine in atrial myocardium of guinea-pigs. *In: Regulatory Function of Adenosine* (Berne R.M., Rall T.W., Rubio R., eds.), Martinus Nijhoff, Boston, p. 543
- SZENTMIKLÓSI A.J., CSEPPENTŐ Á., KOVÁCS T., SZEGI J. (1984) On the action of adenosine on myocardial potassium transport: A pharmacological analysis. *J. Muscle Res. Cell. Motility* 5, 230





# ENDOGEN OPIOIDOK ÉS A MAGAS VÉRNYOMÁS

FARSANG CSABA

Fővárosi Tétényi Úti Kórház I. sz. Belgyógyászat

Régóta ismert, hogy a morfin csökkenti a vérnyomást (SCHMITT és LIVINGSTON 1933. ). A későbbi kutatások során kiderült, hogy az opiátok és az endogén opioidok komplex módon hozhatnak létre presszor, illetve depresszor jellegű változásokat. Mindezeket a hatásokat tulnyomórészt a neurotranszmisszióra gyakorolt effektusok révén idézik elő mind a periférián, mind a KIR-ben (kotranszmitterként, vagy neuromodulátorként működve).

## I.

### Az endogén opioidok kardiovaszkuláris hatásai

A béta-endorfin átmeneti presszor hatás után csökkenti a vérnyomást és a pulzusszámot (LEMAIRE és mt. 1978). E hatás perifériás komponensein kívül - neurotranszmisszióra gyakorolt, pulmonális "J" receptorokon kifejtett hatás (WILLETTE és SAPRU 1982) - felmerül esetleges centrális effektus lehetősége is. Ennek alapján a vér-agy gáttal nem rendelkező area postrema lehetne, mely terület viszont szoros kapcsolatot mutat a keringésregulációban központi szerepet játszó NTS-sal. Intravénásan adott leu-enkefalin átmeneti vérnyomás emelkedés után vérnyomás csökkenést, a met-enkefalin csak hipotenziót okoz (HOLADAY és LOH 1981).

### A hatás lokalizációja

A KIR-ben a vérnyomás szabályozásában résztvevő magvak területén az ópiát receptorok sűrűsége nagy. A baroreceptor reflex válaszokat az ópioidok a NTS-n gátolják ( ez a mag a reflex első átkapcsolódási helye). E sejtek  $\mu$  és  $\delta$  receptorokban egyaránt gazdagok ( BONNET és mt. 1981, FEUERSTEIN és FADEN 1982, PFEIFFER és mt. 1982.). A béta-endorfin közvetlenül a NTS-ba adva vérnyomáscsökkenést és bradikardiát okozott, azonban nem változtatta meg a légzésszámot. A béta-endorfin hatása lokálisan adott naloxonnal, vagy béta-endorfin antitesttel egyaránt gátolható volt, bizonyítva azt, hogy az a specifikus ópiát receptorokon és a béta-endorfin által mediálva jött létre ( PETTY és deJONG 1982). A vizsgálatok azt is igazolták, hogy a NTS roncsolása nem gátolta meg az ópioidok okozta bradikardiát. Így más magok szerepét is fel kell tételeznünk. Más adatok szerint a naloxon inkább potenciálta, mintsem gátolta volna a direkt NTS elektromos stimuláció által kiváltott depresszor választ, jelezve, hogy működik egy presszor ópioid rendszer is (RAMIREZ-GONZALEZ és mt. 1983). A centralisan adott enkefalinok gátolták a baroreflex választ (SCHAZ és mt.1980) és ezt a hatást szintén az NTS-ban fejtik ki ( PETTY és deJONG 1983) . Mindezek alapján úgy tűnik, hogy létezik egy depresszor (endorfinerg?) és egy presszor (enkefalinerg?) rendszer, és ezek egyensúlya határozza meg végülis a létrejövő keringési választ (KUNOS és MOSQUEDA-GARCIA 1988). Vizsgálatok igazolták a n.ambiguus részvételét a vagus-mediálta bradikardiában (HOLADAY és LOH 1981, LAUBI és SCHMITT 1979).

## II.

### Az endogén opiodok szerepe patológiás keringési állapotokban

Az endogén ópioidok előbb ismertetett kardiovaszkuláris hatásai felvetették annak a lehetőségét, hogy szerepet játszhatnak ezek az

anyagok bizonyos patológiás keringéssel jellemezhető állapotokban, így a különböző etiológiájú sokkokban és az arteriás hipertóniában.

#### Endogén opioidok és a sokk

Az ópiát tuladagolás és a keringési sokk hatására létrejövő bizonyos változások hasonlítanak egymásra: mindkét állapotra jellemzőek a kardiovaszkuláris diszfunkció, a csökkent tudatállapot, a megváltozott endokrin statusz, a nociceptív ingerekre csökkent válaszkészség, az alacsonyabb testhőmérséklet (HOLADAY 1984). Miután a stressz aktiválja az endogén opioid rendszert (AKIL és mt. 1976), feltételezhető volt, hogy a morfinhoz hasonlóan keringés depresszív hatást fejtenek ki (HOLADAY 1983a). Ezt a feltételezést erősítette meg az a tapasztalat, hogy adrenalektomizált egérben az i.v. adott béta-endorfin keringés összeomlást okozott (AKIL és mt. 1976). Mindezekből logikus volt a feltételezés, hogy a sokk okozta stressz hatására felszabaduló endogén opioidok hozzájárulhatnak a hipotóniához és a szöveti perfúzió további csökkenéséhez. A keringési sokk különböző formáiban (hemorrágiás, széptikus-toxikus, neurogén), több állatfajban (kutya, patkány, egér, majom, sertés) találtak magasabb opioid szintet (HOLADAY 1984). Amennyiben az endogén opioidok valóban felelősek a keringési sokk bizonyos tüneteierért, úgy ópiát antagonistá szer alkalmazásának kedvező hatása feltételezhető. FADEN és HOLADAY (1979) vizsgálták először ezt a lehetőséget patkányban, endotoxin okozta sokkban, illetve hemorrágiás sokk állapotában. Azt találták, hogy ópiát antagonistá alkalmazása után a vérnyomás emelkedett, és jelentősen megnőtt az állatok túlélése. Ezt követően számos szerző megerősítette ezt az eredményt hemorrágiás, széptikus-toxikus, traumás és anafilaxiás sokkban (HOLADAY 1984), jóllehet voltak ellentmondó adatok is (STONER és mt. 1982, SZIEBERT és mt. 1982).

## Endogén ópioidok és a magas vérnyomás

A vérnyomás regulációjában két, egymással szembenálló mechanizmus - presszor és depresszor rendszer - játszik szerepet. Amennyiben a presszor hatások erősödnek és/vagy a depresszor hatások gyengülnek, úgy magas vérnyomás alakul ki (akutan vagy tartósan). Mivel a korábbiakból kiderült, hogy az endogén ópioid mechanizmusok egy része depresszor, más része presszor jellegű válaszokat hoz létre, így jogosan felmerült a kérdés, vajon szerepet játszhatnak-e ezek a mechanizmusok a magas vérnyomás etiológiájában, patogenesisében. Ugyanakkor felvetődik a reális lehetősége annak is, hogy a már kialakult magas vérnyomás hatására a depresszor rendszer "aktivitása" nem a szervezet hipertonia elleni védekező regulációja-e.

### III.

#### Adrenerg és ópioiderg mechanizmusok interakciói hipertóniában

Bár a klonidin (alfa<sub>2</sub>-adrenoceptor agonista) és az ópiátok különböző receptorokhoz kötődnek (AGHAJANIAN 1978, FARSANG és KUNOS 1979, FARSANG és mt. 1981a), az általuk létrehozott hatások között sok hasonlóság fedezhető fel. Mindkét szer csökkenti a vérnyomást és a pulzusszámot. Számos endokrin hatásuk hasonló (MEITES 1979). Jól ismert a klonidin fájdalomcsillapító hatása (BORSY és mt. 1976, FIELDING és mt. 1978, SKINGLE és mt. 1982), mely az esetek egy részében naloxonnal antagonizálható volt (LIN és mt. 1980).

A huzamosabb ideig adott ópiát és alfa-2 agonisták elvonásakor jelentős "megvonási" tünetek alakulhatnak ki, melyek hátterében a szimpatikus aktivitás kifejezett fokozódása áll (AGHAJANIAN 1978, AUGUSTIN és mt. 1982, PARKER és Mueller 1982). Az alfa-2 agonisták csökkentik az ópiát-elvonás tüneteit (AGHAJANIAN 1978,

FRANZ és mt. 1982, SCHREIER és BURKS 1981), ugyanakkor a morfin is képes szupprimálni a klonidin elvonásakor jelentkező keringési " rebound " jelenségeket (THOOLEN és mt. 1981).

További neuroanatomiai, elektrofiziológiai, neurokémiai adatok is szólnak az adrenerg-ópioid interakció megléte mellett. A vérnyomás regulációban szereplő KIR-i struktúrák jelentős része ópiát és adrenerg receptorokban egyaránt gazdag (deJONG és PETTY 1982). Ópioid peptidek és noradrenalin együttesen is előfordulnak a szinaptikus idegvégződéseknél (KLEIN és mt. 1982). A preszinaptikus ópiát és alfa-2 adrenoceptorok stimulációja egyaránt gátolja a noradrenalin felszabadulást (SCHOFFELMEER és MULDER 1982). Posztzinaptikusan az alfa adrenerg és ópiát receptorok ingerlése egyaránt csökkenti a LC neuronok kisülési frekvenciáját (AGHAJANIAN 1978) - ez is lehet az elvonási tünetek esetén adott klonidin vagy morfin jótékony hatásának az alapja. Krónikus morfin adagolás jelentősen megnövelte az alfa-2 adrenoceptor sűrűséget az agytörzsben (HAMBURG és TALLMAN 1981), és növelte a noradrenalin szembeni érzékenységet (LLORENS és mt. 1978).

A közvetlen bizonyítékot a következők szolgáltatják:

a./ Naloxon vagy naltrexon csökkentette, vagy megszüntette az alfa-2 agonista klonidin vagy alfa-metil-DOPA hipotenzív hatását SHR-ben (BAUM és BECKER 1982, FARSANG és mt. 1980, MASTRIANNI és IGENITO 1986, NARANJO és mt. 1985, RAMIREZ-GONZALEZ és mt. 1983). Ez a hatás szelektív, és nem volt megfigyelhető perifériásan ható vérnyomáscsökkentőknél (BENETT és mt. 1982, FARSANG és KUNOS 1979).

b./ Mig naloxon gátolta az alfa-2 receptor agonisták hatását, addig yohimbin (alfa-2 antagonist) nem befolyásolta a morfin hipotenzív és bradikardiás effektusát (FARSANG és mt. 1980), jelezve, hogy az ópiát receptorok disztálisan helyezkednek el az alfa-2

adrenoceptorhoz képest.

c./ Klonidin és alfa-metil-noradrenalin ( az alfa-metil-DOPA aktív metabolitja) kezelés hatására a béta-endorfin immunreaktivitás fokozódott SHR agyszeletekben (KUNOS és mt. 1981).

d./ Centralisan alkalmazott béta-endorfin antiszérium megakadályozta a klonidin és az alfa-metil-noradrenalin kardiovaszkuláris hatását ( PETTY és mt. 1982, RAMIREZ-GONZALEZ és mt. 1983).

Mindezek alapján logikus volt feltételezni, hogy az alfa-2 adrenerg receptor agonista klonidin hatásában valamilyen módon közrejátszik az ópiát receptorok aktivációja is.

A fenti közvetett jelek alapján indult meg a kutatás, most már közvetlenebb bizonyítékok megszerzésére. Állatkísérletekben igazoltuk, hogy SHR-ban a klonidin vérnyomáscsökkentő és bradikardiás hatását az ópiát antagonistá naloxon felfüggesztette. A részletes vizsgálatok eredményeképpen kiderült az is, hogy a klonidin hatására endogén ópioid szabadul fel a KIR-ben, továbbá, hogy a KIR-be adott lokális naloxon, vagy béta-endorfin antitest antagonizálta a klonidin hatását. Ezek az eredmények már direkt bizonyítékot szolgáltatottak az ópiát-adrenerg interakcióra állatban.

E felismerésekhez kísérleti eredményeivel munkacsoportunk is jelentős mértékben hozzájárult. Ezt követően vizsgálatainkat továbbra is az endogén ópioidokra és az ópiát-adrenerg interakcióra összpontosítottuk, most már elsősorban a humán vonatkozásokat illetően. Esszenciális hipertóniás betegeken vizsgáltuk a klonidin-naloxon interakciót. Azt találtuk, hogy a betegek mintegy 50 %-ában ez a kölcsönhatás kimutatható, azaz a naloxon felfüggeszti a szubakut ( 3 napos ) klonidin kezelés vérnyomáscsökkentő hatását (FARSANG és mt. 1982e. FARSANG és mt. 1982d). Azokat a bete-

geket, akikben létrehozható ez a hatás, reaktívoknak neveztük el, szemben a többi, u.n. nem-reaktív beteggel.

A klonidin kezeléskor naloxon hatására bekövetkező vérnyomásváltások alapján két csoportra osztott betegek jellemző paraméterei között jelentős hemodinamikai és humorális eltéréseket találtunk, melyek egyrésze már a gyógyszermentes periódusban is észlelhető volt (magasabb PTF, szívindex, PRA és plazma adrenalin koncentráció, illetve alacsonyabb TPR a reaktív csoportban). A kiindulási vérnyomásértékek nem különböztek a két csoportban.

Kifejezett különbséget találtunk a klonidin hemodinamikai és humorális hatásában is. Ez fokozottabb volt a reaktív csoportban. Fentiekből következik, hogy az esszenciális hipertónia, mint betegség, nem egységes patomechanizmusú kórkép. Már korábban leírták az esszenciális hipertónián belül az "alacsony-, normo- és magas-reninű" hipertóniát (LARAGH és mt.1980.) Ugyancsak ismertek a hiperadrenerg csoport jellemzői: magasabb PRA, plazma adrenalin szint és PTF (BÜHLER 1980, deCHAMPLAIN és mt. 1980, FITZGERALD és mt. 1981).

A reaktív betegeinknél magasabb PRA-t, plazma adrenalin szintet és PTF-t találtunk, melyek jelzik, hogy hiperadrenerg típusú a magas vérnyomás és fokozott a szimpatikus tónus.

Klinikailag is jelentős és gyakorlati értékű az a megfigyelésünk, hogy a két csoport között a klonidin kezelés hirtelen abbahagyásakor észlelt "rebound" hipertónia és tachikardia jelentkezésében, valamint annak mértékében különbség van. Jelentősebb szimpatikus hiperaktivitást mutattak a reaktív csoport betegei, és náluk kifejezettebb volt naloxon adása után a vérnyomás emelkedése is. Mindezeket figyelembe véve felmerül az endogén ópoidok esetleges oki szerepe a "klonidin-elvonás" tüneteinek létrejöttében.

Későbbi vizsgálataink azt mutatják, hogy a nagyobb adag ( 2 $\mu$ g/kg) i.v. klonidin vérnyomáscsökkentő hatását a kis adag ( 0.4 mg) i.v. naloxon nem befolyásolta. Ezzel szemben a kisebb adag ( 0.5 $\mu$ g/kg) i.v. klonidin -mely szintén szignifikáns vérnyomáscsökkenést okoz - hipotenzív hatása nagyobb adag (4 mg) i.v. naloxonnal megelőzhető ( a klonidin előtt adva), illetve kivédhető ( a klonidin után adva) volt. A kisebb adag klonidin a pulzusszámot nem befolyásolja, a nagyobb adag viszont szignifikánsan csökkentette azt.

Áttekintve a szakirodalmat, mely a klonidin kezelés alatt adott naloxon hatását vizsgálja, nem találjuk egységesnek azt. Megfelelően csoportosítva azokat, érdekes megfigyelést tehetünk! A klonidin akut alkalmazása során a szerzők nem észlelték a naloxon reverzáló hatását (BRAMNERT és HÖKFELT 1983, 1984, FARSANG és mt. 1984a, LEVIN és mt. 1986, MATHIAS és mt. 1985, PEDRINELLI és mt. 1985, ROGERS és CUBBEDU 1983, WATKINS és mt. 1980). Igen nagy klonidin adagoknál ( véletlen klonidin tulajdonságok eseteiben ) viszont többen leírták a naloxon reverzáló effektusát ( KULIG és mt. 1982, NORTH és mt. 1981, TENENBEIM 1984.) Többek között ezek az eredmények is vezettek bennünket arra, hogy kis adag, de már vérnyomáscsökkenést okozó akut i.v. klonidin hatását elemezzük. Fent részletezett eredményeinket ezek után a következőképpen értékelhetjük: az alacsony dózisu klonidin aktiválja az endogén ópoid rendszert, mely detektálhatóan hozzájárul a vérnyomáscsökkentő hatáshoz, és naloxonnal reverzálható (jelen vizsgálataink ). Nagy dózisu i.v. klonidin szintén aktiválhatja az endogén ópoidokat, de az alfa-2 adrenoceptor agonista " direkt " centrális szimpatikus tónus csökkentő hatása lényegesen nagyobb mértékű lehet, mint az ópoid stimulációhoz kötött hatás, ezért az elfedheti a naloxon reverzáló hatását. Nem zárható ki azonban a klonidinnel szemben kialakuló akut tolerancia lehetősége sem (HEAD és deJONG 1985, MASTRIANNI és INGENITO 1985). Igen



nagy adag klonidin (mérgezés) szervezetbe jutásakor a vérnyomás-csökkenés mértéke olyan fokú lehet, mely már összetett hemodinamikai mikrocirkulációs zavarokhoz vezet ( hasonlóan a különböző keringési sokkos állapotokhoz). Így az endogén ópioid rendszer stimulációját a klonidin adásán kívül egyéb, keringési komponensek tovább fokozhatják, ezért a naloxon " újra hatásos lehet ".

Feltételezésünk szerint tehát a farmakológiában jól ismert, " U "-alaku dózis-hatás görbéhez hasonló jelenséggel állunk szemben.

Érdekes eredményre vezettek azok a vizsgálatok, melyek azt keresték, vajon a klonidin hatásának naloxon-szenzitív komponensében milyen ópiát-receptorok vesznek részt (KUNOS és mt. 1988.). Tudjuk, hogy a naloxon nagyobb adagja szükséges a  $\delta$ -receptor blokkolásához, mint a  $\mu$ -receptoréhoz (LORD és mt. 1977). A korábbi vizsgálatokban viszonylag nagyobb adag naloxon volt szükséges a klonidin hatásának gátlásához (FARSANG és KUNOS 1979, FARSANG és mt. 1980, MASTRIANNI ÉS INGENITO 1986, NARANJO és mt. 1985), mely felvetette, hogy esetleg a  $\delta$ -receptorokhoz kötődik a hatás. Ennek igazolására szelektív  $\mu$ -receptor antagonistá béta-funaltrexamin(b-FNA) (WARD és mt. 1982) és szelektív  $\delta$ -receptor antagonistá ICI-174864 (COTTON és mt. 1984) hatását nézték a klonidin vérnyomáscsökkentő effektusában. Azt találták, hogy SHR NTS-ba injicálva a klonidint csak az ICI-174864 gyengítette annak hatását, a b-FNA nem, igazolva a  $\delta$ -receptorok részvételét. Hasonló módon vizsgálva normotenzív Sprague-Dawley patkányokat, a fentiek ellenkezőjét észlelték, azaz a klonidin centrális kardiovaszkuláris hatásában  $\mu$ -receptorok vesznek részt. Ez felveti annak lehetőségét, hogy maga a hipertónia okoz esetleg alloszterikus interakciót a  $\mu$ - és  $\delta$ -receptorok között ( D' AMATO és HOLADAY 1984, ROTHMAN és mt. 1985).

Ujabb eredményeink szerint a reaktív csoportba tartozó, krónikus klonidin monoterápiában részesülő betegekben a naloxon presszor effektusa és a klonidin vérnyomáscsökkentő hatása fokozatosan csökken. Ennek hátterében állhat a hosszan tartó klonidin kezelés okozta alfa-2 receptor deszenzibilizálódás, de oka lehet a hipertóniás folyamat maga is.

Az első feltételezés mellett szólhatnak MASTRIANI és INGENITO (1985) eredményei, akik a klonidin kardiovaszkuláris hatásával szemben akut toleranciát találtak. Elképzelhető, hogy krónikus kezelés mellett is kialakulhat tolerancia. Nem hagyható figyelmen kívül a krónikus antiadrenerg kezelés só-víz retenciót okozó hatása sem. Ennek következtében a vérnyomás regulációja megváltozik, nevezetesen a szimpatikus tónus részaránya csökken.

Mi magunk inkább a hipertóniás folyamatot tesszük felelőssé a naloxon reverzáló hatásának gyengüléséért. Érveink a következők: korábbi vizsgálatainkban azt találtuk, hogy a reaktív csoportba tartozó beteg hipertóniás anamnesise szignifikánsan rövidebb volt, mint a nem-reaktívoké. Továbbá a reaktív csoportba tartozó betegek hemodinamikai paraméterei (magasabb PTF és alacsonyabb TPR) hasonlóságot mutatnak a hipertónia kezdeti fázisában talált változásokkal, míg a nem-reaktív csoportba sorolt betegeinknél észlelt magasabb TPR a hipertónia egy későbbi, előrehaladottabb stádiumára jellemző. Mindezek a hipertónia patofiziológiai folyamatának következményei lehetnek és azt jelenthetik, hogy a fokozatosan gyengülő (kimerülő), a klonidinnel egyre kevésbé aktiválható endogén ópioid mechanizmus egyik oka lehet a hipertónia fixálódásának, súlyosbodásának.

A klonidin " mintájára " egyéb alfa-2 agonisták hatásában is vizsgáltuk az endogén ópioid mechanizmusok esetleges részvételét. Az alfa-metil-DOPA vérnyomáscsökkentő hatásában, az állatkísérletekkel

ellentétben nem tudtuk kimutatni az endogén ópiodok szerepét. Hasonló eredményt kaptunk a guanfacin vizsgálatánál is. A guanfacin és a klonidin hemodinamikai hatásait is összehasonlítottuk és jelentős eltéréseket találtunk közöttük. Míg a klonidin vérnyomáscsökkentő hatását a perctérfogat, addig a guanfacin a teljes perifériás rezisztencia csökkentésével hozza létre (FARSANG és mt. 1984b, VARGA és mt. 1983b, VARGA és FARSANG 1985).

E hatásmechanizmus részleteit vizsgálva állatkísérleteinkben normotenzív és spontán hipertóniás patkányok keringési paramétereit, szervkeringési jellemzőit tanulmányoztuk. Jelentős különbségeket találtunk a két szer hatásában hipertóniás állatok esetében. Normotóniás patkányokban a klonidin és a guanfacin hemodinamikai hatásai gyakorlatilag megegyeztek. Eredményeink magyarázatát a normotóniás és a hipertóniás állapot között fennálló eltérő keringésszabályozás meglétében látjuk.

A két alfa-2 agonista szer, a klonidin és a guanfacin hatásmechanizmusának különbözőségére magyarázatul szolgálhat az alfa-1 receptorokhoz való affinitásbeli, illetve az alfa-2 altípusokhoz való kötődésbeli eltérésük. E hipotézis vizsgálatára tanulmányoztuk az alfa-1 antagonistá prazosin és klonidin, valamint a prazosin és guanfacin interakciókat. Azt találtuk, hogy a prazosin előkezelés meggátolta a klonidin vérnyomáscsökkentő hatásának kialakulását, míg hasonló guanfacin esetében nem tapasztaltunk. Eredményeink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a klonidin-prazosin együttes adása a klinikumban nem tanácsos ( FARSANG mt. 1985b, 1988).

Az endogén ópiodok lebontásában egyéb enzimek mellett az angiotenzin-konvertáló enzim is résztvehet. Ennek bénítása az endogén ópiodok felszaporodásához vezethet, így azok az angiotenzin-konvertáló enzim gátlók ( pl. kaptopril ) vérnyomáscsökkentő hatásához hozzájárulhatnak. Az endogén ópiodok e lehetséges szerepét vizsgál-

tuk akut, illetve szubakut ( három napos ) kaptopril kezelést követően. Eredményeink nem igazolták feltételezéseinket, azaz esszenciális hipertóniás betegekben az általunk alkalmazott dózisban a kaptopril hatásában endogén ópioid mechanizmus szerepét nem tudtuk kimutatni (VARGA és mt. 1986, VARGA és mt. 1988c,d).

#### IV.

##### Dopaminerg és opioiderg interakciók

Dopaminerg-opioiderg interakcióra vonatkozó eddigi bizonyítékról nem volt tudomásunk sem a nyugalmi, sem a stimulált  $\beta$ -endorphin-, ACTH-, kortizol és prolaktin-szekréció szabályozásában.

Vizsgálataink szerint a határérték esszenciális hipertóniások baroreceptor reflex érzékenységének szabályozásában dopaminerg mechanizmusok szerepe valószínűsíthető a fizikai terhelés során. Az adatok alapján a nyugalomban inaktív dopaminerg depresszor mechanizmusok aktiválódnak a dinamikus fizikai terhelés stresszhelyzetében, és a szimpatikus idegrendszer aktivitásának gátlásával fokozzák a baroreceptor reflex érzékenységét határérték hipertóniás betegekben.

Az opioid,  $\beta$ -endorphinerg mechanizmusok szerepe, illetve a két depresszor rendszer interakciója azonban nem igazolható a dinamikus fizikai terhelésre adott vérnyomás, és szívfrekvenciaválasz szabályozásában határérték esszenciális hipertóniás betegekben.

Az alfa-2 adrenerg agonista clonidinnak a nyugalmi  $\beta$ -endorphin szintet emelő hatásában a direkt, hypophysis szintjén kifejtett hatás mellett a szer által előidézett centrális szimpatikus tónus csökkenés, és a következményes CRF kiáramlás, ezáltal pedig a hypo-

physis beta-endorphin elválasztásának fokozódása is részt vehetett.

Dopaminerg agonista bromocryptin ugyancsak csökkentette a szimpatikus tónust, ami a szer vérnyomáscsökkentő hatásában is jelentős szerepet játszhatott. A bromocryptin kezelés során észlelt nyugalmi beta-endorphin emelkedés magyarázataként a - clonidinhoz hasonlóan - a centrális szimpatikus tónus csökkenésével összefüggő CRF-beta-endorphin mechanizmus valószínűsíthető.

Eredményeink alapján a centrális szimpatikus tónusnak jelentős szerep tulajdonítható a határérték- és enyhe esszenciális hipertóniás betegek nyugalmi beta-endorphin szintjének regulációjában.

A keringő opioid peptid, a beta-endorphin, ill. az ACTH és a kortizol elválasztásának szabályozásában a dinamikus fizikai terhelés körülményei között dopaminerg ellenőrzés alatt álló gátló opioiderg mechanizmus szerepe igazolódott. Ezt a facilitáló dopaminerg mechanizmust is inaktívnak találtuk nyugalomban, a fizikai terhelés hatására azonban aktiválódott és kivédte az opioiderg gátló mechanizmusok hatását.

Mindezek alapján a dopaminerg- és opioiderg rendszerek interakciója igazolódott a beta-endorphin, valamint az ACTH és a kortizol szabályozásában a fizikai terhelés során határérték esszenciális hipertóniás betegekben.

Az újabb eredményeink szerint a dexametazon előzetes adása kivédte a naloxon kezelést követő ergometriás béta-endorphin-, ACTH-, és kortizolválaszt. Mivel az alkalmazott dózisban a naloxon a mü- és az epsilon-receptorokon fejti ki hatását, amelyek endogén ligandja a beta-endorphin és ismeretes, hogy a beta-endorphin a hipotalamikusan CRF elválasztás gátlásával szabályozhatja saját hipofizealis felszabadulását, ezért az eredmények alátámasztják a

CRF közvetítő szerepét ezen hormonok elválasztását szabályozó opioiderg ( valószínűleg beta-endorfinerg) gátlás mediálásában. ALFÖLDI és mt. 1990).

## V.

### A kalcium antagonisták nifedipin hatása az endogén opioid rendszerre.

Az endogén opioidok gátolják a kalcium csatornán keresztül történő kalcium mozgást és a kalmodulin és cAMP aktivitás csökkenésével befolyásolják az intracelluláris kalcium forgalmat is (CARDENAS és ROSS 1976, BARAM ÉS SIMANTON 1983). A kalcium antagonisták szabadon átjutnak a vér-agy gáton (ALLEN és mt. 1983), és jelentős mértékben kötődnek a vérnyomásszabályozó agyi centrumok (nyultvelő és hid ) területén, amely területek igen gazdagok opioid receptorban is.

Ez a tény már felvetette a kalcium antagonisták és opioid rendszer centrális interakciójának lehetőségét, s ezt erősítette meg az hogy a morfin testhőmérsékletet befolyásoló és fájdalomcsillapító hatását a kalcium antagonisták fokozták (BENEDEK és SZIKSZAY 1984).

A periférián az erek körül opioid aktivitású idegrostokat találtak, melyekről feltételezik, hogy szerepet játszanak az értonus szabályozásában. E mellett a centralisan felszabaduló, keringő opioidok is valószínűleg részt vesznek a vérnyomás szabályozásában, hiszen az enkefalinok egy része presszor, a béta endorfin pedig depresszor hatású.

Nem találtunk adatot arra vonatkozóan, hogy a vérnyomás szabályozásában résztvevő opioidok hatását a kalcium antagonisták hogyan befolyásolják. A vérnyomáscsökkentő gyógyszerek között

ismert a klonidin béta-endorfin szintet növelő hatása, amely hozzájárul a vérnyomáscsökkentő hatásához. Figyelembe véve a nifedipin centrális hatásának lehetőségét, valamint a kalcium csatornáknál történő lehetséges interakcióját az opiátokkal, megvizsgáltuk, hogy hogyan befolyásolja a nifedipin a plazma béta endorfin szintjét és, hogy a nifedipin vérnyomáscsökkentő hatásában szerepet játszik-e a depresszor hatású béta endorfin vagy nem.

A hypertóniás betegekben, korábbi eredményeinkkel megegyezően kimutatható volt a béta endorfin napszaki ritmusa ( FARSANG és mt. 1983). Nifedipin adását követően ez a ritmus megszűnt, relativ béta endorfin szint növekedés jött létre mind hipertóniás betegekben, mind egészséges önkéntesekben. Ugyanakkor a béta endorfin szint változás és a nifedipin vérnyomáscsökkentő hatása között nem volt összefüggés (KISS és mt. 1988a,d).

Az opiát antagonistá naloxon adását követően a szisztolés vérnyomás minimálisan, rövid időre növekedett, a renin aktivitás is és a plazma béta-endorfin szint is kismértékben, bár nem szignifikánsan fokozódott. Még ez a kismértékű vérnyomás és renin aktivitás növekedés is jelezhetne szimpatikus tónusfokozódást. Ez a vérnyomásemelkedésben csak igen rövid ideig mutatkozott meg, feltehetően a változás igen kis mértéke, vagy a nifedipin vérnyomásfokozódást kivédő hatása miatt. Nem zárjuk ki annak lehetőségét sem, hogy a nifedipin hatására fokozódó plazma béta endorfin szint a preszinaptikus adrenerg receptor gátló opioiderg mechanizmusok aktivációját is jelzi (SCHOFFELMEER és MULDER 1983, ILLÉS és RUBINI 1984), mely által csökkenhet a nifedipin okozta szimpatikus aktivitás.

Az a tény azonban, hogy naloxon hatására nem növekedett a szívfrekvencia az előbbieken vázolt mechanizmusok klinikai jelentősége ellen szól. Ugyanakkor a naloxon hatására bekövetkező béta-endorfin szint emelkedés jelezheti az endogén opioidok autoreceptorokra

gyakorolt gátló hatásának felfüggesztését, mint ahogyan ezt már nagy adag naloxon alkalmazásával kimutatták (JAFFE és MARTIN 1986).

Annak alapján, hogy nem találtunk összefüggést a nifedipin vérnyomáscsökkentő hatása és a nifedipin indukálta plazma béta-endorphin szint relativ emelkedése között, úgy gondoljuk, hogy a keringő béta-endorphin szint perifériás változása feltehetően nem játszik szerepet a vérnyomás szabályozásában, és az állatkísérletekben észlelt nimodipin hatáshoz hasonlóan ( COSTA és mt. 1984) csak másodlagosan jön létre.



I R O D A L O M

Aghajanian-GK (1978). Tolerance of locus coeruleus neurones to morphine and supression of withdrawal responses by clonidine. Nature 276: 186.

Akil H, - Watson SJ, BarchasJD, Li CH /1976): Beta endorphin immunoreactivity in rat and human blood: radioimmunoassay, comparative levels and physiological alterations.

Alföldi A, Kárteszi M, Simkó K, Farsang C, /1990) Dexamethasone blocked the opioidergic inhibition of ergometry induced beta-endorphin secretion. J Hypertension, közlés alatt.

Allen G.S. , Ahn H,S., Preziosi T.J.: 1983) Cerebral arterial spasm - a controlled trial of nimodipine in patients with subarachnoid hemorrhage. N.Engl.J.Med. 308: 619

Augustine SJ, Buckley JP, Tachikawa S, Lokhandwala MF ( 1982): Involvement of central noradrenergic mechanisms in the rebound hypertension following clonidine withdrawal. J.Cardiovascular Pharmacol 4: 449.

Baram D., Simantov R: (1983) Enkephalins and opiate antagonists coltrol calmodulin distribution in neuroblastoma-glioma cells J.Neurochem. 40: 55.

Baum T, Becker FT (1982): Alpha adrenergic and 5-hydroxytryptaminergic drugs with observation on involvement of opiate receptors. Clin.Exp.Hypertens (A) 4 : 235.

Benedek G., Szikszay M (1984): Potentiation of thermoregulatory and analgesic effects of morphine by calcium antagonists Pharm.Res.Comm. 16 : 1009.

Benett DA, Defeo JJ, Elko EE, Lal H (1982): Naloxone-induced reversal of clonidine, but not hydralasine, hypotension. Drug.Dev.Res 2: 175.

Bonnet KA, Groth J. Gioannini T, Cortes M, Simon EJ (1981): Opiate receptor heterogeneity in human brain regions. Brain Res. 221 : 437

Borsy J, Székely J, Király J (1976): Antinociceptive effect of clonidine. Acta Phyliol. Acad. Sci. Hung. 47: 158.

Bramnert M, Hökfelt B (1983): Failure of naloxone to reduce the clonidine-induced reduction of blood pressure and plasma noradrenaline in patients with essential hypertension. *Acta Physiol. Scand.* 118: 379

Bramnert M, Hökfelt B. (1984): Partial blockade by naloxone of clonidine-induced increase in plasma growth in hypertensive patients. *J.clin.Endocrinol.Metab.* 58: 374.

Bühler FR (1980): Elevated plasma adrenaline, age-related decrease in beta-adrenoceptor-mediated cardiovascular functions and increase in alpha-receptor-mediated vasoconstriction in essential hypertension. *Central Adrenaline Neurons* 33: 305.

Cardenas H.L., Ross D.H.: Calcium depletion of synaptosomes after morphin treatment *Br.J.Pharmacol.* 57: 521 (1976).

de Champlain J, Cousineau D, Lapointe L (1980): Evidences supporting an increased sympathetic tone and reactivity in a subgroup of patients with essential hypertension. *Clin.Exp.Hypertension* 2: 359.

Costa G., Saija A., Padovano I., Trimachi G.R., De Paquale R., Caputi A.P.: (1984): The calcium antagonist nimodipine increases -endorphin release from rat hypophysis through an action on adrenal glands. An "in vivo" and "in vitro" study. *Pharmacol. Res. Comm.* 16: 959

Cotton R, Giles-MG, Miller L, Shaw JS, Timm D (1984): ICI174864: a highly selective antagonist for the opioid delta-receptor. *Eur.J. Pharmacol.* 97: 331.

D,Amato RJ, Holaday JW (1984): Multiple opiate receptors in endotoxic shock: evidence for delta involvement and mü-delta interaction in vivo. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 81: 2898.

Faden AI, Holaday JW (1979): Opiate antagonists: a role in the treatment of hypovolemic shock. *Sciences* 205: 317.

Farsang C, Kunos G (1979): Naloxon reverses the antihypertensive effect of clonidine. *Br.J. Pharmacol.* 67: 161.

Farsang C, Ramirez-Gonzales MD, Lucia M, Kunos G (1980): Possible role of an endogenous opiate in the cardiovascular effects of central alpha adrenoceptor stimulation in spontaneously hypertensive rats.

J.Pharmacol. Exp, Ther. 214: 203.

Farsang Cs, Ramirez-Gonzales MD, Kunos (1981a): Ópiát antagonisták gátolják a centrális alfa adrenerg stimuláció hipotenzív hatását spontán hipertenzív patkányon.

Kisérl. Orvostud. 33: 181.

Farsang C, Kapocsi J, Malisák Z, Vajda L, Varga K, Juhász I, Kunos G, Ramirez-Gonzales MD (1982a): Possible involvement of endogenous opiates in the antihypertensive action of clonidine in a group of patients with essential hypertension.

Proc.Int.Soc.Intern.Med. 16: 127.

Farsang C, Kapocsi J, Varga K, Kunos G, Juhász I, Ramirez-Gonzales MD (1982b): CNS opiate-adrenergic interaction in patients with essential hypertension.

Cor et Vasa 24: 184.

FARSANG C, Vajda L, Kapocsi J., Malisák Z, Alföldi S, Varga K, Juhász I, Kunos G (1983): Diurnal rhythm of beta-endorphin in normotensive and hypertensive patients: the effect of clonidine  
J.Clin.Endocrin.Metab. 56: 865,

Farsang C, Kapocsi J, Vajda L, Varga K, Malisák Z, Fekete M: Kunos G.(1984a): Reversal by naloxone of the antihypertensive action of clonidine: involvement of the sympathetic nervous system.

Circulation 69: 461.

Farsang C, Varga K, Vajda L, Alföldi S, Kapocsi J (1984b): Effects of clonidine and guanfacine in essential hypertension.

Clin. Pharmacol.Ther. 36:588

Farsang C, Varga K, Kiss I, Alföldi S, Kapocsi J. (1985 ): Beta endorphin and hypertensive drugs.

Proc.Pharmacol.Soc.Hung. 4:29.

Farsang C, Varga K, Kapocsi J. (1988): Prazosin-clonidine and prazosin-guanfacine interaction.

Pharm.Res.Comm. 20:85.

Fielding S, Wilker J, Hynes M, Szewczak M, Novick WJ, Lal H (1978): A comparison of clonidine with morphine for antinociceptive and antiwithdrawal actions.

J.Pharmacol.Exp.Ther. 207:899.

Fitzgerald GA, Hossmann V, Dollery CT (1981): Norepinephrine release in essential hypertension.  
*Clin.Pharmacol.Ther.* 30:164.

Franz DN, Hare BD, McCloskey KL: (1982) Spinal sympathetic neurons: possible sites of opiate-withdrawal suppression by clonidine.  
*Science* 215: 1643.

Hamburg M, Tallman JF (1981): Chronic morphine administration increases the apparent number of alpha2-adrenergic receptors in rat brain.  
*Nature* 291:493

Head GA, deJonge W (1985): Cardiovascular responses to central clonidine, alpha-methyldopa and 6-hydroxydopamine in conscious normotensive and spontaneously hypertensive rats following naloxone.  
*J., Cardiovasc.Pharmacol.* 7:321.

Holaday JW, Loh HH (1981): Neurobiology of beta-endorphin and related peptides.  
*Hormonal Proteins and Peptides* 10:203.

Holaday JW (1983 ). Cardiovascular consequences of endogenous opiate antagonism.  
*Biochem.Pharmacol.* 32:573.

Holaday JW (1984): Neuropeptides in shock and traumatic injury: sites and mechanisms of action.  
*Neuroendocrine Perspectives* 3:161.

Illes P, Rubini P: (1984) Mechanisms of inhibition by opioids and alpha-adrenoceptor agonists of noradrenaline release  
In: Vizi E.S. Magyar K, Regulation of transmitter function: basic and clinical aspects Proc.5th Meeting Eur.Soc.  
*Neurochem.Akadémiai Kiadó, Budapest* 163.

Jaffe J.H. Martin W.Z. (1986). Opioid analgesics and antagonist  
In: Goodman and Gilman The pharmacological basis of therapeutics  
MacMillan Publishing Company, New York, 491.

de Jong W, Petty M (1982): Chemical stimulation of the nucleus of the solitary tract and resulting blood pressure response.  
*J.Cardiovasc.Pharmacol.* 4:775.

Kiss I. Farsang C.: (1988a) Calcium and opioid mechanisms in essential hypertension  
In: Illes P, Farsang C. Regulatory roles of opioid peptides VHC  
*Publ. (NSZK)* 524.

Kiss I, Simkó K, Farsang C. (1988b): A nifedipin (C<sub>r</sub>infar) hatása a plazma béta endorfin szintre esszenciális hypertoniás betegekben.

Magyar Belorv. Arch. 41: 97

Klein RL, Wilson SP, Dzielak DJ, Yang WH, Viveros OH (1982): Opioid peptides and noradrenaline co-exist in large dense-core vesicles from sympathetic nerve.  
Neurosciences 7:2255.

Kulig K, Dufey J, Rumack BH, Mauro R, Gaylord M: (1982): Naloxone for treatment of clonidine overdose.  
JAMA 247:1697.

Kunos G, Farsang C, Ramirez-Gonzales MD (1981): Beta endorphin possible involvement in the antihypertensive effect of central alpha-receptor activation.  
Science 211:82

Kunos G, Mosqueda-Garcia R (1988): Adrenergic-opioid interaction in the brain system: role in cardiovascular regulation.  
in Opioid Peptides and Blood Pressure Control ed. by KO Stumpe, K Kraft, Al Faden, Springer Verlag pp. 62.

Kunos G, Mosqueda-Garcia R, Mastrianni JA (1988): Endorphinergic neuron in the brainstem and control of blood pressure and heart rate.  
in Regulatory Roles of Opioid Peptides ed. by P Illés C Farsang, VHC (FRG) pp.460.

Laragh JH, Letcher RL, Pickering TG (1980): Renin profiling for modern understanding, diagnosis and management of hypertension.  
Adv. Heart Dis. 3:475.

Laubie M. Schmitt H. (1979): Vagal bradycardia produced by microinjections of morphine-like drugs into the nucleus ambiguus in anesthetized dogs.  
Eur. J. Pharmacol. 59:287.

Levin ER, Sharp B, Weber MA, Drayer JIM (1986): Endogenous opioid peptides: do they mediated the acute antihypertensive action of clonidine in humans?  
Hormone Res. 23:193.

Lemaire I, Tseng R, Lemaire S (1978): Systemic administration of beta-endorphin: potent hypotensive effect involving a serotonergic pathway.  
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75:6240.

Lin MT, Chi, ML, Chandre A, Tsey BL (1980): Serotonergic mechanisms of beta-endorphin- and clonidine-induced analgesia in rat.

Pharmacology 20:323.

Llorens C, Martres MP, Baudry M, Schwartz JC (1978): Hypersensitivity to noradrenaline in cortex after chronic morphine: relevance to tolerance and dependence.

Nature 274:603.

Lord JAH, Waterfield AA, Hughes J, Kosterlitz HW (1977): Endogenous opioid peptides: multiple agonists and receptors.

Nature 267:495.

Mastrianni JA, Ingenito AJ (1985): Acute tolerance to clonidine hypotension and bradycardia in normotensive and hypertensive rats.

Pharmacol. Res. Comm. 17:865.

Mastrianni JA, Ingenito AJ. (1986): On the relationship between clonidine hypotension and brain beta-endorphin in the spontaneously hypertensive rat: studies with alpha-adrenergic and opiate blockers.

J.Pharmacol.Exp. Ther.3:78.

Mathias CJ, daCosta DF, Cleary JC, Peart S (1985): Naloxone does not affect the cardiovascular, sedative or neurohormonal effects of clonidine in normal and hypertensive man.

Hypertension 3(suppl.4.): S77.

Meites J, Bruni JF, VanVaught DA, Schmith AF (1979): Minireview: Relation of endogenous opioid peptides and morphine to neuroendocrine functions.

Life Sci. 24:1325

Naranjo JR, Fernandez-Roman M, Urdin MDC, Fuentes JA (1985): Beta-endorphin: a common factor in the antihypertensive action of clonidine-type imidazolines on spontaneously hypertensive rats.

Gen.Pharmacol. 16:3

North DS, Wieland MJ, Peterson CD, Krenzelok EP.(1981): Naloxone administration in clonidine overdose.

Ann.Emerg.Med.10:3997.

Pedrinelli R, Bernini GT, Salvetti A (1985): Naloxone does not modify the hemodynamic and neuroendocrine effects of clonidine in normal humans.

J.Cardiovasc.Pharmacol. 7.953.

Parker M, Mueller K. (1982): Withdrawal syndromes following cessation of treatment with antihypertensive drugs. Gen.Pharmacol. 13:79.

Petty MA, deJong W. (1982): Does beta-endorphin contribute to the central antihypertensive action of alpha-methyldopa in rats? Clin.Sci. 63:293.

Petty MA, deJonge W (1983): Enkephalins induce a centrally mediated rise in blood pressure in rats. Brain Res. 260:322.

Pfeiffer A, Feurstein G, Faden A, Kopin IJ (1982): Evidence for an involvement of mü-, but not delta- or kappa-opiate receptors in sympathetically and parasympathetically mediated cardiovascular responses to opiates upon anterior hypothalamic injection. Life Sci. 31:12S

Ramirez-Gonzales MD, Tschakarov L, Mosqueda-Garcia R, Kunos G, (1983): Beta-endorphin acting on the brainstem is involved in the antihypertensive action of clonidine and alpha-methyldopa in rats. Circ.Res. 53:150.

Rogers JF, Cubbedu LX. (1983): Naloxone does not antagonize the antihypertensive effect of clonidine in essential hypertension. Clin Pharmacol.Ther. 34:68

Rothman RB, Danks JA, Jakobson AE, Burke TR, Rice KC (1985): Leucine enkephalin noncompatitively inhibits the binding of H3 naloxone to the opiate mü-recognition site: evidence for delta-mü binding site interactions in vitro. Neuropeptides 6:351.

Schaz K, Stock G, Simon W, Schlor KH, Rockhold L, Ganten D. (1980.) Enkephalin effects on blood pressure, heart rate and baroreceptor reflex. Hypertension 2:395.

Schmitt CF, Livingston AE (1933): The action of morphine on the mammalian circulation. J.Pharmacol.Exp.Ther. 47:411.

Schoffelmeer A NM, Molder AH. (1982): Presynaptic alpha-adrenoceptors and opiate receptors: inhibition of H3 noradrenaline release from rat cerebral cortex slices by different mechanisms. Eur.J.Pharmacol. 79:329.

Schreier WA, Burks Tf (1981): Suppression of morphine withdrawal diarrhea by clonidine.

Proc.W.Pharmacol.Soc. 24:341

Skingle M, Hayes AG, Tyers M:(1982): Antinoceptive activity of clonidine in the mouse, rat and dog.

Life Sci. 31:1123.

Stoner HB, Morris ID, Little RA, Hadfield JM, Marshall HW, Yarker YE (1982): The effect of naloxone on some neuroendocrine responses to limb ischaemia.

Neuropharmacology 21:221.

Sziebert L, Thomson D, Jinkins J, Rice K, Adams T Jr, Henriksen N, Traber LD, Traber DL (1982): Effect of naloxone treatment on the cardiopulmonary response to endotoxin in sheep.

Adv.Shock Res. 10:121.

Tenenbeim M (1984): Naloxone in clonidine toxicity.

Am.J.Dis.Child 138:1084.

Thoolen MJMC, Timmermans PBMWM, van Zweiten PA (1981):

The influence of continuous infusion and sudden withdrawal of arepexole (B-HT 933) on blood pressure and heart in the spontaneously hypertensive and normotensive rat - suppression of the withdrawal responses by morphine.

J.Pharmacol. Exp. Ther. 219:786.

Varga K, Alföldi S, Kiss I, Simkó K, Farsang C. (1988a): Clinical studies with captopril treatment of hypertensive patients.

Acta Physiol. Hung. ( in press).

Varga K, Alföldi S, Kiss I, Simkó K, Farsang Cs. (1988b): Kaptoprilrel szerzett tapasztalataink hipertóniás betegek kezelése során.

Cardiol. Hung. 17:165.

Ward. SJ, Portoghese PS, Takemori AE (1982): Pharmacological characterisation in vivo of the novel opiate, beta-funaltrexamine.

J.Pharmacol. Exp. Ther. 220:494.

Watkins J, Fitzgerald G, Zamboulis C, Brown MJ, Dollery CI (1980): Absence of opiate and histamine H<sub>2</sub> receptor-mediated effects of clonidine.

Clin.Pharmacol. Ther. 28:605.

Willette RN, Sapru HN (1982): Pulmonary opiate receptor activation evokes a cardiorespiratory reflex.

Eur.J.Pharmacol. 78:61.



# AZ ADENOZIN VAZOKONSTRIKTOR HATÁSÁNAK ELEMZÉSE TENGERIMALAC PULMONÁLIS ARTÉRIA PREPARÁTUMOKON

CSEPPENTŐ ÁGNES, SZENTMIKLÓSI A. JÓZSEF, SIPKA SÁNDOR\*  
és GAJDOS ANIKÓ\*\*

Debreceni Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézete és III. sz. Belklinikája\*, Debrecen  
és Szabolcs-Szatmár-Bereg Megyei Gyógyszertári Központ, Nyíregyháza\*\*

## 1. BEVEZETÉS

Régóta ismert, hogy az adenzin egyike a legerősebb koronária-tágító vegyületeknek ( DRURY és SZENT-GYÖRGYI, 1929 ). Később kimutatták, hogy ez a nukleozid intenzíven relaxálja az agyi ( WAHL és KUSCHINSKY, 1976 ), valamint végtagi artériákat ( HASHIMOTO és KUMAKURA, 1965 ). Mivel a vizsgálatok során az emlős szervezetek különböző artériáin csak értágító hatást figyeltek meg, ezért az adenzint hosszú ideig kizárólag vazodilatátor hatású szubsztanciának tekintették. Ezt a klasszikus képet csak OSSWALD és mtsai ( 1975 ) változtatták meg azzal az észlelésükkel, hogy az adenzin kutya veseartériákon kifejezett vazokonstriktor hatást mutatott. Később SAKAI és mtsai ( 1979 ) írták le, hogy macska arteria renaliszon mind az ATP, mind az adenzin érszűkítő effektusokat pro-

dukál. A fenti szerzők hasonló megfigyelésekről számoltak be patkány végtagi artériák vonatkozásában is ( SAKAI és AKIMA, 1978 ).

Az utóbbi években vált ismertté, hogy az adenzin tengerimalacokból izolált pulmonális artérián is képes jellegzetes vazokonstriktor választ produkálni ( CSEPPENTŐ és mtsai, 1987; WICKLUND és mtsai, 1987 ) annak ellenére, hogy más típusú kísérleti állatok tüdőartériáin ( kutya, nyúl ) az adenzin vazodilatátor tulajdonsággal rendelkezik ( MENTZER és mtsai, 1975; SZENTMIKLÓSI és mtsai, 1986).

A kísérleteink célja az volt, hogy specifikus farmakológiai módszerekkel analizáljuk az adenzinnak ezt a szokatlan -bár nem egyedülálló- hatását.

## 2. MÓDSZEREK ÉS ANYAGOK

Vegyes nemű, 360-480 g súlyú tengerimalacok mellkasát tarkócsapás és az egyik oldali arteria carotis átvágása után megnyitottuk, majd a szívet az aortaívvel és a tüdőgyökkel együtt gondosan kimetszettük és oxigenizált, szobahőmérsékletű Krebs oldatba helyeztük. A tüdőartéria fő törzsének leválasztását speciálisan kiképzett, oxigenizálható preparálókádban végeztük 35°C hőmérsékletű Krebs oldatban. A preparálást a lehető legnagyobb gondossággal végeztük, hogy az endothel réteg sérüléseit elkerüljük. Az arteria pulmonalisból kb. 2 mm széles gyűrűpreparátumot készítettünk, amelyet kettévágtunk, két végére kapillaritásmentes fonalat rögzítettünk és 10 ml úrtartalmú, kettősfalú, vertikális elrendezésű, 37°C-on termosztált szervkádban függesztettünk fel. A szervfürdő a következő összetételű Krebs oldatot tartalmazta (mmol/l): NaCl 118; KCl 4,7; CaCl<sub>2</sub> 2,5; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,0; MgCl<sub>2</sub> 1,2; NaHCO<sub>3</sub> 24,9 és glükóz. A tápoldatot 95% O<sub>2</sub> és 5% CO<sub>2</sub>

keverékkel oxigenizáltattuk, miáltal az oldat átlagosan 7,4 pH értéket vett fel. A preparátum egyik végét rozsdamentes acélhoroghoz, a másik végét izometriás mechanoelektromos átalakító (EXPERIMETRIA Kft.) érzékelőjéhez rögzítettük. A nyugalmi tenziót mikromanipulátor segítségével állítottuk be (1 g-os előfeszítés). A mechanikai változások elektromos megfelelőit egycsatornás kompenzográfon regisztráltuk (RADELKIS, Type OH-814/1). 1 órás előinkubáció után noradrenalin (0,1  $\mu\text{mol/l}$ –100  $\mu\text{mol/l}$ ) dózis-hatás görbét vettünk fel, majd a katekolamint alaposan kimostuk. A nyugalmi tenzió visszaállítása után 1  $\mu\text{mol/l}$  noradrenalin (a maximális noradrenalin-hatás 40–60%-át létrehozó koncentráció) aktív tónust váltottunk ki és a tenzió stabilizálódása után alkalmaztuk az adenzint. Az adenzin hatás lezajlása után a preparátumokat többször átmostuk, majd a "steady state" állapot beállása után beadtuk a farmakológiai analízisre használt vegyületet. 50 perces inkubáció után a noradrenalin ismételen aktív tenziót hoztunk létre, majd az adenzin expozíciót megismételtük.

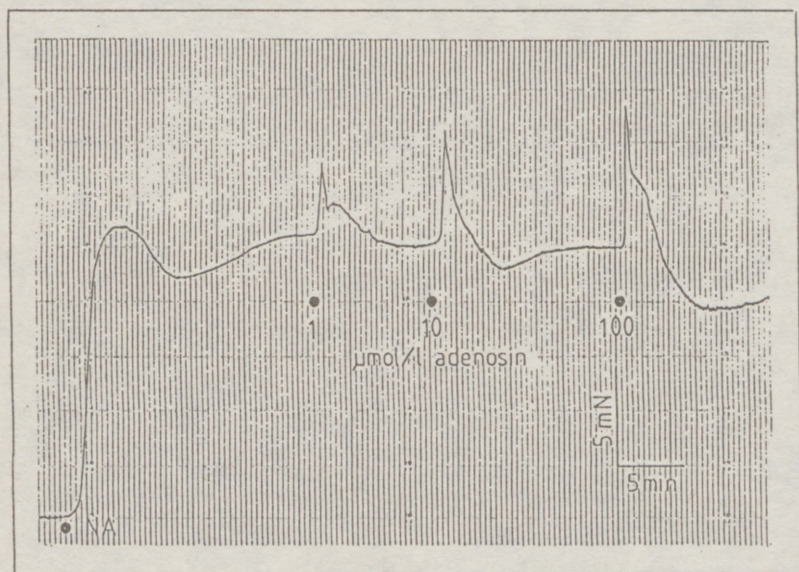
A számszerű eredmények közlésekor mindig a számtani átlagot és a középérték standard hibáját adtuk meg. Az észlelt változások statisztikai szignifikanciáját a páros t-próbával vizsgáltuk.

A kísérletekhez alkalmazott vegyületek a következők voltak: acidum acetylsalicylicum (Ph.Hg.VII); adenzin (Boehringer, Mannheim); adenzin dezamináz (Boehringer, Mannheim); aminophyllin (Richter, Budapest); dipyridamol (Sigma, St. Louis); indomethacin (Sigma, St. Louis); kataláz (Reanal, Budapest); mannitol (Human, Budapest); noradrenalin (Richter, Budapest); nordihydroguaieteric acid (Sigma, St. Louis); phenoxybenzamin (TCI, Tokyo); szuperoxid dizmutáz (Sigma, St. Louis).

### 3. EREDMÉNYEK

#### 3.1. ADENOZIN HATÁSA AZ IZOLÁLT PULMONALIS ARTERIA PREPARÁTUMOK MECHANIKAI AKTIVITÁSÁRA

Izolált, tengerimalac arteria pulmonalis készítményeken noradrenalin (1  $\mu\text{mol/l}$ ) "steady-state" aktív tónust hoztunk létre, majd a szervfürdőhöz emelkedő koncentrációban (1  $\mu\text{mol/l}$ -100  $\mu\text{mol/l}$ ) adagoltuk az adenzint (n=12). Az adenzin az 1. ábrán látható módon bifázisos hatást hozott létre. A purin nukleozid beadását követően



1. ábra

Adenzin hatása izolált, tengerimalac pulmonalis arteria preparátumon (eredeti regisztrátum). NA: 1  $\mu\text{mol/l}$  noradrenalin.

5 mp-en belül nagy felfutási meredekségű kontraktúra fejlődött ki, amelyet lassan kialakuló relaxációs fázis követett. A fázikus kontrakció a vizsgált tartományban ki-

fejezett koncentráció-függést mutatott (ld. 1. ábra ).

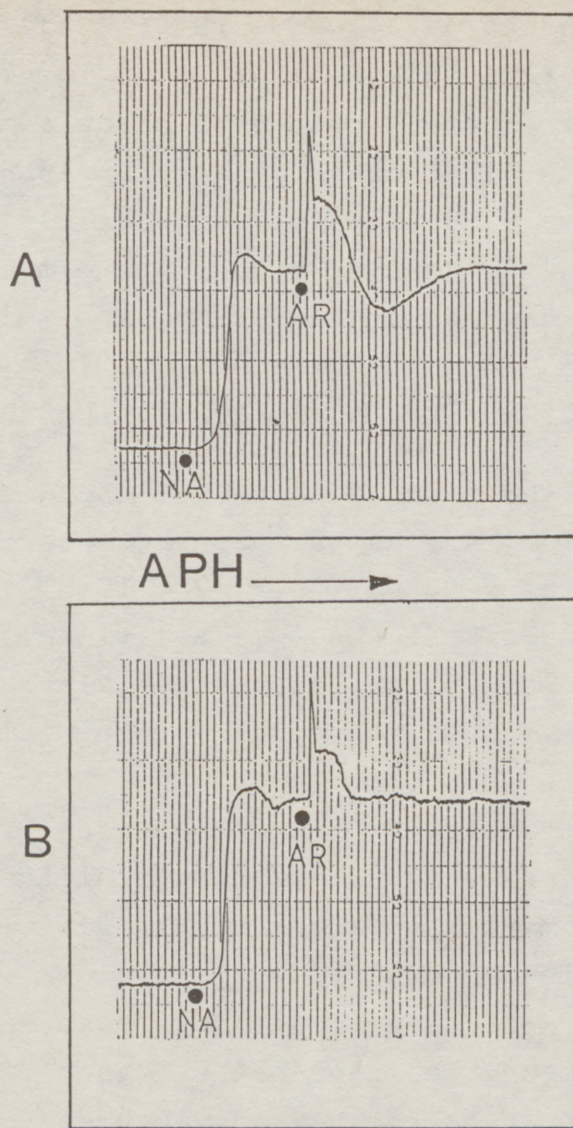
Meg kell jegyeznünk, hogy a hatás  $10 \mu\text{mol/l}$   $\text{PGF}_{2\alpha}$  - által előidézett kontraktúrában is hasonló módon jelentkezett. Nyugalmi állapotban (amikor a preparátumhoz nem adtunk vazokonstriktor anyagot) az adenzin minden koncentrációban indifferensnek bizonyult, sem kontrakciót, sem relaxációt nem hozott létre.

### 3.2. AMINOPHYLLIN HATÁSA AZ ADENOZIN BIFÁZISOS HATÁSÁRA

Ismeretes, hogy az adenzin különböző szöveteken specifikus, ún.  $P_1$ -típusú purinerg receptorokon fejti ki biológiai hatását ( BURNSTOCK, 1978, 1980 ). Az adenzin kompetitív antagonistái közül ma a metilxantin származékok a leghasználatosabbak, amelyeknek klasszikus képviselője az aminophyllin, a theophyllin etiléndiamin származéka.

Megfigyeltük, hogy  $50 \mu\text{mol/l}$  aminophyllinnel történt inkubáció után ( $n=5$ ) az adenzin által létrehozott relaxáció teljes mértékben antagonizálható, míg a kezdeti gyors kontrakció nem módosul ( 2. ábra ).

Mindebből arra következtettünk, hogy a fázikus kontrakció nem purinerg receptor hatás, hanem feltehetően valamilyen endogén vazokonstriktor vegyület felszabadulásával van összefüggésben. A relaxáció aminophyllinnel történő gátolhatósága amellet szól, hogy a hatás  $P_1$  purinerg aktiváció (jelen esetben feltehetően az  $A_2/R_a$  adenzin receptor aktiváció) következménye.



2. ábra

Aminophyllin ( APH ) hatása az adenosin bifázisos hatására tengerimalac arteria pulmonalison. AR: 10  $\mu\text{mol/l}$  adenosin; NA: 1  $\mu\text{mol/l}$  noradrenalin. Az aminophyllin koncentrációja 100  $\mu\text{mol/l}$  volt.

### 3.3. ADENOSZIN DEZAMINÁZ BEFOLYÁSA AZ ADENOSZINNAK AZ ARTERIA PULMONALIS MECHANIKAI AKTIVITÁSÁRA KIFEJTETT EFFEKTUSÁRA

Az adenoszin dezamináz az adenoszin természetes bontóenzime, amely az adenoszint farmakológiai szempontból többé-kevésbé indifferens inozinná és ammóniává alakítja. 5 E/ml adenoszin dezamináz jelenlétében az adenoszin két-fázisú hatása csak annyiban módosul, hogy a kontrakciós és relaxációs fázis időbeli lefutása jelentősen felgyorsul, egyébként sem az első, sem a második fázis amplitúdója nem változik (n=4).

### 3.4. $\alpha$ -ADRENERG AKTIVÁCIÓ SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA AZ ADENOSZIN HATÁSBAN

Ismeretes, hogy bizonyos purin származékok képesek a szövetekből katekolaminokat mobilizálni. Mivel a 3.2. pontban ismertetett kísérleteink alapján felmerült valamilyen endogén eredetű anyag felszabadulásának a lehetősége, ezért elsőként az esetleges katekolamin felszabadulás tényét kellett megerősítenünk, vagy elvetnünk. A kontroll adenoszin hatás lezajlása után a preparátumokat többször átmostuk és az eredeti nyugalmi tenzió visszaállítása után 1  $\mu\text{mol/l}$  phenoxybenzaminnal 30 perces előkezelést végeztünk, majd másfél órán keresztül folyamatosan mostuk a nem kötött phenoxybenzamin (FURCHGOTT, 1954). Megállapítottuk, hogy az irreverzibilis hatású  $\alpha$ -adrenerg gátló szer jelenlétében az adenoszin hatása nem módosul (10  $\mu\text{mol/l}$  adenoszin kontroll körülmények között az aktív tónust  $3,5 \pm 0,44$  mN-al fokozta, míg phenoxybenzamin után  $3,1 \pm 0,42$  mN-al növelte / $p > 0.05$ /, tehát a fázikus kontrakció nem vezethető vissza  $\alpha$ -adrenerg receptor stimulációra.

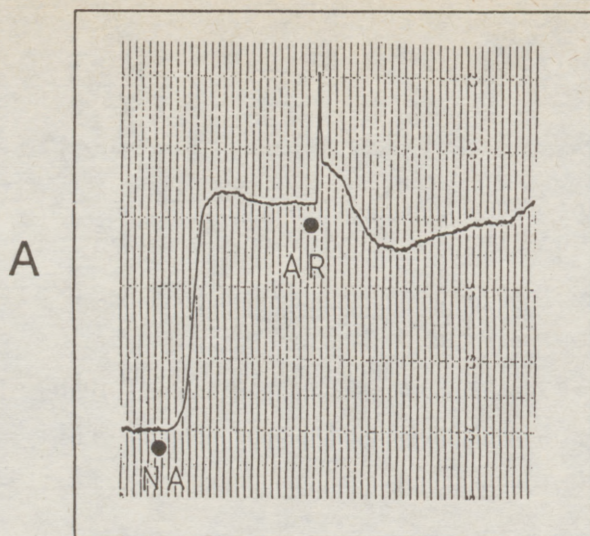
### 3.5. 5-HIDROXITRIPTAMIN FELSZABADULÁS SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA ADENOZIN HATÁS ALATT

A felszabaduló endogén vazokonstriktorok között felmerült a szerotonin-liberáció lehetősége is, ugyanis a vegyület arteria pulmonalis spazmusát hozza létre. 10  $\mu\text{mol/l}$  methylsergid jelenlétében ( $n=3$ ) a kontrakciós válasz mértéke nem változott (10  $\mu\text{mol/l}$  adenzin hatására  $2,9 \pm 0,31$  ill.  $3,2 \pm 0,42$  mN tenzió fokozódás;  $p > 0.05$ ), így a szerotonin felszabadulás jelentősége is nagy valószínűséggel kizárható az adenzin pulmonalis arteriára kifejtett hatásában.

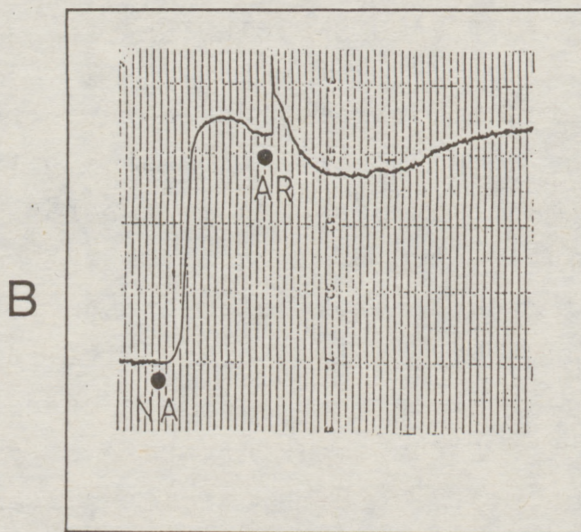
### 3.6. PROSZTAGLANDIN FELSZABADULÁS SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA

A ciklo-oxigenáz út termékei közül a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  és a tromboxán erőteljes érspazmust előidéző hatással rendelkező vegyületek. Mivel az adenzin és a prosztaglandinok által kifejtett szabályozásban egyre inkább előtérbe kerül a kölcsönhatás lehetősége, ezért az adenzin hatás lezajlása és kimosása után a preparátumok egyik csoportját 100  $\mu\text{mol/l}$  aszpirinnel ( $n=4$ ), másik csoportját 5  $\mu\text{mol/l}$  indometacinnal ( $n=4$ ) mint erős ciklo-oxigenáz gátló szerekkel kezeltük elő. Mind az aszpirin, mind az indometacin előkezelés szignifikánsan gátolta az adenzin (10  $\mu\text{mol/l}$ ) által létrehozott vazokonstriktációt. Az aszpirin által kifejtett gátlás  $31,2 \pm 4,1\%$ -os ( $p < 0.01$ ), míg az indometacin által kifejtett gátlás mértéke  $33,4 \pm 3,9\%$  ( $p < 0.01$ ) volt ( 3. ábra ).





Indometacin →



3. ábra

Indometacin (  $5 \mu\text{mol/l}$  ) hatása az adenzin által létrehozott vazokonstrikción. NA:  $1 \mu\text{mol/l}$  noradrenalin; AR:  $10 \mu\text{mol/l}$  adenzin. "A" rész: az indometacin alkalmazása előtti állapot, "B" rész: adenzin hatás az indometacin alkalmazása után.

### 3.7. A LEUKOTRIÉNEK SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA AZ ADENOZIN VAZOKONSTRIKTOR EFFEKTUSÁBAN

A lipo-oxigenáz út termékei, a leukotriének általában a simaizom-elemek spazmusát hozzák létre. A lipo-oxigenáz enzim specifikus gátlószere a nordihidroguajaretinsav, amelyet 10  $\mu\text{mol/l}$  koncentrációban alkalmazva azt találtuk, hogy az adenzin hatás szignifikáns gátlását idézte elő. A vegyület az adenzin ( 10  $\mu\text{mol/l}$  ) által létrehozott vazokonstrikiót  $24,6 \pm 2,7\%$ -al (  $p < 0.05$  ) antagonizálta (n=4).

### 3.8. SZABAD GYÖK BEFOGÓ VEGYÜLETEK HATÁSA AZ ADENOZIN ÁLTAL KIVÁLTOTT VAZOKONSTRIKCIÓRA

Noradrenalinnal kontraktúrába hozott preparátumokon (n=7) 10  $\mu\text{mol/l}$  adenzinnal jellegzetes bifázisos hatást váltottunk ki, majd kimosás után a preparátumokat 100 E/ml szuperoxid dizmutáz, 500 E/ml kataláz és 1 mmol/l mannitol mint szabad gyök befogók jelenlétében inkubáltuk. Azt tapasztaltuk, hogy az ismételten kiváltott aktív tenzió állapotában alkalmazva az adenzin hatás gyakorlatilag nem változott. A fázisos kontrakció nagysága kontroll körülmények között  $3,7 \pm 0,28$  mN, míg a "scavenger"-ek jelenlétében  $3,4 \pm 0,36$  mN volt (  $p > 0.05$  ).

## 4. MEGBESZÉLÉS

A keringésfarmakológiában az adenzin elsősorban mint rendkívül erős hatású endogén vazodilatátor ismert.

Erre az univerzális értágító hatásra épült fel a metabolikus adaptáció adenzin hipotézise ( BERNE, 1963; RUBIO és BERNE, 1969; 1980 ), amely szerint a különböző

szervek keringésének metabolikus szabályozásában az intracelluláris raktárakból (mitokondriális ATP, ciklikus AMP, S-adenozil-homocisztein) hipoxia hatására felszabaduló adenzin elsőrendű szerepet játszik (SCHRADER és GERLACH, 1976; SCHRADER és mtsai, 1977; SCHRADER és SCHÜTZ, 1980).

Mindemellett igen figyelemreméltóak és meglepőek azok a megfigyelések, hogy bizonyos specieszeken és bizonyos értípusokon az adenzin vazokonstriktor aktivitást mutat. Ilyen effektussal rendelkezik az adenzin kutya (HASHIMOTO és KUMAKURA, 1965; OSSWALD és mtsai, 1975), valamint macska veseartériákon (SAKAI és mtsai, 1979), továbbá patkány hátsó végtagi artériákon (SAKAI és AKIMA, 1978).

Mivel az utábbi időben beszámoltunk arról, hogy tengerimalac pulmonalis arterián az adenzin kifejezett kontrakciós választ képes produkálni (CSEPPENTŐ és mtsai, 1987), ezért megvizsgáltuk, hogy az érdekes hatás milyen molekuláris mechanizmusra vezethető vissza.

Megállapítottuk, hogy a válasz nincs összefüggésben az  $A_2/R_a$  típusú adenzin receptorok aktivációjával, ugyanis a specifikus adenzin receptor antagonistá aminophyllin a kontrakciót nem csökkenti, bár az ezt követő relaxációt kivédi. Kísérleteink szerint a hatás nincs kapcsolatban sem a katekolaminok, sem a szerotonin fokozott produkciójával, ugyanis a kontrakciót sem az irreverzibilis  $\alpha$ -adrenerg receptor gátló phenoxybenzamin, sem a szerotonin receptor antagonistá methylsergid nem módosítja.

ZEHL és mtsai (1976) vizsgálatai szerint nyúlshíveken az adenzin fokozott prosztaglandin mobilizációt idéz elő. Mivel ennek a lehetősége tengerimalac pulmonalis artériákon is fennáll, ezért in vitro előkezeléseket

végeztünk két különböző szerkezetű prosztaglandin szintetáz gátló szerrel, aszpirinnel és indometacinnal. Megállapítottuk, hogy mindkét vegyület szignifikánsan gátolja az adenzin által kiváltott vazospazmust. Mindebből arra a következtetésre jutottunk, hogy bizonyos prosztaglandinok felszabadulása, ha nem is kizárólagosan, de szerepet játszhat a kontrakciós effektusban.

A nordihidroguajaretinsavval, mint specifikus lipooxygenáz gátlóval végzett megfigyeléseink felvetették, hogy a hatásban a lipooxygenáz út valamely tagjának vagy tagjainak is szerepe lehet, hiszen a leukotriének kifejezetten spazmogén jellegű vegyületek különböző simaizom preparátumokon. Elképzelhetőnek tartjuk azt is, hogy a lipooxygenáz gátlása révén olyan közti vagy végtermék képződése is megszűnik, amely szabályozza valamely prosztaglandin származék szintézisét, pl. az egyik lipooxygenáz út termék a 15-hidroperoxi-arachidonsav a prosztaciklin szintetáz specifikus gátlószere, így kiesése esetén prosztaciklin felszaporodás következik be ( MONCADA és mtsai, 1976 ).

A prosztaciklinnek a hatásmechanizmus szempontjából kiemelt jelentősége lehet, ugyanis korábbi vizsgálataink szerint ( BEHM és mtsai, 1987 ) a prosztaciklin lebomlását végző 15-hidroxi-prosztaglandin-dehidrogenáz almitrinnel történő gátlása az adenzin vazokonstriktor hatását több mint 100-szorosára fokozza. Feltételezésünknek ugyan ellentmond, hogy a prosztaciklin -az adenzinhoz hasonlóan- mint univerzális vazodilatátor anyag ismert, de vannak közlések, miszerint a prosztaciklin magas koncentrációban alkalmazva pulmonalis arteria preparátumokon kontrakciót is képes előidézni ( HADHÁZY és mtsai, 1985 ).

Az utóbbi években fedezték fel, hogy a vaszkuláris

endothelium nemcsak relaxáló (EDRF) hatású, hanem konstriktor effektussal rendelkező vegyületeket is termelhet (SHIRAHASE és mtsai, 1987). Ezen ún. endothelium-eredetű kontraháló faktorok (EDCF) közül az egyikről feltételezhető, hogy a szuperoxid anionnal azonos (VANHOUTTE és KATUSIC, 1988). Mivel az adenzin esetében is felmerülhet a szuperoxid szabad gyök képződés lehetősége (pl. az adenzin lebomlása során a xantinoxidáz enzim hatására), ezért szabad gyök befogó vegyületek jelenlétében is vizsgáltuk az effektust. A "scavenger"-ek az adenzin által kiváltott fázisos kontrakciót nem befolyásolták, tehát a szuperoxid típusú kontraháló faktor szerepét nagy valószínűséggel ki tudtuk zárni.

Mindezeket összevetve, az eddigi kísérletek alapján úgy látszik, hogy az adenzin okozta bifázisos hatásban a fázisos kontrakcióért részben a ciklo-oxigenáz, részben lipo-oxigenáz produktumok tehetők felelőssé. Eredményeink jó összhangban vannak BIAGGIONI és mtsai (1989) legfrissebb közlésével, miszerint juhokon az adenzin szintén vazokonstriktor hatású és ez a vaszkuláris válaszreakció kivédhető ciklo-oxigenáz gátló indometacinnal és ibuprofénnel, valamint a tromboxán/proszttaglandin endoperoxid receptor antagonistá SQ 29.548-al és a tromboxán szintézis gátlásával.

Úgy tűnik, hogy tengerimalac esetében a proszttaglandin-leukotrién felszabadulás csak részlegesen magyarázza az adenzin konstriktor hatását, a valódi okot valamilyen más jellegű hatásmódban kell keresnünk.

## 5. IRODALOM

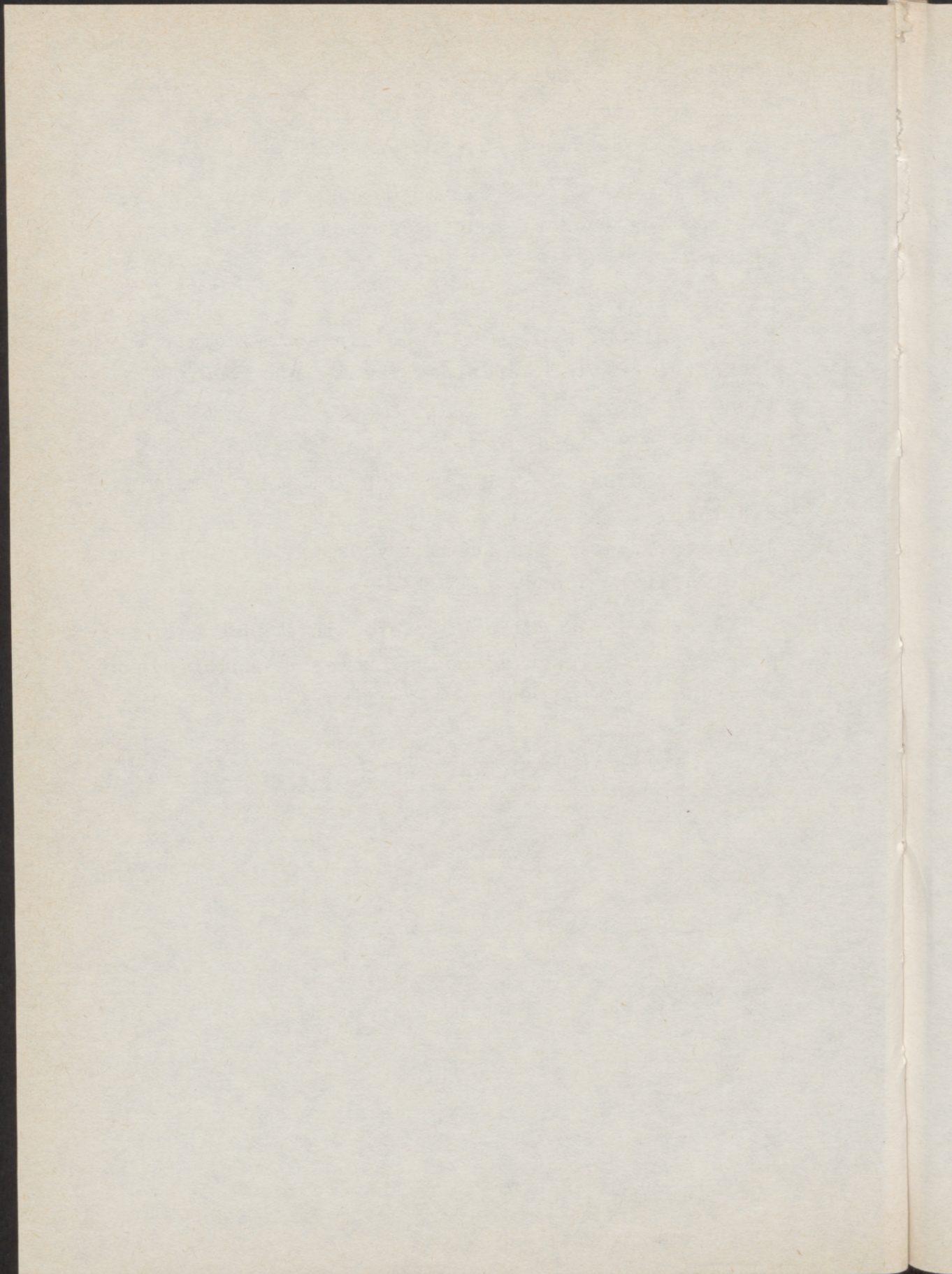
- BEHM R., SZENTMIKLÓSI A.J., CSEPPENTŐ Á., SZEGI J. (1987) Almitrine bismesylate modulates the susceptibility of guinea pig pulmonary artery to catecholamines,  $\text{PGF}_{2\alpha}$  and adenosine. Biomed. Biochim. Acta 12, 953-958
- BERNE R.M. (1963) Cardiac nucleotides in hypoxia: Possible role in regulation of coronary blood flow. Am. J. Physiol. 204, 317-322
- BIAGGIONI I., KING L.S., ENAYAT N., ROBERTSON D., NEWMAN J.H. (1989) Adenosine produces pulmonary vasoconstriction in sheep. Circulat. Res. 65, 1516-1525
- BURNSTOCK G. (1978) A basis for distinguishing two types of purinergic receptor. In: Cell Membrane Receptors for Drugs and Hormones: A Multidisciplinary Approach (Straub R.M., Bolis L., eds.), Raven Press, New York, 107-118
- BURNSTOCK G. (1980) Purinergic receptors in the heart. Circulat. Res. 46, I-175-I-182
- CSEPPENTŐ Á., SZENTMIKLÓSI A.J., SZEGI J. (1987) Biphasic action of adenosine on pulmonary artery of guinea pig. J. Mol. Cell. Cardiol. 19, S14
- DRURY A.N., SZENT-GYÖRGYI A. (1929) The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart. J. Physiol. (London) 68, 213-237

- FURCHGOTT R.F. (1954) Dibenamine blockade in strips of rabbit aorta and its use in differentiating receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 111, 365-384
- HADHÁZY P., MALOMVÖLGYI B., MAGYAR K., DEBRECZENI L.A., HUTÁS I. (1985) Species dependent relaxations of intrapulmonary arteries (IPA) of rabbits, dogs and humans by prostacyclin. *Prostaglandins* 29, 673-688
- HASHIMOTO K., KUMAKURA S. (1965) The pharmacological features of the coronary, renal, mesenteric and femoral arteries. *Jap. J. Physiol.* 15, 540-551
- MENTZER R.M., Jr., RUBIO R., BERNE R.M. (1975) Release of adenosine by hypoxic canine lung tissue and its possible role in pulmonary circulation. *Am. J. Physiol.* 229, 1625-1631
- MONCADA S., GRYGLEWSKY R., BUNTING S., VANE J.R. (1976) A lipid peroxide inhibits the enzyme in blood vessel microsomes that generates from prostaglandin endoperoxides the substance (prostaglandin X) which prevents platelet aggregation. *Prostaglandins* 12, 715-737
- OSSWALD H. (1975) Renal effects of adenosine and their inhibition by theophylline. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 288, 79-86
- RUBIO R., BERNE R.M. (1969) Release of adenosine by the normal myocardium in dogs its relation to the regulation of coronary resistance. *Circulat. Res.* 25, 407-415

- RUBIO R., BERNE R.M. (1980) Localization of purine and pyrimidine nucleoside phosphorylases in heart, kidney and liver.  
Am. J. Physiol. 239, H721-H730
- SAKAI K., AKIMA M. (1978) Vasoconstriction after adenosine and inosine in the rat isolated hindlimb abolished by blockade of tryptaminergic mechanisms.  
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 302, 55-59
- SAKAI K., AKIMA M., NABATA H. (1979) A possible purinergic mechanism for reactive ischaemia in isolated, cross-circulated rat kidney.  
Jap. J. Pharmacol. 29, 235-242
- SCHRADER J., GERLACH E. (1976) Compartmentation of cardiac adenine nucleotides and formation of adenosine.  
Pflügers Arch. 367, 129-135
- SCHRADER J., HADDY F.J., GERLACH E. (1977) Release of adenosine, inosine and hypoxanthine from the isolated guinea pig heart during hypoxia, flow-auto-regulation and reactive hyperemia.  
Pflügers Arch. 369, 1-6
- SCHRADER J., SCHÜTZ W. (1980) Effect of l-homocysteine on the release of adenosine formed by the hypoxic heart.  
Proc. Int. Union. Physiol. Sci. 14, 688
- SHIRAHASE H., USUI H., KURAHASHI K., FUJIWARA M., FUKUI K. (1987) Possible role of endothelial thromboxane A<sub>2</sub> in the resting tone and contractile responses to acetylcholine and arachidonic acid in canine cerebral arteries.  
J. Cardiovasc. Pharmacol. 10, 517-522



- SZENTMIKLÓSI A.J., CSEPPENTŐ Á., SZEGI J. (1986) Purin-  
ergic receptors in vascular smooth muscle.  
Acta Physiol. Hung. 68, 283-284
- VANHOUTTE P.M., KATUSIC Z.S. (1988) Endothelium-derived  
contracting factor: endothelin and/or superoxide  
anion ?  
TIPS 9, 229-230
- WAHL M., KUSCHINSKY W. (1976) The dilatatory action of  
adenosine on pial arteries of cats and its inhibi-  
tion by theophylline.  
Pflügers Arch. 362, 55-59
- WICKLUND N.P., CEDERQUIST B., MATSUDA H., GUSTAFFSON L.  
E. (1987)  
Adenosine can excite pulmonary artery.  
Acta Physiol. Scand. 131, 477-478
- ZEHL U., RITTER C., FÖRSTER W. (1976) Influence of  
prostaglandins upon adenosine release and of adeno-  
sine upon prostaglandin release in the isolated  
rabbit heart.  
Acta Biol. Med. Germ. 35, K77-K82



III.

A KARDIOVASZKULÁRIS RENDSZER  
FUNKCIONÁLIS AKTIVITÁSÁNAK VÁLTOZÁSAI  
PATOLÓGIÁS KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT

A

J

az  
mut  
tek  
me  
ser  
sz  
gi  
kö  
19  
ér  
na  
ho  
ga  
ta  
to  
fe

# AZ ATRIÁLIS NATRIURETIKUS PEPTID HATÁSA A NORMÁL ÉS ISCHAEMIÁS KOSZORÚERES KERINGÉSBEN

JUHÁSZ-NAGY SÁNDOR, KÉKESI VIOLETTA ÉS TÓTH MIKLÓS

Semmelweis Orvostudományi Egyetem, Ér- és Szívsebészeti Klinika, Budapest

A legutóbbi évek során egyre fokozódó érdeklődés nyilvánult meg az atriális natriuretikus peptid (ANP) vazorelaxációs hatásában megmutatkozó szervenkénti regionális sajátosságok és az egyes érterületek közötti ilyenértelmű különbségek iránt. E diuretikus hormon, mely vasoaktivitásán kívül számos más aktivitással is rendelkezik, semmiképpen nem tekinthető konvencionális értágító ágensnek. A koszorúérkeringésben már alap-effektusa sem ellentmondásmentes: értágító hatásmódja mellett alkalmazásának vazokonstrikciónak vezető következményeit is leírták (Hintze és mtsai 1985, Wangler és mtsai 1985). Úgy tűnik továbbá, hogy a vaszkuláris símaizomzat ANP iránti érzékenysége nem egyenletes eloszlású a koronáriák érelágazódásainak mentén (Chu és Cobb 1987). Ezért nem közömbös annak felderítése, hogyan hat az ANP regionális myocardium ischaemiában, amikor a "nyugalmi" koronária rezisztencia is már eleve kórosan inhomogén. Jelen tanulmányunkban a figyelmet főként az utóbbi problémára összpontosítottuk, kiindulási pontnak véve az ANP-nek a normál koszorúerekre kifejtett hatását.

## Anyag és módszer

Itt ismertetendő kísérleteinkben 12, 10-23 kg súlyú korcs kutyát használtunk. Intravénás pentobarbitál (30-35 mg/kg) adása után az állatokat szobalevegővel mesterségesen lélegeztettük endotrachealis tubuson keresztül. A mellkast a negyedik bordaközben végzett transzsternális thoracotomiával tártuk fel, majd a pericardium hosszanti felmetszése után a szívet a belőle képzett bölcsőben függesztettük fel.

Hat preparátumon az a. coronaria sinistra elülső leszálló ága (a LAD-artéria) reprezentálta az ép koszorúér keringést. Az erek eredéséhez közel 8-12 mm szakaszon szabaddá tettük, hogy áramlásmérő fejet illeszthessünk rá. Ez utóbbit Statham SP 2201 típusú elektromágneses áramlásmérőhöz csatlakoztattuk és folyamatosan mértük mind a fázikus mind az integrált ("közép") vérátfolyást. Hat közül három esetben derékszögben hajlitott igen vékony (23 gauge) tűt vezetünk a lumenbe a mérőfejtől disztálisan a peptid közvetlen, intracoronariás infúziója céljából. A tű-kanül bealvadását heparinizált fiziológias sóoldat lassú rátával való (0.15 ml/min) állandó infúziójával gátoltuk.

Hat további kutyában csupán rövidebb (3-4 mm) szakaszon preparáltuk a LAD-artériát felső és középső harmadának határán, majd az erek elzárva a balkamra izomtömegének mintegy 1/5-1/4 részét ischaemiássá tettük. A vizsgálatokat az ischaemia stabilizált fázisában, 1 órával a LAD okklúziója után kezdtük meg. Ezekben a preparátumokban a balkamra véráramlását a kanülözött sinus coronariusból kifolyó mennyiség képviselte, melyet extracorporális elektromagnetikus áramlásmérő fejjel mértünk; a sinus-áramlást a természetes nyomásgradiens juttatta vissza a szisztémás keringésbe az egyik oldali v. femoralis csonkján keresztül. Az artériás vérnyomást valamennyi állatban a femorális artériában mértük Statham jelátalakító (P 23 Db) segítségével. A haemodynamikai paramétereket négycsatornás Hellige regisztrálón rögzítettük.

Az ischaemiás szívek subpicardiális véráramláseloszlására kifej-

tett hatást számítógépes infravörös kardio-teletermográfiával vizsgáltuk, mely a szív felszínéről történő áramlás-függő hőemissziót érzékeli. A kardiális termogramokat megfelelő kamerával (AGA 750 Thermovision) vettük fel, mágneses szalagon rögzítettük, a jellemző fázisokban fényképeztük ill. "Thermos" (Sz.K.I.) rendszerrel matematikailag értékeltük. Az érzékelő rendszer szenzitivitása 5 °C-t fogott át. A termogramok komputerizált értékelését a szív három régiójára lebontva végeztük: külön-külön vizsgáltuk az ischaemiás balkamrai, a nem-ischaemiás (a széli zónát képviselő) balkamrai és a jobbkamrai régió hőemisszióját. Ismerve a szóbanforgó areák kiterjedését (a termográfiás pixelek számát) és hőemissziós profilját, a terület véráramlással arányos átlaghőmérséklete a komputer program segítségével megadható.

A diuretikus peptidet hANP (1-28) formájában alkalmaztuk, mely a keringésbeli frakciónak felel meg (Needleman 1988). A normál preparátumok esetén i.v. bólust (1-16 µg/kg) vagy intrakoronáriás infúziót (0.25-8.0 µg/min) alkalmaztunk. Myocardialis ischaemiában az állatok 10 µg/kg-os dózist kaptak gyors bólus formájában, melyet 5 percen át 2 µg/kg/min i.v. infúzió követett; ily módon a teljes adag 20 µg/kg-nak felelt meg.

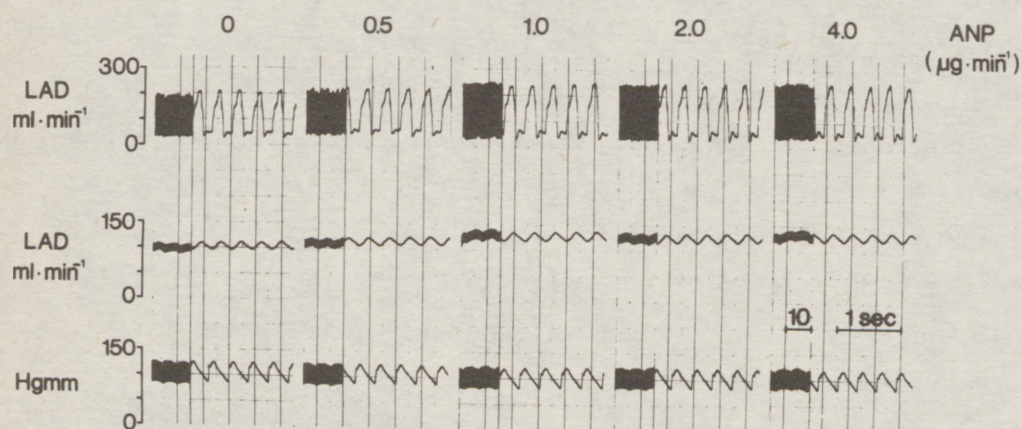
Eredményeink számított értékét átlag  $\pm$  SEM formájában adjuk meg. A statisztikai értékelésre az egy- ill. kétmintás  $t$ -tesztet használtuk.

### Eredmények

A szisztémásan, gyors bólusként injiciált ANP csak igen mérsékelten csökkentette a koronária tónust akár nagy dózisok alkalmazása esetén is. A számított koronária érellenállás megkisebbedését éppúgy lehetett értelmezni az ágens hatását kísérő átmeneti vérnyomáseséshez való alkalmazkodással, mint direkt értágulattal tekintve, hogy az áramlás abszolút mértéke nem vagy alig növekedett.

Hogy e változást elkülöníthessük a triviális autoregulatív válaszreakciótól, 3 preparátumon az ANP-t intrakoronáriásan infundál-

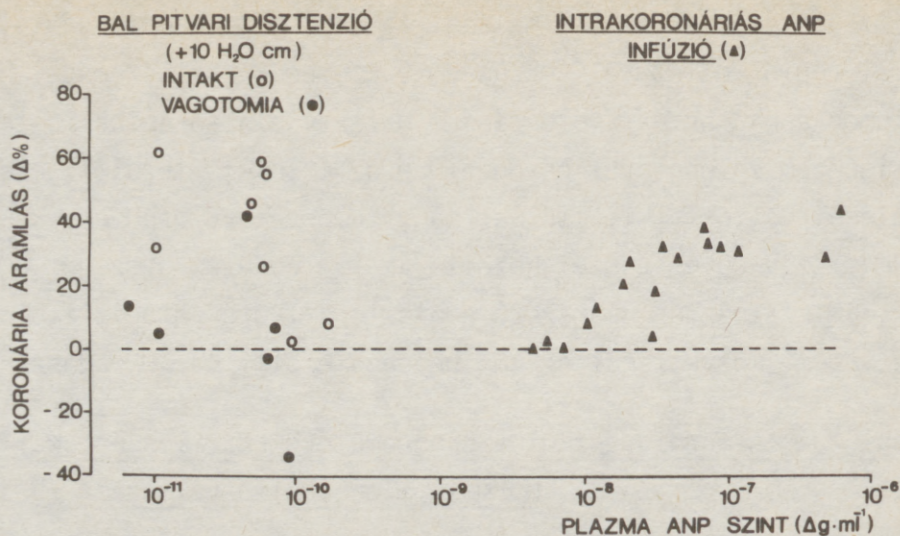
tuk, amikor is vérnyomás-változást az ágens beadása nem hozott létre. A LAD-ba infundált ANP dózis-függő módon növelte az áramlást az érintett érmederben. A válasz maximuma a 30 %-os áramlásfokozódást nem haladta meg. Tipikus reakciót szemléltet az 1. ábra.



1. Ábra. A koronáriakeringésbe infundált ANP értágító hatása. A fázikus és a közép áramlás egyensúlyi reakciói. A vérnyomás mindvégig változatlan maradt.

A plazma koncentráció függvényében ábrázolt individuális válaszokat a 2. ábra összegzi. Ezeket az összefüggéseket figyelemreméltó összevetnünk egy korábbi kísérletsorozatunk adataival, melyeket a bal pitvar nagy intrakavitális ballonnal történő feszítése során nyertünk (Tóth M és mtsai 1990). E kísérletekben a bal pitvari nyomás 10 H<sub>2</sub>O cm-rel történő növelése szubmaximális ANP szekréciót váltott ki; a választ csekély szisztémás haemodinamikai egyensúlyeltolódás (mérsékelt hipotenzió és perctérfogatcsökkenés) mellett szignifikáns tachycardia és - ép vagusok esetén - koronária áramlás fokozódás kísérte (Tóth P és mtsai 1990). Jelen vizsgálatsorozatunkban azonban az ANP infúzió csupán olyan plazmakoncentráció elérése esetén idézett elő egyértelmű koronária tágulatot, mely legalább két nagyságrenddel meghaladta a "természetes" ingerre szecernálódó peptid artériás plazmakoncentrációját. Ily módon az exogén és endogén ANP hatások egybevetése a koronária keringésbe infundált peptid effektust farmakológiai hatásként karakterizálja, azaz a koronária





2. Ábra. Koronária áramlási válaszok az intrakoronáriásan infundált ANP plazma koncentrációjának függvényében (jobboldalt 3 preparátum egyesített adatai). Baloldalt összehasonlításként szerepelnek Tóth M. és mtsai (1990) és Tóth P. és mtsai (1990) eredményei: nagy bal-pitvari nyomásemelés hatására kialakuló ANP szint változások több nagyságrendileg eltérő dimenzióban zajlanak le. (RIA-val mért ANP felszabadulás 8 preparátumon.)

tágulat küszöbdózisának meghatározása nem támogat (igaz, biztosan nem is cáfol) egy olyan feltételezést mely szerint a "nativ" peptid jelentősen hozzájárulna a myocardialis vérellátás rövid távú regulációjához.

A párhuzamosan elvégzett termográfiás vizsgálatok igazolták a myocardium-felszín felmelegedését minden olyan esetben, amikor a beavatkozás legalább 30 sec-ig tartó áramlásfokozódást hozott létre. Ennek megfelelően a szívfelszíni hőemisszió fokozódását, mint jól reprodukálható jelenséget a myocardium megnövekedett vérellátásával ekvivalens állapotnak tekinthettük; e feltevést egyébként korábban már publikált nagyszámú olyan bizonyíték támasztja alá, melyet a szóbanforgó összefüggés széleskörű elemzése céljából végzett kísérletekben nyertünk (Papp és mtsai 1985).

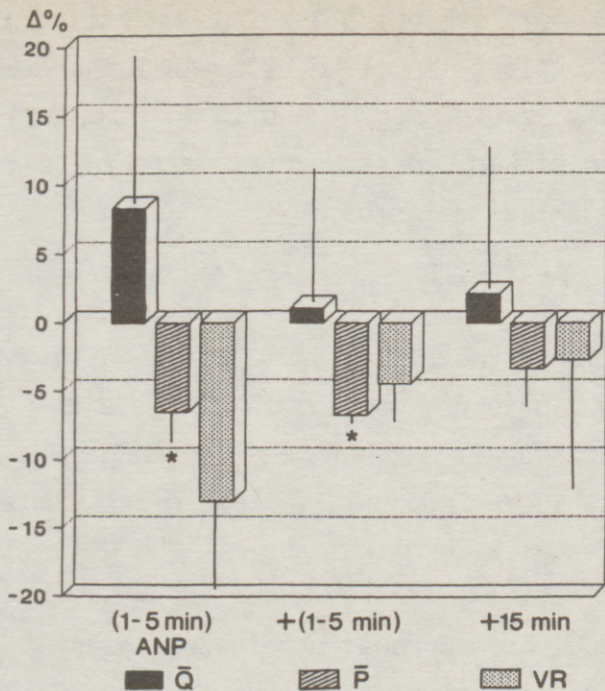
Mindennek megfelelően a termográfiás technikát használtuk fel ar-

ra, hogy meghatározzuk az ANP hatását az akutan ischaemiássá tett bal kamrai régió kollaterálisok útján végbemenő vérellátására. Hat preparátumon a LAD artéria elzárása a balszív elülső apicalis területének ischaemizálódásával párhuzamban az érintett terület jelentős lehűlését váltotta ki, miáltal nagy temperatura grádiensek keletkeztek a szív egyes részei között. Az I. Táblázat összegzi a kóros hőmérsékleteloszlás számszerű adatait az 1 órás stabilizációs periódus végén, közvetlenül az ANP beadása előtt. Az ANP adása kis-

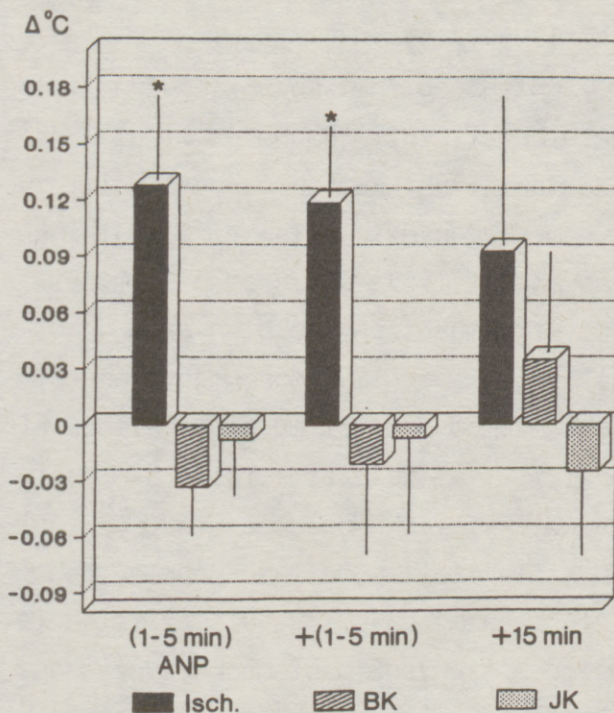
I. Táblázat. A kardiovaszkuláris paraméterek bázikus értékei

	<u>Normál</u>	<u>Ischaemiás változás</u>	<u>P</u>
Középvérnyomás (Hgmm)	110 ± 12	-8 ± 7	N.S.
Sinus coronarius áramlás (ml/min)	33.7 ± 6.2	-2.8 ± 8.3	N.S.
<u>Temperatura grádiensek (Δ °C)</u>			
Ischaemia - balkamra		-0.71 ± 0.09 <	0.001
Ischaemia - jobbkamra		-0.72 ± 0.08 <	0.001
Balkamra - jobbkamra		-0.01 ± 0.06	N.S.

mérvű de szignifikáns vérnyomás csökkenést váltott ki, melyhez variabilis és viszonylag rövid ideig tartó koszorúéráramlás változás társult. Az utóbbi effektus statisztikai értelemben nem bizonyult következetesnek, mivel mértéke preparátumonként jelentősen különbözött. Ugyanez állt a koronáriák vaszkuláris érellenállásának csökkenésére (3. ábra). Ugyanakkor a komputerizált eljárással értékelt termogramok hőeloszlásának változása arra utalt, hogy az ANP vaszkuláris hatása a regionálisan ischaemiás szíven nem egyenletes jellegű (4. ábra). A peptid vazodilatátor effektusa jóval kifejezettebbnek mutatkozott a kollaterálisok által táplált régióban mint az ischaemiától közvetlenül nem érintett széli balkamrai zónában, ahol az esetek többségében ilyen hatás fel sem lépett, sőt ahol alkalmanként áramláscsökkenés mutatkozott. A jobb kamrát ellátó ko-



3. ábra ANP kezelés hatása regionális szívizom ischaemiában (n=6). A haemodynamikai paraméterek százalékos változásai ( $\bar{Q}$  sinus áramlás,  $\bar{P}$  középvérnyomás, VR vaszkuláris rezisztencia). Az oszlopok első és középső csoportjai 5-5 percnyi időtartamra vonatkozó idő-integrált átlagértékeket reprezentálnak. \*  $p < 0.05$  (A kísérletek során 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  össz mennyiségben kaptak ANP-t a kutyák.)



4. ábra A termográfiaán meghatározott sub-epicardialis középfőmérséklet regionális változásai. Azonos preparátumok mint a 3. ábrán. (Isch ischaemiás terület, BK balkamra, JK jobbkamra). Megfigyelhető az ANP tartós hatása az ischaemiás zónában.

szorúérhálózat reakciója, melyet az ischaemiás inzultus közvetetten sem érintett, szintén az utóbbi válasz-típust követte. Az ischaemiás "vazodilatáció" elnyújtott volta szintén megkülönböztette e választ mind a környező myocardium területeken kibontakozó ANP effektustól, mind pedig a generális haemodynamikai hatástól.

### Megbeszélés

Vizsgálataink sajátos körülményei között a koronáriákba juttatott nagydózisú ANP az ottani értónus hatékony modulátoraként jelenítődött meg. Ezek az észlelések azt sugallják (bár végérvényesen nem bizonyítják), hogy az ANP koszorúérkeringésbeli feltételezett szabályozó szerepe összetettebb jellegű és komplikáltabb mint ahogyan eredetileg vélték.

Az ANP-t általában közvetlenül ható koronária relaxáns ágensnek tartják, bár ez a vélemény korántsem egyöntetű: néhány szerző koszorúérszűkítő hatásról számolt be (Hintze és mtsai 1985, Wangler és mtsai 1985), mások pedig nem észleltek koronária tónus változást ANP adása után (Iwanaga és mtsai 1988).

Azon vizsgálatokban viszont, ahol a peptidet közvetlenül juttatták be az in situ szív koszorúereibe altatott (Bache és mtsai 1988) vagy nem narkotizált (Laxson és mtsai 1988) kutyákon, mérsékeltfokú áramlásnövekedést tapasztaltak, ami megegyezik jelen vizsgálataink észleléseivel. Ugyanakkor Chu és mtsai (1989) és Foreman és mtsai (1989) bár nem voltak képesek egyértelmű bizonyítékot nyerni a kollaterális keringés útján táplált régiók vérellátásának javulására ischaemiás kutya szíven, indirekt haemodynamikai mutatók változásai alapján az intramurális érhálózat ill. az interarteriális összekötő ágak "rejtett" értágulatát tételezték fel ANP beadása után. A krónikus szívelégtelenség patkányban kialakított modelljén Drexler és mtsai (1987) a szívizom vérellátásának mérsékelt javulását írták le ANP adására, míg szívelégtelenségben szenvedő pácienseken Herrmann és mtsai (1989) észlelték a koszorúerek ellenállásának valamelyes (10 %-ot túl nem lépő) csökkenését szintetikus ANP infúzióját köve-

tően. A némileg ellentmondásos kísérleti eredményeket esetleg az magyarázhatja, hogy az ANP koronária effektusának jellege járulékos faktoroktól is függ, mint amilyen az erek eleve fennálló  $\alpha_1$  (de nem  $\alpha_2$ ) adrenerg vazokonstriktor tónusa (Faber és mtsai 1989), vagy a nagyobb (konduktív) koszorúérágak részvételének relatív mértéke a lokális érellenállásban; a konduktív érszegmentumokat ugyanis - úgy látszik - szelektív és elnyújtott válaszkészség jellemzi a peptid iránt (Chu és Cobb 1987, Adachi és mtsai 1989).

Saját jelen észleléseink jól összeegyeztethetőnek tűnnek ez utóbbi következtetésekkel. Eredményeink azt bizonyítják, hogy az ANP farmakológiai dózisban alkalmazva mérsékelt hatékonyságú koronária dilatátor ágens mind a normál mind az ischaemiás szíven. A közvetlen haemodinamikai módszerekkel mért nem-ischaemiás myocardialis vérellátásra gyakorolt hatás tekintetében a peptidet számtalan ismert ágensnél gyengébb értágító effektus jellemzi, nem csupán e moláris hatékonyságra, hanem a vazodilatáció tartományának szélességére vonatkoztatva is. Ugyanakkor regionális myocardium ischaemiában az ANP kétségtelenül csökkentette az áramláseloszlás ischaemiás inhomogenitását, és ez a hatás meglehetősen tartósnak bizonyult. Az ischaemiával akutan károsított szívizom vérellátására gyakorolt ANP effektus megintcsak nem volt tulzottan nagymérvű, ám ezt egyrészt olyan - egyéb tekintetben alig effektív - peptid-dózis váltotta ki, mely ép szíven alig módosította a koronária tónust, másrészt a kollaterális vérellátás és az akut koronária elzáródás után kialakuló szívizom-infarktusz kiterjedése közötti szoros fordított arányosság ismeretében (Flameng és mtsai 1989) a vérellátás viszonylag csekély növeléséből is esetleg számottevő javulás eredeztethető. Ilymódon az éppen kialakuló ischaemiás myocardium károsodás esetén az ANP-vel (vagy analógjaival) történő kezelés számbaveendő klinikai lehetőségnek látszik. Ennek jövőbeni bevezetése azonban csak a peptid hatásmódjának közelebbi tisztázása után kerülhet elérhető közelségbe.

## Konklúzió

Az atrialis natriuretikus peptid (ANP) farmakológiai dózisban alkalmazva az in situ kutyaszív koszorúérkeringésében értágulatot vált ki és szelektív módon növeli az akutan ischaemiássá tett kamrai régió kollaterálisok útján végbemenő vérellátását.

## Irodalom

Adachi H, Tomoike H, Nishijima H, Egashira S, Nakamura M (1989): Sustained dilatation of large coronary artery by  $\alpha$ -human atrial natriuretic peptide in conscious dogs: a comparison with nitroglycerin. *Eur J Pharmacol* 161: 189-196

Bache RJ, Dai XZ, Schwartz JS, Chen DG (1988): Effects of atrial natriuretic peptide in the canine coronary circulation. *Circ Res* 62: 178-183

Chu A, Cobb FR (1987): Effects of atrial natriuretic peptide on proximal coronary arteries and coronary blood flow in conscious dogs. *Circ Res* 61: 485-491

Chu A, Stakely A, Lin CC, Cobb FR (1989): Effects of atrial natriuretic peptide on transmural blood flow and reactive hyperemia in the presence of flow-limiting coronary stenosis in the awake dog: evidence for dilation in the intramural vasculature. *Circ Res* 64: 600-606

Drexler H, Finkh M, Höing S, Tóth M, Just H, Lang RE (1987): Systemic and regional vascular effects of atrial natriuretic peptide in a rat model of chronic heart failure. *Basic Res Cardiol* 82: 517-529

Faber JE, Gettes DR, Gianturco DP (1988): Microvascular effects of atrial natriuretic factor: Interaction with  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -adrenoceptors. *Circ Res* 63: 415-428

Flameng W, Vanhaecke J, Lesaffre E (1989): Limitation of experimental infarct size in dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 14: Suppl 9, S29-S33

Foreman B, Dai XZ, Homans DC, Laxson DD, Bache RJ (1988): Effect of atrial natriuretic peptide on collateral coronary blood flow. *Circ Res* 65: 1671-1678

Herrmann HC, Palacios IF, Dec GW, Scheer JM, Fifer MA (1988): Effects of atrial natriuretic factor on coronary hemodynamics and myocardial energetics in patients with heart failure. *Am Heart J* 115: 1232-1238

Hintze T, Currie MG, Needleman P (1985): Atriopeptins: renal specific vasodilators in conscious dogs. *Am J Physiol* 248: H587-H591

Iwanaga R, Hori S, Suzuki H, Nakajima S, Saruta T, Kojima S, Fukuda K, Satoh T, Kusuhara M, Handa S, Nakamura M, Yoshinaga K, Yamaguchi K (1988): Cardiovascular effects of intravenous and intracoronary administration of atrial natriuretic peptide in halothane anesthetized dogs. *Life Sci* 42: 1279-1286

Laxson DD, Dai XZ, Schwartz JS, Bache RJ (1988): Effects of atrial natriuretic peptide on coronary vascular resistance in the intact awake dog. *J Am Coll Cardiol* 11: 624-629

Needleman P (ed) (1988): *Biological and Molecular Aspects of Atrial Factors*. Alan R Liss, New York

Papp L, Álló G, Szabó Z, Juhász-Nagy A (1985): Natural history of acute regional myocardial ischaemia revealed by infrared thermography in the canine heart. *Acta Morph Hung* 33: 123-142

Papp L, Álló G, Kékesi V, Juhász-Nagy A (1985): Correlation between coronary flow and epicardial temperature determined by quantitative infra-red thermography. *IRCS Med Sci* 13: 621-622

Tóth M, Tóth P, Lang RE, Juhász-Nagy A (1990): Influence of vagotomy on elevated plasma ANP levels elicited by veratrine infusion or atrial distension in the dog. *Am J Hypertension* 3: 88A

Tóth P, Tóth M, Lang RE, Juhász-Nagy A (1990): Left atrial distension induces coronary vasodilation independently of cardiac ANP release. *Am J Hypertension* 3: 87A

Wangler RD, Breuhaus BA, Otero HO, Hastings DA, Holzman MD, Saneii HH, Sparks HV Jr, Chimoskey JE (1985): Coronary vasoconstrictor effects of Atriopeptin II. *Science* 230: 558-561



# AZ EICOSANOIDOK SZEREPE CUKORBETEGSÉGBEN A KOSZORÚÉR-KERINGÉS SZABÁLYOZÁSÁBAN

POGÁ TSA GÁBOR

Országos Kardiológiai Intézet, Kutatási Osztály, 1450 Budapest, Postafiók 9-88.

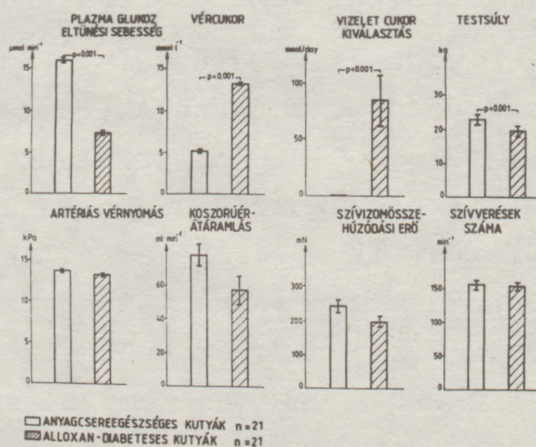
Századunk harmicas éveiben Goldblatt (12), majd von Euler (34) írta le a juhok herevialadéka- és az emberi plazma zsirkivonatának vérnyomáscsökkentő hatását. Ezeknek a kivonatoknak biológiai szempontból hatásos anyagát az eicosanoidokat, mintegy harminc évvel később sikerült csak izolálni, és jelenlétüket bizonyítani a testnedvek többségében (2,3). Az eicosanoidok, vagy más néven prostanoidok illetve prostaglandinok a zsirsavak előanyagai és a phospholipidek összetevői. Így fontos szerepet játszanak a sejthártyák szerkezeti és működési épségének megőrzésében (22). Az eicosanoidok nem raktározódnak a szövetekben, megjelenésük tehát "de novo" szintézis eredménye (22). A legtöbb eicosanoid a tüdőn vagy májon áthaladva gyorsan elbomlik és végterméke kiválasztódik a vesében (22).

Eicosanoid-képző rendszer jelenlétét a szivizomban Limas és Cohn (23) igazolta először a hetvenes évek ele-

jén. A szivben a legjelentősebb eicosanoid a prostacyclin (8). Sorsa eltér a többi vegyületétől, mivel nem dehydrogenálódik a tüdőben vagy a májban, hanem 6-keto-PGF<sub>1α</sub> vegyületté hydrolyszálódik minden vizes oldatban (22). A prostacyclin döntően a koszorúerekben (25), kisebb mértékben a szivizomsejtekben (4) és a pericardiumban (9,26) képződik. A thromboxan-B<sub>2</sub> a második legjelentősebb eicosanoid a felnőtt szivizomsejtekben (4), de kimutatható ebben a szervben prostaglandin-E<sub>2</sub> és prostaglandin-F<sub>2α</sub> jelenléte is (14). A szivizomban az eicosanoidok képződését számos fizikai és kóréletteni tényező, valamint hormon és gyógyszer befolyásolja. A koszorúér vénák intimájának traumája például fokozza a thromboxan megjelenését a vérben (1). A dohányzás csökkenti a prostacyclin termelést (10). A catecholaminok (13) és az angiotensin (24) növeli a prostaglandin képződését. Az életkor előrehaladásával az endoperoxidokból inkább prostacyclin és thromboxan képződik, mint prostaglandin-E<sub>2</sub> vagy prostaglandin-F<sub>2α</sub> (15). A szivben az eicosanoid képződés legerősebb ingere a hypoxiában (35) vagy ischaemiában (21) fellépő oxygen hiány.

Colwell, Chambers és Laimins (5) utalt először arra, hogy cukorbetegségben a keringési zavarokat és a thrombocyta-aggregatio-fokozódást a prostacyclin- és thromboxan képződés zavara okozza. A hetvenes évek vége óta ismert, hogy cukorbetegségben megnő az erek összehúzóási hajlama az agyban (6), a kötőhártyában (33), a szivben (27,28), a végtagokban (11,28) és a bőrben (11). Annak érdekében, hogy a cukorbetegségben észlelhető fokozott érösszehúzóási hajlam kialakulásában az eicosanoidok esetleges szerepéről tájékozódhassunk, 560 μmol/kg alloxan tetrahydrat intravénás adásával, ketoacidozishoz nem vezető, manifeszt diabetest idéztünk elő

mindkét nemű, korcs kutyákban. A keringési vizsgálatokat három hónappal a cukorbetegség előidézése, illetve az inzulinkezelés megkezdése után végeztük. Az ábrák az átlag és a standard error értékeket tüntetik fel. A dózishatás görbéknél a biometriai értékelés az egyenesek meredeksége közötti különbséget mutatja. Három hónappal a diabetes (1. ábra) előidézése után, a prostacyclinnek a koszorúérbe közvetlenül adott növekvő adagjai kisebb mértékű értágulást váltanak ki, mint az anyagcsere szempontjából egészséges állatokban (17,18, 20). Az endogen prostaglandin-képződést bénító cyclooxygenase gátlókkal - indomethacinnal vagy acetylsalicylsavval - történő előkezelés cukorbetegségben fokozza, egészséges kontrollokban ellenben mérsékeli a prostacyclin koszorúértágító hatását (17, 18,20) (2.ábra). A prostaglandin- $F_{2\alpha}$ -nak közvetlenül a koszorúérbe adott növekvő adagjai, mind

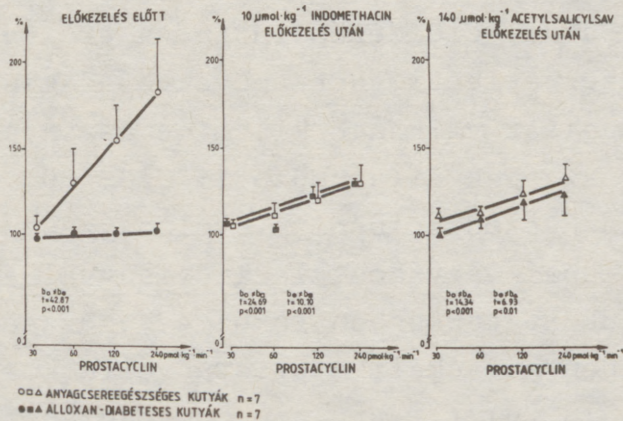


1. ábra

Anyagcsere és keringési változók alakulása.

egészséges, mind cukorbeteg állapotban azonos mértékű azonnali érösszehúzódást váltanak ki (16). Indomethacin vagy acetylsalicylsav előkezelés csak az egészséges-

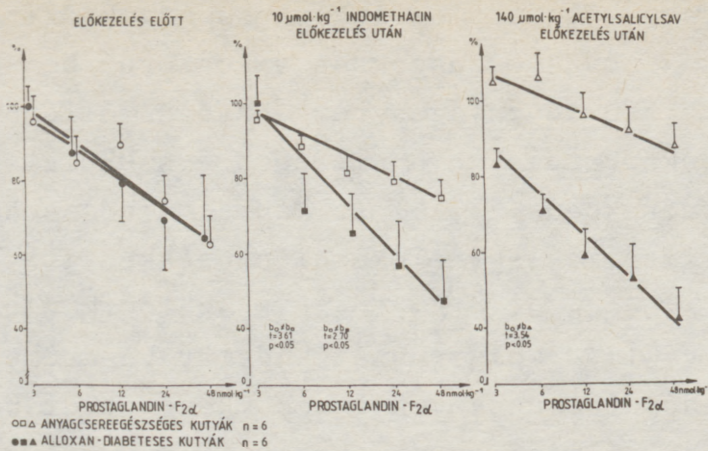
kontrollokban mérsékeli a prostaglandin- $F_{2\alpha}$  hatására bekövetkező azonnali érösszehúzódást. Tehát cyclooxygenase bénítás esetében, jelentős különbség észlelhető az egészséges és diabeteses állapot között (16) (3.ábra). Megfigyelésünkhöz hasonlóan Reibel és munkatársai (32)



2. ábra

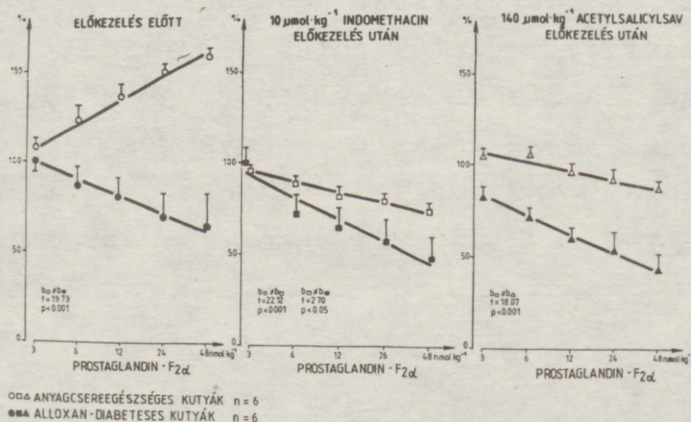
A koszorúérágrendszer vezetőképességének alakulása prostacyclin adása során cyclooxygenase-bénítő előkezelés előtt és után.

fokozott érösszehúzódást mutattak ki a koszorúerekben a vasoconstrictor tulajdonságú prostaglandinok hatására, és ez a fokozott érösszehúzódás inzulin kezeléssel részben rendezhető volt. Egészséges állapotban a prostaglandin- $F_{2\alpha}$ -nak az azonnali érösszehúzó hatását néhány perc múlva kifejezett értágulás követi. Ezért a vegyület csak "lökésszerűen" és nem folyamatosan adható. Indomethacin vagy acetylsalicylsav előkezelés kiküszöböli ezt az érösszehúzódást követő értágító hatást (16) (4.ábra). Az irodalomból (7) jól ismert, hogy a prostaglandin- $F_{2\alpha}$  fokozza a prostacyclin endogen képződését. Feltételezhető tehát, hogy cukorbetegségben az értágulat hiánya a diabetesben észlelhető csökkent arachidonsav ellátás következménye. Anyagcsereegészsé-



3. ábra

A koszorúérágrendszer vezetőképességének azonnali változása prostaglandin- $F_{2\alpha}$  adása során cyclooxygenase-bénítő előkezelés előtt és után.



4. ábra

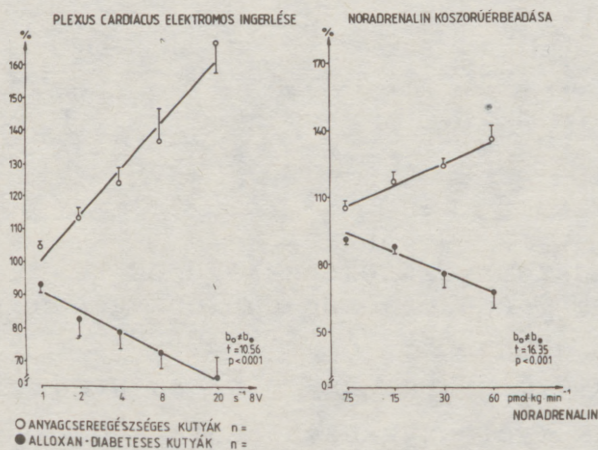
A koszorúérágrendszer vezetőképességének késői változása prostaglandin- $F_{2\alpha}$  adása során cyclooxygenase-bénítő előkezelés előtt és után.

geseekben pedig a cyclooxygenase bénítés után az értágító hatás eltünése, a cyclooxygenase bénítés hatására bekövetkező prostaglandin anyagcsere gátlás következménye.

Következő lépésként megvizsgáltuk, milyen hatást idéz elő a cyclooxygenase bénítés a sympathicus izgalom okozta koszorúérhatásokban. Jól ismert ugyanis, hogy a

plexus cardiacus elektromos ingerlése növekvő frekvenciával, vagy a növekvő adagokban a koszorúérbe adott noradrenalin infúzió anyagcsereegészséges állapotban értágulatot, cukorbetegségben ellenben érszűkületet idéz elő a koszorúerekben (27,28) (5. ábra). Indomethacin, illetve acetylsalicylsav előkezelés csökkenti a különbséget az egészséges és diabeteses reakciók között, mivel egyaránt mérsékli a koszorúérágrendszer vezetőképességének növekedését egészséges és csökkenését diabeteses állapotban (20,31) (6. és 7. ábra).

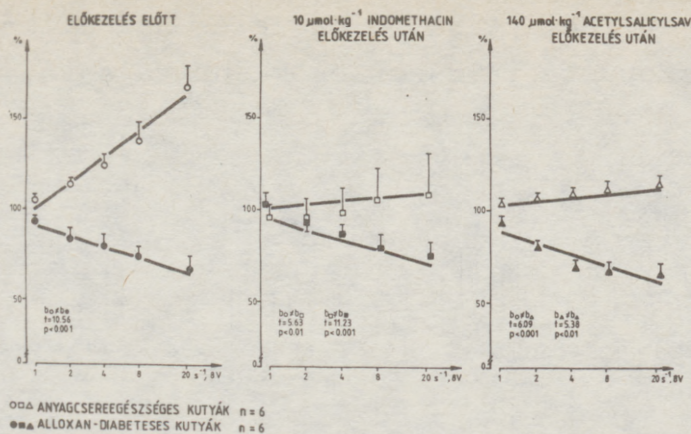
Ismert továbbá, hogy cukorbetegségben a koszorúér válasza reaktív hyperaemiában sokkal laposabb és elnyúltabb az egyperces asphyxiát vagy a koszorúerek egyik ágának egyperces leszoritását követően (19). Indomethacin vagy acetylsalicylsav előkezelés eltörli a különbséget az egészséges és diabeteses állapotok között, mivel rontja az egészséges választ az egyperces asphyxia esetében (8. ábra), és javítja a diabeteses választ a koszorúér egyperces leszoritásakor (9. ábra) (20,31).



5. ábra

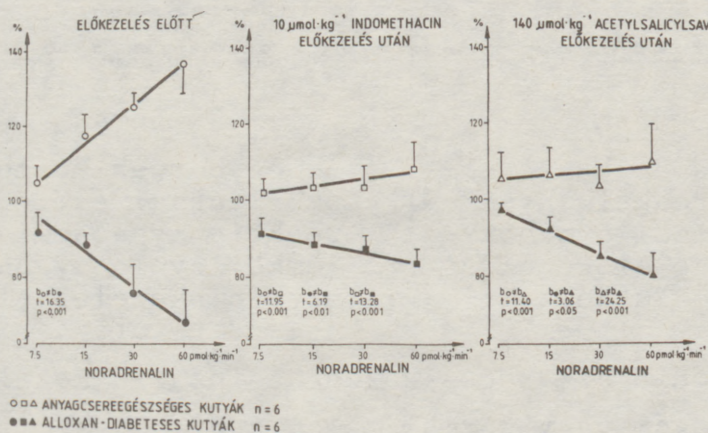
A koszorúérágrendszer vezetőképességének alakulása a plexus cardiacus elektromos ingerlése illetve noradrenalin koszorúérbeadása során.

Tekintettel arra, hogy az adenozin a legfontosabb ér-



6. ábra

A koszorúérágrendszer vezetőképességének alakulása a plexus cardiacus elektromos ingerlése során cyclooxygenase-bénítő előkezelés előtt és után

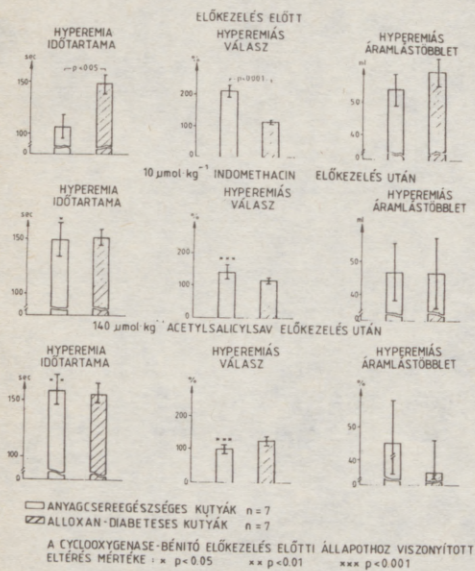


7. ábra

A koszorúérágrendszer vezetőképességének alakulása noradrenalin adása során cyclooxygenase-bénítő előkezelés előtt és után.

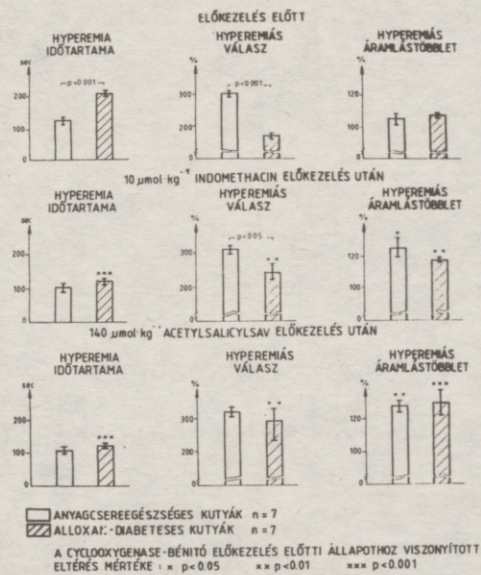
tágító anyagcseretermék, következő lépésként megvizsgáltuk, hogyan alakul a koszorúérágrendszer vezetőképessége adonozin adásakor. Cukorbetegségben a koszorúérbe növekvő adagokban adott adonozin kisebb vezetőképesség-növekedést idéz elő, mint egészséges állapotban. Indome-

thacin vagy acetylsalicylsav előkezelés normalizálja a diabeteses koszorúérágrendszer csökkent válaszát (10. ábra) (31).



8. ábra

Az egyperces asphyxiával előidézett reaktív hyperaemia jellemzői cyclooxygenase-bénítő előkezelés előtt és után.

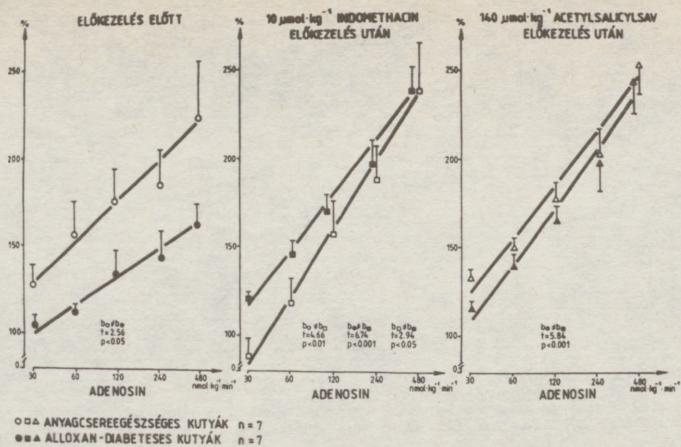


9. ábra

Az egyperces koszorúérle-szorítással előidézett reaktív hyperaemia jellemzői cyclooxygenase-bénítő előkezelés előtt és után.

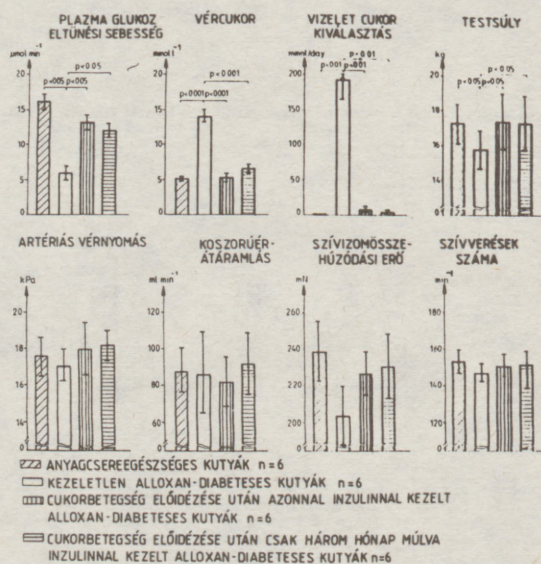
Felvetődik a kérdés, vajon az inzulin kezelés képes-e megelőzni vagy normalizálni a diabeteses reakciókat. Ezzel kapcsolatban kimutattuk, hogy a hatásos inzulinkezelés (11. ábra) nemcsak megelőzi, hanem normalizálja a plexus cardiacus elektromos ingerlése által kiváltott diabeteses reakciókat (12. ábra) (29, 30). Hasonló a helyzet a noradrenalin koszorúérbe adásakor is (13. ábra) (29,30). Az inzulinkezelés azonban nem befolyásolja a prostacyclin által kiváltott értágulási- (14. ábra), illetve a prostaglandin- $F_{2\alpha}$  által kiváltott érösszehúzóási (15. ábra) reakciókat (29,30). Az inzulinkezelés tehát csak a sympathicus idegizgalom okozta dia-





10. ábra

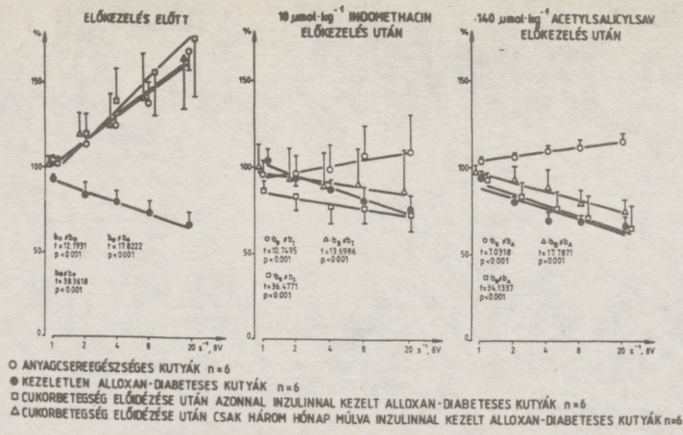
A koszorúérágrendszer vezetőképességének alakulása adenosin adása során cyclooxygenase-bénítő előkezelés előtt és után.



11. ábra

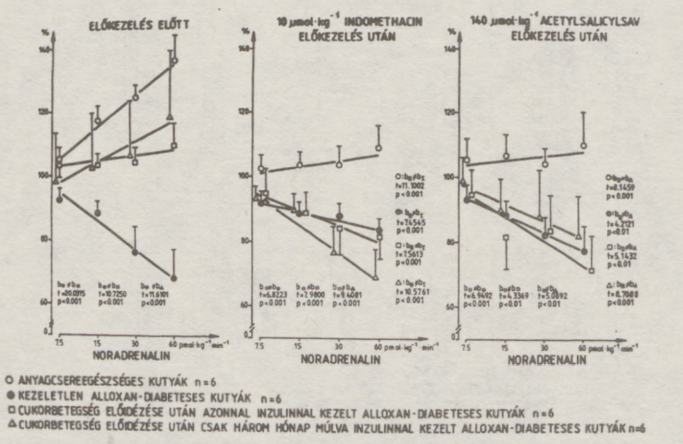
Az anyagcsere és keringési változók alakulása egészséges, alloxan-diabetese és inzulinnal kezelt alloxan-diabetese kutyák esetében.

beteses koszorúérváltozásokat képes megelőzni és rendezni, az eicosanoidok okozta elváltozásokat nem. Az anyagcserevizsgálatokból ugyanakkor kiderült, hogy az inzulinkezelés csupán a szénhidrát- és nem a zsíryanagcsere



12. ábra

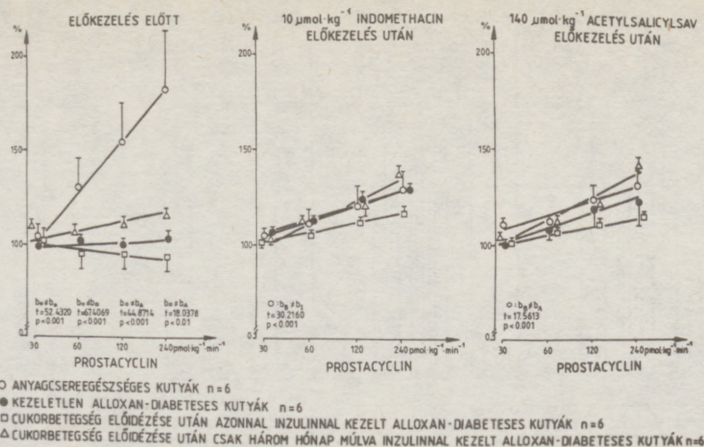
A koszorúérágrendszer vezetőképességének alakulása egészséges, alloxan-diabetikus és inzulinnal kezelt alloxan-diabetikus kutyákban a plexus cardiacus elektromos ingerlése során cyclooxygenase-bénítő előkezelés előtt és után.



13. ábra

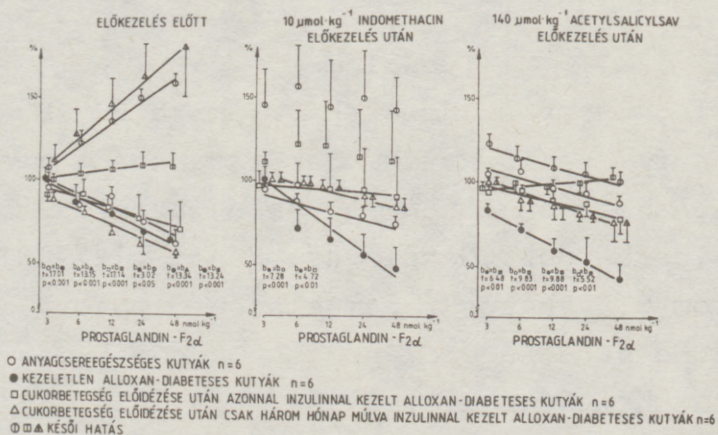
A koszorúérágrendszer vezetőképességének alakulása egészséges, alloxan-diabetikus és inzulinnal kezelt alloxan-diabetikus kutyákban noradrenalin adása során cyclooxygenase-bénítő előkezelés előtt és után. mutatóit rendezte (16. ábra).

Összegezve megállapíthatjuk, hogy a diabeteses érelváltozások kialakulásának mechanizmusa összetett. Nem kétséges, hogy az eicosanoidok szerepe csak töredéknyi



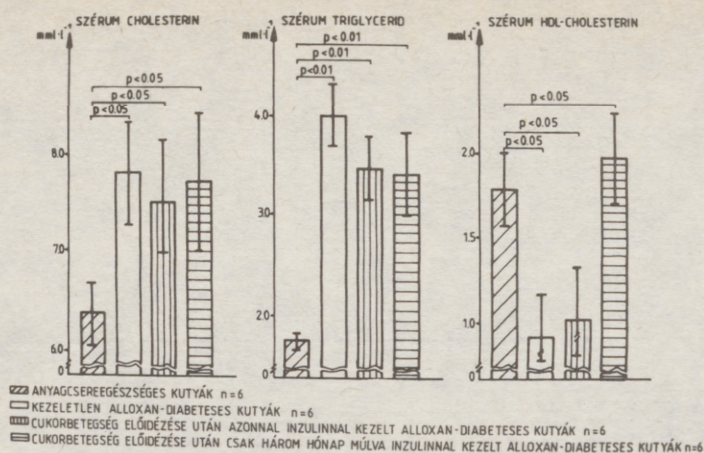
14. ábra

A koszorúérágrendszer vezetőképességének alakulása egészséges, alloxan-diabetese és inzulinnal kezelt alloxan-diabetese kutyákban prostacyclin adása során cyclooxygenase-bénítő előkezelés előtt és után.



15. ábra

A koszorúérágrendszer vezetőképességének alakulása egészséges, alloxan-diabetese és inzulinnal kezelt alloxan-diabetese kutyákban prostaglandin-F<sub>2α</sub> adása során cyclooxygenase-bénítő előkezelés előtt és után. ezekben a folyamatokban. Jelentőségük azonban szembeszökően megnő, amikor cyclooxygenase gátlókat adnak cukorbetegnek, például rheumás ízületi megbetegedésekben.



16. ábra

A zsiranyagcsere változók alakulása egészséges, alloxan-diabetikus és inzulinnal kezelt alloxan-diabetikus kutyák esetében.

#### Irodalom

1. Bailey IA, Carey F, Haworth D, Smith HJ (1983) Effects of vascular trauma and transient myocardial ischaemia on coronary venous prostaglandin levels in the dog. *Cardiovasc Res* 17,127-131.
2. Bergstrom S, Rykage R, Samuelsson B, Sjovall J (1962) The structure of prostaglandin E<sub>1</sub>, F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub>. *Acta Chem Scand* 16,501-502.
3. Bergstrom S, Sjovall J (1960) The isolation of prostaglandin-F from sheep prostate glands. *Acta Chem Scand* 14, 1693-1700.
4. Bolton HS, Chanderbhan R, Bryant RW, Bailey JM, Weglicki WB, Vahouny GV (1980) Prostaglandin synthesis by adult heart myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 12,1287-1298.
5. Colwell JH, Chambers A, Laimins M (1975) Inhibition of labile aggregation-stimulating sub-

- stance (LASS) and platelet aggregation in diabetes mellitus. *Diabetologia* 24,684-687.
6. Dandona P, James IM, Newbury PA, Woollard ML, Beckett AG (1978) Cerebral blood flow in diabetes mellitus evidence of abnormal cerebrovascular reactivity. *Brit Med J* 2,325-326.
  7. De Deckere EAM, Hoor TF (1980)  $\text{PGF}_{2\alpha}$  stimulates release of  $\text{PGE}_2$  and  $\text{PGI}_2$  in the isolated perfused rat heart. In Samuelsson B, Ramwell PW, Paoletti R (eds) *Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research*, vol 7. New York, Raven Press pp 658-665.
  8. deDeckere EAM, Nugteren DH, Hoor FT (1977) Prostacyclin is the major prostaglandin released from the isolated perfused rabbit and rat heart. *Nature (London)* 268,160-163.
  9. Dusting GJ, Nolan RD, Woodman OL, Martin TJ (1983) Prostacyclin produced by the pericardium and its influence on coronary vascular tone. *Am J Cardiol* 52,28A-35A.
  10. Effeney DJ (1987) Prostacyclin production by the heart effect of nicotine and carbon monoxide. *J Vasc Surg* 5,237-247.
  11. Ewald U, Tuemo T, Rooth G (1981) Early reduction of vascular reactivity in diabetic children detected by transcutaneous oxygen electrode. *Lancet* 1,1287-1288.
  12. Goldblatt MW (1933) A depressor substance in seminal fluid. *J Soc Chem Ind* 52,1056-1057.
  13. Junsytad M, Wennmalm A (1973) On the release of prostaglandin  $\text{E}_2$  from the rabbit heart following infusion of noradrenaline. *Acta Physiol Scand* 87, 573-574.
  14. Kaijser C, Nowak J, Wennmalm A (1978) Myocardial

- prostaglandin formation in man. *J Mol Cell Cardiol* 10 (Suppl.I.),42.
15. Karmazyn M, Dhalla NS (1983) Physiological and pathophysiological aspects of cardiac prostaglandins. *Canad J Physiol* 61,1207-1225.
  16. Koltai MZ, Pogátsa G (1985) Die Interaktion der Prostaglandinen und Adenosin in der Regulation der Koronardurchblutung. (Meeting abstract) *Zschr Kardiol* 74 (Suppl.5.),102.
  17. Koltai MZ, Hadházy P, Malomvölgyi B, Pogátsa G (1985) The role of prostaglandins in the altered coronary reactivity of alloxan-diabetic dogs. (Meeting abstract) *Giornale della Arterio Scler-osi, Nuova Serie* 1 (Suppl.1.),119.
  18. Koltai MZ, Hadházy P, Pogátsa G (1985) Effects of prostaglandins on coronary arteries. (Meeting abstract) *J Mol Cell Cardiol* 17 (Suppl.3.),120.
  19. Koltai MZ, Wagner M, Pogátsa G (1983) Altered hyperaemic response of coronary arterial bed in alloxan-diabetes. *Experientia* 39,738-740.
  20. Koltai MZ, Hadházy P, Malomvölgyi B, Kiss V, Pogátsa G (1985) Effect of prostacyclin on the coronary, femoral and coeliac arterial bed in diabetes mellitus. *Proc 4th Congr Hung Pharmacol Soc* 3,377-382.
  21. Kraemer RJ, Phernetton TM, Folts JD (1976) Prostaglandin-like substances in coronary venous blood following myocardial ischemia. *J Pharmacol Exp Ther* 199,611-619.
  22. Lands WE (1979) The biosynthesis and metabolism of prostaglandins. *Ann Rev Physiol* 41,633-652.
  23. Limas CJ, Cohn JN (1973) Isolation and properties of myocardial prostaglandin synthetase. *Cardiovasc*

- Res 7,623-628.
24. Limas CJ (1974) Stimulation by angiotensin of myocardial prostaglandin synthesis. *Biochim Biophys Acta* 337,417-420.
  25. Moncada S, Gryglewski R, Bunting R, Vane JR (1976) An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature (London)* 263,663-665.
  26. Nolan RD, Dusting GJ, Jakubowski J, Martin TJ (1982) The pericardium as a source of prostacyclin in the dog, ox and rat. *Prostaglandins* 24,887-902.
  27. Palik I, Koltai MZ, Wagner M, Kolonics I, Pogátsa G (1982) Altered adrenergic responses of the coronary arterial bed in alloxan-diabetic dogs. *Experientia* 38,934-935.
  28. Pogátsa G (1980) Altered adrenergic response of the coronary and femoral arterial bed in alloxan-diabetic dogs. *Adv Physiol Sci* 27,213-226.
  29. Pogátsa G, Koltai MZ, Ballagi-Pordány G (1988) Effect of insulin treatment on the altered coronary vascular reactions in diabetes. (Meeting abstract) *J Mol Cell Cardiol* 20 (Suppl.5.),60.
  30. Pogátsa G, Koltai MZ, Hadházy P, Kőszeghy A, Ballagi-Pordány G (1986) Interaction between prostanooids and vasodilating endogenous agents in the altered coronary reactivity in diabetes mellitus. (Meeting abstract) *Proc Int Union Physiol Sci* 16, 595.
  31. Pogátsa G, Koltai MZ, Kőszeghy A, Pordány G (1986) Effects of insulin treatment and indomethacin on altered vascular reactivity in diabetes mellitus. (Meeting abstract) *J Moll Cell Cardiol* 18 (Suppl.

2.),98.

32. Reibel DK, Roth DM, Lefer BL, Lefer AM (1983) Hyperreactivity of coronary vasculature in platelet-perfused hearts from diabetic rats. *Am J Physiol* 245,H640-H645.
33. Szentiványi M, Pék L (1973) Characteristic changes of vascular adrenergic reactions in diabetes mellitus. *Nature New Biol* 243,276-277.
34. von Euler US (1935) A depressor substance in the vesicular gland. *J Physiol (London)* 84,21P.
35. Wennmalm A (1975) Hypoxia-induced prostaglandin release from rabbit heart. In Roy PE, Rona G (eds) *Recent advances in studies on cardiac structure and metabolism. vol 10*. Baltimore, University Park Press pp 379-385.



# AZ ENDOTHELIUM SZEREPE A DIABETES MELLITUST KÍSÉRŐ ÉRREAKTIVITÁS-VÁLTOZÁSÁBAN. ÖSSZEFOGLALÁS

HADHÁZY P. és GEBREMEDHIN D.

Semmelweis Orvostudományi Egyetem, Gyógyszerhatástani Intézete, Budapest, Nagyvárad tér 4., 1089

Jól ismert, hogy a diabetes mellitust vascularis szövődmények kísérik, melyek egyik jellemzője, hogy a vasoconstrictiós hajlam növekszik. Ezt mind klinikai (Christlieb és mtsai, 1976; Weidmann és mtsai, 1979), mind állatkísérletes (Owen és Carrier, 1979; Jackson és Carrier, 1981; Sterin-Borda és mtsai, 1982; Palik és mtsai, 1982) vizsgálatok adatai alátámasztják. A diabeteses erek kóros hiperreaktivitását több tényezővel igyekeztek magyarázni. Ilyenek: csökkent inzulinszint (Fortes és mtsai, 1983), az adrenerg rostok károsodása (Trendelenburg és mtsai, 1977), változás a calcium-homeosztázisban (Scarborough és Carrier, 1983), valamint a vasoconstrictor prostanooidok fokozott képződése (Sterin-Borda és mtsai, 1982).

Jelen vizsgálatunkban arra kerestünk választ, hogy a diabeteses erek hiperreaktivitásában játszhat-e szerepet az endothelium patológiás elváltozása. Ezt a kérdésfelvetést két körülmény motiválta: 1) a diabetes mellitusra közismerten jellemző intima-megvastagodás; 2) az a felismerés, hogy az erek endothel sejteiből mind értágító (EDRF; Furchgott és Zawadzki, 1980), mind érszű-

kitő (endothelin; Yanagisawa és mtsai, 1988) anyagok felszabadulnak.

### Módszerek

A felvetett kérdést izolált nagyarteriákon végzett kísérletekkel kívántuk tisztázni. A nagyméretű érkészítmény endotheliuma figyelmes preparálással megkimélhető, ugyanakkor mechanikus eljárással könnyen elroncsolható. Így az endothel sejtek értónust szabályozó funkciója jól tanulmányozható.

Az érszövetet alloxannal kezelt mindkét nemű korcs kutyákból nyertük. A kísérletes diabetes kiváltásának és a kórkép létrejöttét bizonyító laboratóriumi vizsgálatoknak a módszereit korábban leirtuk (Pogátsa és mtsai, 1988). A pentobarbitallal elaltatott állatokból az alábbi érfajtákat metszettük ki: a. coronaria (r. descendens ant. vagy circumflexus), a. femoralis és a. renalis. Az érszegmentumokat a kötőszövettől és zsirtól megtisztítottuk, gondosan ügyelve az endothelium épségére. Az erekből gyűrű alakú preparátumokat készítettünk (END + preparátum). Az érgyűrűk egy részéből finom csipeszre csavart nedves szűrőpapírral az endothel réteget elroncsoltuk (END-preparátum). A készítményeket 37°C-os Krebs-oldatot tartalmazó szervedényekben függesztettük fel. A tónusváltozásokat izometriásan mértük.

### Eredmények

A diabetest alloxan tetrahidrát (560  $\mu$ mol/kg) egyszeri i.v. adagjával váltottuk ki.

Kísérletes diabetes mellitus. Az alloxan-kezelés hatását (3 hónappal a szer beadása után) a szénhidrát-

anyagcserére az I. táblázat adatai szemléltetik. Ezek szerint a glukóz eltűnése a plazmából meggyorsul, a vércukorszint jelentősen megemelkedik, s a vizeletben nagy mennyiségben ürül a cukor, de acetone nem jelenik meg. Tehát az alloxan-kezelést követően klinikailag manifest, de ketoacidózissal nem járó cukorbetegség alakul ki.

I.Táblázat: A diabetest jelző változók alakulása kontroll (n=19) és alloxánnal kezelt (n=19) kutyákban

Kezelés	A plazmaglukózel- eltűnés sebes- sége ( $\mu\text{mol}/\text{min}$ )	Vércukor ( $\text{mmol}/\text{l}$ )	Glukózelürítés ( $\text{mmol}/\text{nap}$ )
0,9 % NaCl	18,2 $\pm$ 2	5,6 $\pm$ 0,4	0
alloxan	6,0 $\pm$ 1 <sup>*</sup>	13,1 $\pm$ 0,5 <sup>*</sup>	190 $\pm$ 14 <sup>*</sup>

\*  $p < 0,05$

A kontrakciós készség változása. A diabeteses femoralis és renalis arteriák kontrakciós készségét a fenilefrinrel, az a. coronaria kontraktilitását a PGF<sub>2</sub> alfával kiváltott, dózis-függő összehúzóadás mérésével határoztuk meg. Ezt a választ négy-négy ércsoportban (csoportonként 6-7 érkészitmény) mértük. Az eredményeket a II. táblázat összesíti.

A II. táblázatból a következők olvashatók ki. Az a. femoralis és renalis kontrakciós dózis-hatás görbáját sem az alloxan-kezelés önmagában, sem az endothelium elroncsolása önmagában nem befolyásolta. Ezzel szemben a diabeteses, endotheltől megfosztott ér maximális feszülése, valamint a dózis-hatás görbe meredeksége meg-

haladja a kontroll értéket. Az egészséges állatból nyert koszorúér kontrakciós készségét már maga az endothelium eltávolítása fokozza, s ez a fokozódás különösen kifejezett az endothel sejtektől megfosztott diabeteses koszorúér-simaizomban.

II. Táblázat: Az alloxán-kezelés és az endothelium-roncsolás hatása kutyából izolált arteria-gyűrűk összehúzódására

Arteria	Anyagcsere- állapot	Az endothe- lium épsége	A dózis-hatás görbe	
			maximuma	meredeksége
	Eg	END +	kontroll	
femorális	Eg	END -	∅	∅
és renális	Diab	END +	∅	∅
	Diab	END -	↑	nő
	Eg	END +	kontroll	
coronaria	Eg	END -	↑	nő
	Diab	END +	∅	∅
	Diab	END -	↑↑	nő
			↑↑	nő

Eg: anyagcsere-egészséges; Diab: cukorbeteg; END +: ép endothelium; END -: roncsolt endothelium; ∅: a kontrolltól nem tér el; ↑: 40-50 %-kal nagyobb, mint a kontroll; ↑↑: kb. kétszerese a kontrollnak. Az eltérések a kontrolltól statisztikailag szignifikánsak ( $p < 0,05$ ). A femoralis és renális arteriákon fenilefrinrel, a koszorúereken  $PGF_2\alpha$ -val váltottunk ki koncentráció-függő összehúzódást.

A relaxációs készség változása. Ebben a kísérletsorozatban azt vizsgáltuk, hogy befolyásolja-e az alloxan-kezelés a kémiai ingerrel összehúzott erek endothelium-függő és az endothelium épségétől nem függő elernyedését. Az acetylcholin (ACh) csak akkor ernyeszti el a

vascularis simaizmot, ha ép az endothel réteg. Ezzel szemben a nitritek relaxáns hatása roncsolt intimájú érben is létrejön. Így az ACh és nitroprusszid Na (NPN) alkalmazásával az EDRF részvétele az elernyedési folyamatban megítélhető. Az alloxan-kezelés hatását a relaxációs készsége a III. táblázat adatai demonstrálják.

III. Táblázat: Anyagcsere-egészséges és cukorbeteg kutyákból izolált verőerek endothelium-függő elernyedése (n=6-7)

Arteria		Az elernyedés jellemzői		Tónuskeltő inger
		ACh-IC <sub>50</sub> (nanomol/l)	Max. elernyedés <sup>a</sup> (%)	
femoralis	Eg	170+20	85-95	fenilefrin: 0,1 /umol/l (EC <sub>30</sub> )
	Diab	200+30	85-95	
renalis	Eg	29+ 4	90-100	fenilefrin: 0,85 /umol/l (EC <sub>35</sub> )
	Diab	9+ 1 <sup>*</sup>	90-100	
coronaria	Eg	410+60	100-115 <sup>b</sup>	PGF <sub>2α</sub> : 2/umol/l (EC <sub>35</sub> )
	Diab	63+ 7 <sup>*</sup>	100-115 <sup>b</sup>	

IC<sub>50</sub>: az 50 %-os elernyedést eredményező koncentráció; <sup>\*</sup>szignifikáns különbség az egészséges (Eg) és diabeteses (Diab) ér között (p<0,05). <sup>a</sup> 100 % elernyedés: a tónuskeltő vegyület okozta összehúzódás teljes megszüntetése. <sup>b</sup> az a. coronaria inherens tónusát is csökkenti a relaxáns, ezért haladja meg az elernyedés a 100 %-ot.

A táblázatból kitűnik, hogy az a. femoralis endothelium-függő elernyedését, azaz az ACh hatékonyságát nem befolyásolja az alloxan-kezelés. Ezzel szemben a cholinerg transzmitter diabeteses a. renalis és a. coronaria készítmények tónusát kisebb koncentrációban csökkentette, mint

a kontroll állatokból kimetszett megfelelő erekét. Az ACh-nal kiváltható maximális elernyedést az alloxan-kezelés egyik ércsoportban sem befolyásolta.

Megfigyeltük továbbá, hogy az endothelium épségéhez nem kötött, a NPN által előidézett relaxáció - mind az IC<sub>50</sub>-értékeket, mind a dózis-hatás görbék meredekségét és jellegét tekintve - az egészséges és cukorbeteg állatokból nyert erekben azonos volt. A ciklooxygenáz gátló indomethacin (3  $\mu$ mol/l) nem befolyásolta az endothelium-függő elernyedést.

### Megbeszélés

Eredményeink azt jelzik, hogy az alloxán-kezelés - az endothelium épségétől is függő - változást idéz elő mind a vasoconstrictor, mind a vasodilatator válaszban. A femoralis és renalis arteriák kontraktilitását az alloxan-kezelés és az endothelium elroncsolása (együttesen) fokozza. Ezzel szemben a koszorúerek kontrakciós készségét az endothelsejtek eltávolítása önmagában már szignifikánsan növeli. Ugyanakkor az ép endothelium mindhárom érpreparátumon képes kivédeni a cukorbetegségre jellemző hiperreaktivitást (II.Táblázat). Feltételezzük, hogy ezt a védőhatást az endothel sejtekből kiáramló "endothelium derived relaxant factor" (EDRF) közvetíti.

Az alloxan-kezelés az ACh-nal kiváltott endothelium-függő relaxációt a vese- és koszorúerekben erősíti (III.táblázat), az a.femoralisban nem befolyásolja. Ez a vizsgált erek közötti regionális különbségre utal. Ez utóbbit jelzik az ACh erenként eltérő IC<sub>50</sub>-értékei is. Hangsúlyozzuk, hogy mindhárom ér esetében a kontrakciós ágens azonos mérvű tónusfokozódást előidéző koncentráci-

óját alkalmaztuk (III.Táblázat). Az az adat, miszerint az endothelium-függő relaxáció - a renalis és coronaria erekben - alloxan-diabetesben erősödött, azt a feltételezésünket erősíti (l. feljebb), hogy a diabeteses érreaktivitás-fokozódást az ép endothel sejtek fokozott EDRF-szekrúcióval képesek ellensúlyozni.

Eredményeink jelentőségét abban látjuk, hogy az irodalomban elsőként közöltük a vascularis endothelium és a kísérletes diabetes okozta érreaktivitás-változás kapcsolatát. Fontosnak érezzük azt is, hogy a kísérleteket olyan species erein végeztük, amely közelebb áll az emberhez, mint a laboratóriumok túlnyomó többségében az e célra használt patkány. Természetesen nyitva marad a kérdés, hogy az alloxannal előidézett diabetesben fellépő funkcionális érelváltozások hasonlók-e az emberi cukorbetegséget kísérő vascularis szövődményekhez.

Ez az összefoglaló tanulmány a következő közlemények anyagából készült (l. Irodalom): Gebremedhin és mtsai (1987; 1988; 1989).

#### Irodalom

- Christlieb AR, Janka H, Kraus B és mtsai (1976) Vascular reactivity to angiotensin II and to morepinephrine in diabetic subjects. *Diabetes* 25: 268-274.
- Fortes ZB, Garcia Leme J, Scivoletto R (1983) Vascular reactivity in diabetes mellitus: role of endothelial cell. *Br J Pharmacol* 79: 771-781.
- Gebremedhin D, Koltai MZ, Pogátsa G és mtsai (1987) Differential contractile responsiveness of femoral arteries from healthy and diabetic dogs: role of endothelium. *Arch int Pharmacodyn* 288: 100-108.

- Gebremedhin D, Koltai MZ, Pogátsa G és mtsai (1988)  
Influence of experimental diabetes on the mechanical responses of canine coronary arteries: role of endothelium. *Cardiovasc Res* 22: 537-544.
- Gebremedhin D, Koltai MZ, Pogátsa G és mtsai (1989)  
Altered responsiveness of diabetic dog renal arteries to acetylcholine and phenylephrine: role of endothelium. *Pharmacology* 38: 177-184.
- Jackson CV, Carrier GO (1981) Supersensitivity of isolated mesenteric arteries to noradrenaline in the long-term experimental diabetic rat. *J Auton Pharmacol* 1: 399-405.
- Owen MP, Carrier GO (1979) Alteration in vascular smooth muscle sensitivity to vasoconstrictor agents by streptozotocin induced diabetes. *Proc West Pharmacol Soc* 22: 363-366.
- Palik I, Koltai MZ, Hadrházy P és mtsai (1982) Effects of prostaglandins  $E_2$ ,  $I_2$  and  $F_{2\alpha}$  on the tone of isolated coronary arteries from alloxan-diabetic dogs *Prostagl Leukotr Med* 8: 607-617.
- Pogátsa G, Koltai MZ, Hadrházy P és mtsai (1988) Insulinkezelés hatása a cukorbetegségben kialakuló alsóvégtagi érreakció-változásokra. *Kísérl Orvostud* 40: 352-358.
- Scarborough NL, Carrier GO (1983) Increased  $\alpha_2$ -adrenoceptor mediated vascular contraction in diabetic rats. *J Auton Pharmacol* 3: 177-183.
- Sterin-Borda L, Borda ES, Gimeno M és mtsai (1982) Contractile activity and prostacyclin generation in isolated coronary arteries from diabetic dogs. *Diabetologia* 22: 56-59.



Trendelenburg V: Catecholamine metabolism and vascular reactivity: An analysis of neuronal and extraneuronal storage and metabolizing system. In: Factors influencing vascular reactivity. Ed: Carrier O, Shibata S. 36-58 old. Igaku-Shoin, Tokyo, New York (1977)

Weidmann P, Beretta-Piccoli C, Keusch G és mtsaik (1979) Sodium-volume factor, cardiovascular reactivity and hypotensive mechanism of diuretic therapy in mild hypertension associated with diabetes mellitus. Amer J Med 67: 779-784.

Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S és mtsai (1988) A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature 332: 411-415.

S

B

A

i

N

a

S

A

# SZÍV- ÉS VÁZIZMOK Na-PUMPA AKTIVITÁSÁNAK VÁLTOZÁSA KÍSÉRLETES DIABETES MELLITUSBAN

KOVÁCS TIBOR\* és SOMOGYI JÁNOS\*\*

DOTÉ Élettani Intézete\* és SOTE I. sz. Kémiai-Biokémiai Intézete\*\*

## BEVEZETÉS

A szarkolemma integráns enzimje, a Na-K-ATPáz (Na-pumpa) energiaigényes (ATP-függő) folyamat révén biztosítja a citoszol állandó  $\text{Na}^+$  és  $\text{K}^+$  koncentrációját. Ezen túlmenően fontos szerepet játszik az ingerlékenység, ingerületvezetés és kontraktilitás fenntartásában.

A Na-K-ATPáz a szívglükozidok receptora is (Hansen, 1984). A vázizmok tömegüknél fogva a szívglükozidok megoszlásában, terápiás szérumszintjének fenntartásában lényeges szerepet játszanak. A szívglükozid receptorok száma, azaz a szarkolemma pumpahelyeinek sűrűsége rövid- és hosszútávú szabályozás alatt áll. A szabályozásban elsősorban hormonok vesznek részt (Clausen 1988).

A diabetes mellitus számos szervben, így a szív- és vázizmokban, perifériás idegekben is funkcionális és strukturális károsodást előidéző anyagcsere változást okoz, melyek az inzulin hiányra

vezethetők vissza. A fehérje szintézis csökkenése, a katabolizmus fokozódása a membrán fehérjéket is érintheti, így csökkenhet a membrán integráns fehérjéinek mennyisége, beleértve a Na-K-ATPáz is. E feltevést azonban a korábbi irodalmi adatok egyértelműen nem támasztják alá. Korábban már beszámoltak a streptozotocinnal kezelt patkányokban a nervus ischiadicus Na-K-ATPáz aktivitásának közel 40%-os, és a miokardium p-nitrofenilfoszfátáz (pNPP) aktivitásának szignifikáns csökkenéséről (Das és mtsai 1976; Green és Latimer 1983; Pierce és Dhalla 1983). Ezzel szemben nem észleltek változást diabetes mellitusban a vázizmok Na-K-ATPáz aktivitásában (Moore és mtsai 1983; Olson és mtsai 1981). Hasonlóképpen az alloxánnal kezelt kutyák szívében sem változott meg a  $^3\text{(H)}$ -ouabain kötőhelyek száma.

Az ellentmondó eredmények egyik oka abban keresendő, hogy a vizsgálatokat a legtöbb esetben, izolált, tisztított membránpreparátumokon végezték. A tisztítási eljárás ugyanakkor jelentős anyagvesztéssel jár, ezért a preparátumok általában a kiindulási aktivitásnak csak töredékét, kb. 0.2-18%-át tartalmazza. Következésképpen a preparátumok sokkal inkább alkalmasak kvalitatív analízisekre, mint kvantitatívokra.

Ezt a problémát igyekeztek az aarhusi iskola munkatársai áthidalni oly módon, hogy a pumpahelyek számának változását izolált szöveti mintákban a vanadát facilitált  $^3\text{(H)}$ -ouabain kötési, illetve a Na-K-ATPáz aktivitást tisztítatlan homogenátumokban a K-függő 3-o-methyl-fluorescein-foszfátáz aktivitási méréssel határozták meg (Hansen 1982; Kjeldsen 1986; Kjeldsen és mtsai 1985; Norgaard és mtsai 1983, 1985).

Kísérleteinkben Wistar patkányokon streptozotocin injekcióval előidézett experimentális diabetesben vizsgáltuk a jobb szívkamrából izolált miokardium csíkok, illetve a lassú soleus és a gyors extensor digitorum longus izmok maximális  $^3\text{(H)}$ -ouabain kötési kapacitását. Annak tisztázására, hogy a ouabain kötőhelyek valóban a funkcionális Na-pumpát reprezentálják, meghatároztuk kontroll és

diabeteszes miokardiumokban a ouabainnal gátolható maximális  $^{86}\text{Rb}$  felvételt is. Akerá és mtsai (1981) ugyanis igazolták, hogy a ouabainérzékeny  $\text{Rb}^+$  felvétel a Na-pumpa működésének jó indikátora.

### ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A kísérleteket 16 hetes, vegyesnemű Wistar patkányokon végeztük. A diabetest egyszeri i.v. streptozotocin (Sigma) injekcióval idéztük elő, az alkalmazott dózis 65 mg/testsúly kg volt. A streptozotocint 0.05 mol/l koncentrációjú citrát pufferben (pH 4.5) oldottuk. A kontroll állatok megfelelő mennyiségű puffert kaptak. Mindkét állatcsoportot azonos helyen és körülmények között tartottuk; tápot és vizet ad libitum fogyaszthattak.

A kezelést követő 6.-8. héten dolgoztuk fel az állatokat. A leölés előtt testsúlyukat ismételten megmértük, és a vércukor-koncentráció meghatározására heparinos vérmintákat vettünk.

A  $^3\text{(H)}$ -ouabain kötés meghatározására Norgaard és mtsai (1983) által leírt és általunk módosított vanadát-facilitált módszert alkalmaztuk (Bányász és mtsai (1987)). Az izmokból 15-30 mg súlyú mintákat metszettünk ki, rozsdamentes acélból készült tartóra kötöttük fel őket, majd folyékony nitrogénben lefagyasztottuk, és felhasználásig  $-20^\circ\text{C}$ -on tároltuk. Meghatározás előtt a mintákat vanadát-tris-szaharóz pufferben, előinkubáltuk 3x20 percig  $5^\circ\text{C}$ -on, hogy a lacsony intracelluláris  $\text{Na}^+$  és  $\text{K}^+$  koncentráció és megfelelő vanadát koncentráció alakuljon ki. Ezután kerültek a minták az inkubáló pufferbe, mely jelzett (40 kBq/ml) és jelzetlen ouabaint (0.1-5.0  $\mu\text{mol/l}$ ) tartalmazó vanadát-tris-szaharóz oldat volt. A nemspezifikusan kötött  $^3\text{(H)}$ -ouabaint fölös mennyiségű jelzetlen ouabain jelenlétében határoztuk meg. Az inkubálás  $37^\circ\text{C}$ -on történt. Az oldatokat az előinkubálás és az inkubálás alatt mindvégig oxigenáltuk. Az inkubáció után az extracelluláris térből 4x30 percig tartó mosással (vanadát-tris-szaharóz puffer) eltávolítottuk a nemreceptorhoz kötött jelzett ouabaint. A minták súlyát megmértük, majd 5%-os TCA-val extraháltuk és megfelelő aliquotjában meghatá-

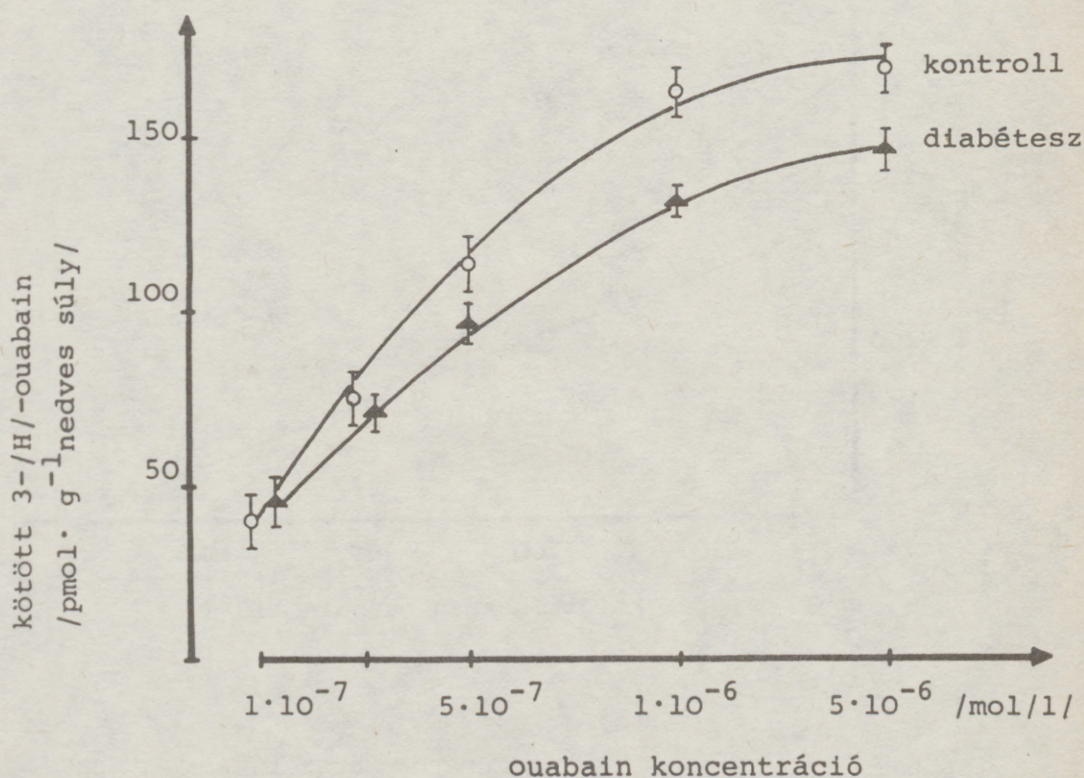
roztuk a radioaktivitást. Az inkubáló oldat specifikus aktivitása, és a minták nedves súlya alapján számított kötött  $^3\text{(H)}$ -ouabain mennyiségét pmol/g n.s. egységben fejeztük ki. A számításnál korrekcióba vettük a nonspecifikus kötést, az izotóp radiológiai tisztaságát (98.9%) és a kimosás alatti specifikusan kötött ouabain veszteségét.

A  $^{86}\text{Rb}$  felvételt nagy intracelluláris  $\text{Na}^+$  koncentrációjú mintákban mértük. Az intracelluláris  $\text{Na}^+$  koncentráció növelésére a 30-50 mg-os mintákat  $\text{K}^+$ -mentes Tyrode oldatban előinkubáltuk (60 perc;  $35^\circ\text{C}$ ). A  $^{86}\text{Rb}$  felvétel változó  $\text{K}^+$  koncentrációjú (5.5 - 120 mmol/l) radioaktív Tyrode oldatban történt. A  $\text{K}^+$  koncentráció növelésével párhuzamosan csökkentettük az inkubáló oldat  $\text{Na}^+$  koncentrációját, hogy az oldatok osmolaritása azonos maradjon. A nagy külső  $\text{K}^+$  koncentráció okozta fokozott back-flux miatt rövid ideig, mindössze 5 percre tartott az inkubáció. A preparátumok feléhez az előinkubálás 30. percében, valamint a teljes felvételi idő alatt ouabaint adtunk (1 mmol/l), a ouabainnal gátolható  $^{86}\text{Rb}$  felvétel mérésére. Az inkubáció végén inaktív Tyrode oldattal  $0^\circ\text{C}$ -on 5 percre mostuk az extracelluláris teret. A mintákat súlymérés után elroncsoltuk, majd aktivitásukat Gamma NK-350 típusú spektrométerrel mértük. A  $^{86}\text{Rb}$  felvételt az inkubációs oldat specifikus radioaktivitása alapján számoltuk ki és nmol/(g nedvesség x perc) egységben fejeztük ki. A számításnál a ouabainnal gátolható Rb felvételt (összes felvétel minus ouabain-rezisztens felvétel) számításal kaptuk meg.

## EREDMÉNYEK

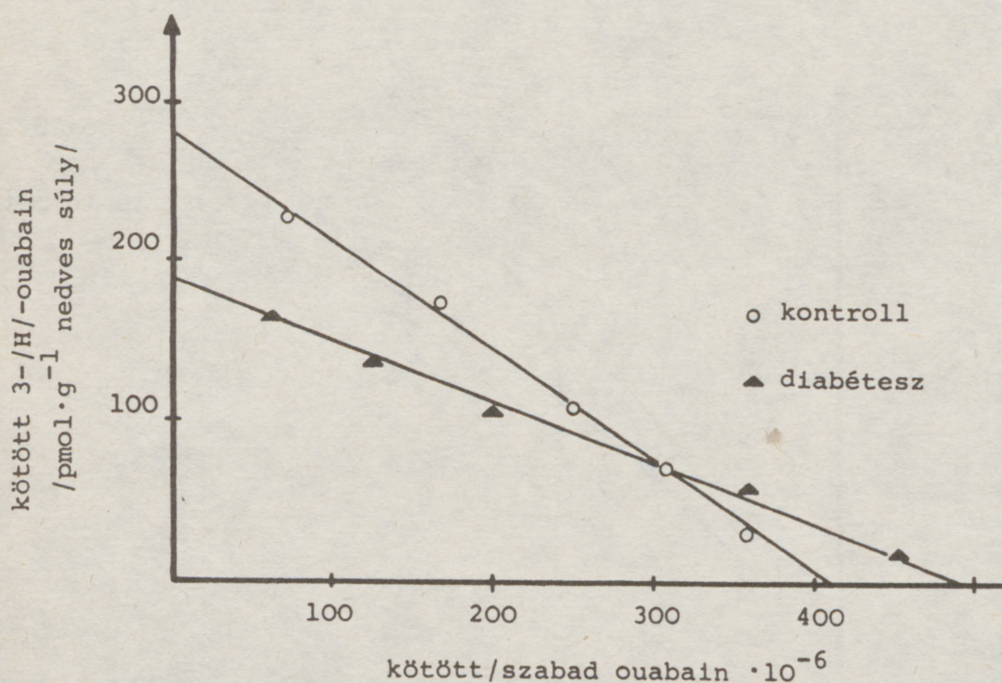
A streptozotocin kezelést követően 48 órán belül tapasztalható volt a nagymértékű glükozuria és poliuria, miközben észrevehetően megnőtt a kezelt állatok víz- és táplálékfogyasztása. Ezen egyedekben a vércukor értéke minden esetben 10 mmol/l felett, általában 20-40 mmol/l között volt. Az általunk mért legmagasabb vércukorszint 44.5 mmol/l volt.

Maximális  $^3\text{(H)}$ -ouabain kötés összehasonlítása kontroll és diabeteszes állatokban. A kontroll és diabeteszes állatok miokardiumában a ouabain kötés koncentráció függését az 1. ábra mutatja. A szabad ouabain koncentrációt 0.1-5  $\mu\text{mol/l}$  között változtattuk. A ouabain kötés mind a kontroll, mind a diabeteszes állatok miokardiumában szaturációt ért el 1  $\mu\text{mol/l}$  koncentráció körül. A telítési érték a diabeteszes állatok miokardiumában szignifikánsan kisebb volt.



1. ábra. A kötött  $^3\text{(H)}$ -ouabain mennyiség változása a szabad ouabain koncentráció függvényében kontroll és streptozotocinnal kezelt állatok jobb kamrájában.

A maximális ouabain kötés és a disszociációs állandó meghatározására a Scatchard-féle ábrázolást alkalmaztuk. A kötött ouabain mennyiségét a kötött/szabad ouabain hányados függvényében ábrázolva, a mérési pontok egy egyenes mentén helyezkednek el. A legkisebb négyzetek módszerével kiszámított regressziós egyenes metszéspontja adja meg a maximális kötést, míg az egyenes iránytangense a  $K_D$  értéket, azaz a disszociációs konstansot.



2. ábra. A ouabain kötés Scatchard ábrázolása. Az egyes pontok 12-23 mérés átlagát jelentik.

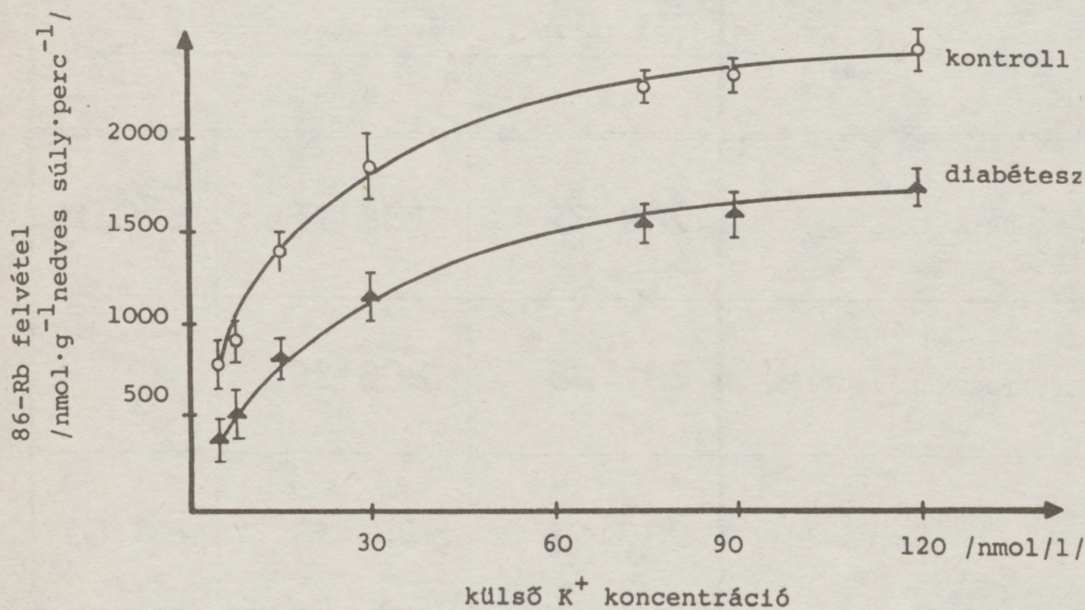


Az I. táblázat azt igazolja, hogy a streptozotocinnal kezelt, diabeteszes állatok jobb kamrájában szignifikánsan, közel 35%-al, csökkent a pumpahelyek koncentrációja. Hasonló megállapítás igaz a lassú kontrakciós sebességű m. soleusra is. Ezzel szemben a gyors m. extensor digitorum longus izomnál bár megfigyelhető a csökkenés tendenciája, azonban a jelentős szórás miatt a különbség statisztikailag nem bizonyult szignifikánsnak.

I. TÁBLÁZAT  
A maximális  $^3\text{(H)}$ -ouabain kötés /Bmax/ összehasonlítása  
kontroll és diabeteszes patkányok különböző izmaiban

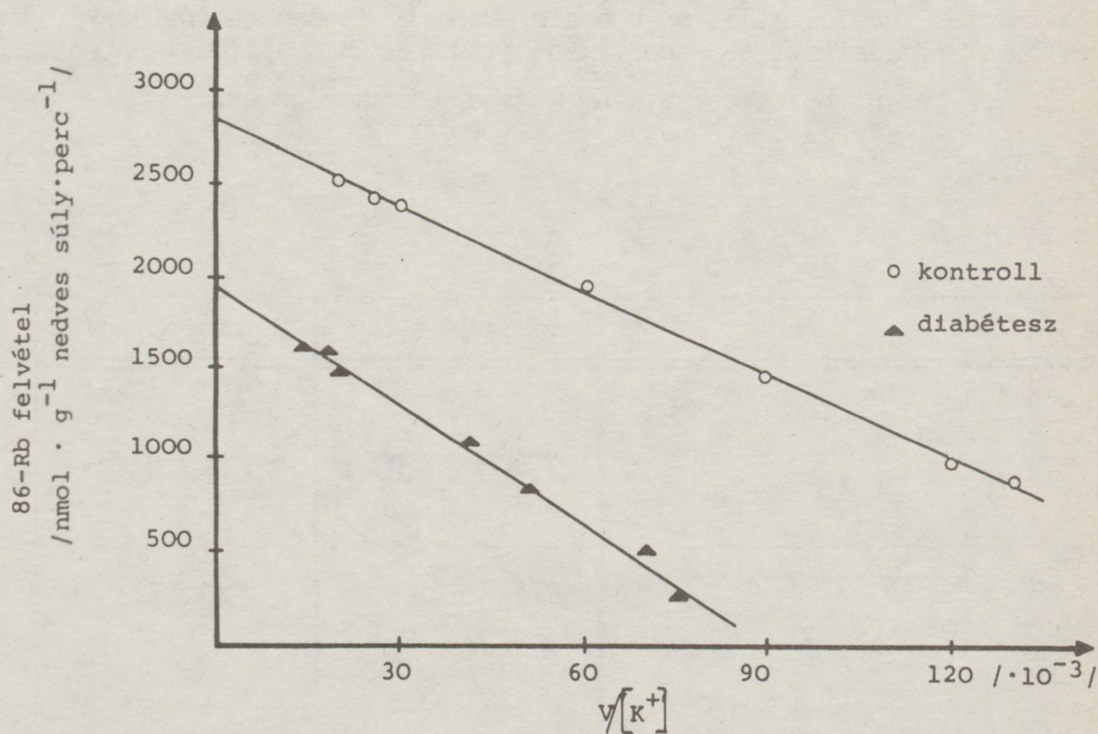
	Bmax /pmol·g <sup>-1</sup> nedves súly·perc <sup>-1</sup> /		
	KONTROLL	DIABÉTESZ	
JOB B KAMRA	<b>283±13</b>	<b>185±17</b>	<b>p&lt;0.01</b>
M. EXTENSOR DIGITORUM LONGUS	<b>251±25</b>	<b>206±29</b>	
M. SOLEUS	<b>236±21</b>	<b>146±13</b>	<b>p&lt;0.01</b>

A ouabainnal gátolható  $^{86}\text{Rb}$  felvétel vizsgálata. Az aktív  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -transzport sebesség maximális értékének meghatározását Clausen és mtsai (1987) vezették be. A pumpa aktivitásának fokozására megfelelő előkezeléssel növelték az intracelluláris  $\text{Na}^+$  tartalmat. Az általuk leírt módszert adaptáltuk a szívizomra. Az extracelluláris  $\text{K}^+$  koncentráció növelésére kezdetben igen meredeken, majd később a szaturációs szint felett tartva fokozódott a  $\text{Rb}^+$  felvétel. A 3. ábra igazolja, hogy a streptozotocinnal kezelt állatok miokardiumának  $\text{Rb}^+$  felvétele valamennyi vizsgált  $\text{K}^+$  koncentráció esetében szignifikánsan kisebb volt, mint a kontroll állatok miokardiumáé.



3. ábra Kontroll és diabeteszes állatokból izolált miokardium preparátumok  $\text{Rb}^+$  felvétele a növekvő extracelluláris  $\text{K}^+$  tráció függvényében.

A maximális transzport sebesség meghatározására az Eadie-Hofstee ábrázolási módot alkalmaztuk (4.ábra) A felvételi sebesség/ $K^+$  koncentráció hányadosának függvényében ábrázoltuk a  $Rb^+$  influxot. A regressziós egyenesek metszéspontjai adják a maximális  $Rb^+$  felvételt, ami mint az ábrából leolvasható diabeteszes patkányok esetében szignifikánsan (30%-al) kisebb, mint a kontroll állatoké.



4. ábra A  $Rb^+$  felvétel extracelluláris  $K^+$  koncentráció függésének Eadie-Hofstee ábrázolása. Az egyes pontok 6-9 mérés átlagát jelentik.

A II. táblázaton a kontroll és diabeteszes állatok miokardiumának maximális, ouabainnal gátolható  $Rb^+$  felvételét és ouabain kötőhelyéinek koncentrációját hasonlítjuk össze. A táblázat utolsó sorában a pumpahelyenként, percenként transzportált  $K^+$  ionok számát is feltüntettük. Mint látható ez a számított érték nem különbözik a két kísérleti állatcsoport esetében. A számított értékünk jól egyezik az elméleti maximummal (Clausen és mtsai 1987).

**II. TÁBLÁZAT**  
**Maximális  $^{86}Rb$  felvétel, és ouabain kötőhely koncentráció ( $B_{max}$ ),  
 valamint a számított transport kapacitás összehasonlítása kontroll  
 és diabeteszes patkányok jobb szivkamrájában.**

	KONTROLL	DIABÉTESZ
OUABAINNAL GÁTOLHATÓ $^{86}Rb$ FELVÉTEL /nmol/g nedves súly/	<b>2748 ± 138</b>	<b>1874 ± 189</b>
3-/H/-OUABAIN KÖTŐHELY KONCENTRÁCIÓ /pmol/g nedves súly/	<b>283 ± 13</b>	<b>190 ± 17</b>
3-/H/-OUABAIN KÖTŐHELYEINEK PERCENKÉNT SZÁLLITOTT $K^+$ -ionok száma /l/min/	<b>9710</b>	<b>9863</b>

Mindezek az adatok egyértelműen azt bizonyítják, hogy a diabeteses állatok miokardiumában a ténylegesen funkcionáló pumpahelyek száma csökken ugyan, de az egyes pumpahelyek transzportáló kapacitása, illetve kötési affinitása változatlan marad.

### MEGBESZÉLÉS

A kísérletek eredményei azt igazolják, hogy a streptozotocinnal kezelt patkányokban, azaz az inzulin dependens diabetes mellitus modellező állatkísérletben, a miokardiumban és a lassú kontrakciós sebességű vázizomban csökken a Na-K-ATPáz aktivitása. Ezzel összhangban csaknem azonos mértékben csökken a ouabainnal gátolható  $Rb^+$  felvétel is. Kísérleteink eredményei jól egyeznek Norgaard és mtsai (1985) adataival, akik a 3-orto-metil-fluorescein-foszfátáz aktivitás, mint a Na-K-ATPáz működés indikátorának, 21%-os csökkenését észlelték diabeteses patkány szívéből készített homogenátumban. Inzulin kezeléssel ki tudták védeni a 3-OMFP aktivitás csökkenését, és a kezelés hatására az izmok  $K^+$  tartalma is fokozódott, mintegy jelezve a pumpa aktivitás növekedését. Pierce és Dhalla (1983) patkány ventrikuláris izomból dezoxikoláttal feltárt, tisztított szarkolemma preparátumon a p-nitrofenil-foszfátáz (pNPP) aktivitás 24%-os csökkenését igazolták 8 héttel a streptozotocin kezeles után. A felsorolt adatok alátámasztják azt is, hogy az általunk módosított  $^3(H)$ -ouabain kötési eljárás megbízható módszer a Na-pumpa denzitásának mérésére.

A gyors kontrakciójú extensor digitorum longus izomban nem észleltük a  $^3(H)$ -ouabain kötőhelyek számának szignifikáns csökkenését (II. táblázta). A két eltérő típusú izom közötti differencia összefüggésbe hozható az izmok eltérő funkcionális, morfológiai, és anyagcsere sajátosságaival. A soleus izom a patkányban zömében lassú oxidatív (SO) típusú rostokból áll, és a gyors

oxidatív-glikolitikus (FOG) rostok aránya mindössze 10-12%. Ezzel szemben az extensor digitorum longus izomban a FOG rostok aránya 61%, a gyors glikolitikusé (FG) 35% és az SO típusúaké 4%. (Nicol és Burce 1982). Armstrong és mtsai (1975) adatai szerint a streptozotocinnal kiváltott diabetes eltérő hatást gyakorol a patkány izom különböző típusú rostjaira. Hegarty és Rosholt (1981) adatai igazolják, hogy a diabeteszes állatok gyors izmainak rostátmérője nagyobb mértékben csökken mint a lassúaké.

A fentiek alapján egyrészt valószínűnek látszik az a feltételezés, hogy a Na-pumpa koncentráció eltérő viselkedése a streptozotocin kezelést követően összefüggésbe hozható az eltérő rostösszetétellel. Ugyanakkor arra is fel kell hívni a figyelmet, hogy a felszín/tömeg arány determináló tényező a vanadát facilitált ouabain kötési eljárásnál, ezért a rostátmérő csökkenése miatt bekövetkező relatív felszínnövekedés elfedheti a pumpakonzentráció tényleges csökkenését.

A kísérleti eredményeknek, megítélésünk szerint, klinikai vonatkozásai is vannak. A vázizomzat tömegénél fogva - a pumpahelyek koncentrációját és az intracellulárisan felhalmozott  $K^+$  mennyiségét tekintve egyaránt - a szervezet  $K^+$  homeosztázisának fontos regulátora és puffere. Az izomműködést mindig kíséri a fokozott  $K^+$  kiáramlás, s emiatt nő az extracelluláris  $K^+$  koncentrációja. A sejteket körülvevő folyadék fokozott  $K^+$  koncentrációja aktiválja a Na-pumpát, és ennek fokozott aktivitása kompenzálja a  $K^+$  veszteséget. Jól ismert ugyanakkor, hogy kontrollálatlan diabeteszesben, diabeteszes kómában hiperkalémia alakul ki. Adataink tükrében nyilvánvalónak tűnik, hogy ez összefügg a Na-pumpa koncentrációjának csökkenésével, s a lelassult visszvételezés a szérumban  $K^+$  koncentráció tartós növekedéséhez vezet.

A másik klinikai vonatkozás a diabeteszes betegek digitális terápiájával kapcsolatos. A vázizomzat ouabain-receptorai jelentős mennyiségű szívglükozidot képesek megkötni, és így csökkentik és

pufferelik a keringő, terápiásan aktív glikozidok mennyiségét. Mindazokban az állapotokban, amikor csökken a vázizmok ouabain-receptorainak száma, így diabetes mellitusban, csökkent pajzsmirigy funkció (Sharma és Banerjee 1978), a digitális terápia beindításakor a keringő glikozid koncentráció magasabb szintet ér el. Mivel a miokardiumban is csökken a digitális-receptorok száma, így a szokásos dózis bevitelével, rövid idő alatt elérhető a toxikus tartomány. Éppen ezért a diabeteszes betegek digitális terápiájánál fokozottan kell monitorizálni a szérum digitális szintjét.

#### **ÖSSZEFOGLALÁS:**

Kísérletes inzulin-dependens diabeteszt idéztek elő Wistar patkányokban 65 mg/kg dózisú streptozotocin egyszeri i.v. injekciójával. A streptozotocin injekciót követő 6.-8. héten a szív- és a lassú típusú vázizomban a megkötött ouabain mennyisége szignifikánsan kisebb volt, mint a kontroll izmoké. A gyors vázizomban észlelt kisebb ouabain kötés nem bizonyult statisztikailag szignifikánsnak.

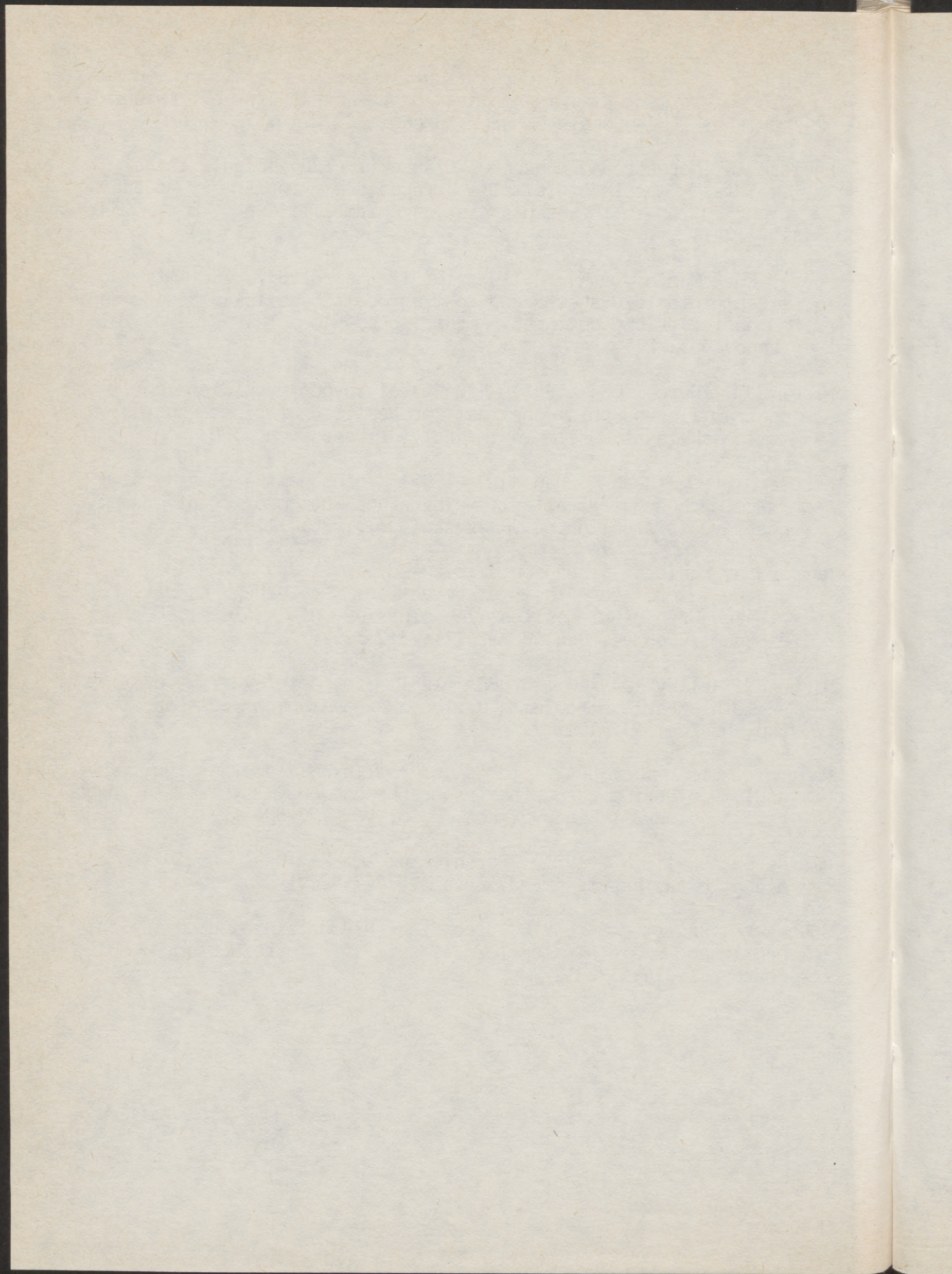
A miokardium ouabain-szenzitív  $^{86}\text{Rb}$  felvétele hasonló mértékben csökkent, mint a pumpahelyek denzitása. Következésképpen a kontroll és diabeteszes állatokban a pumpahelyenként, időegység alatt átszállított kationok száma azonos volt.

## IRODALOM

- Akera T, Yamamoto S, Temma K, Dim DH, Brody TM (1981) Is ouabain-sensitive rubidium or potassium uptake a measure of sodium pump activity in isolated cardiac muscle? *Biochim. Biophys. Acta.* **640**: 779-790
- Armstrong RB, Gollnick PD, Ianuzzo CD (1975) Histochemical properties skeletal muscle fibers in streptozotocin-diabetic rats. *Cell. and Tissue Res.* **162**: 387-394
- Bányász T, Kovács T, Somogyi J (1987) Comparison of the maximum capacity for active sodium-potassium transport in the left and right ventricle of mammalian heart. *Progress in Clinical and Biological Research.* Ed.: Skou Jc, Norby JG, Maunsbach AB, Esman M. **268B**: 233-239
- Clausen T (1986) Regulation of active Na-K transport in skeletal muscle. *Physiol. Rev.* **66**: 542-580
- Clausen T, Everst ME, Kjeldsen K (1987) Quantification of the maximum capacity for active sodium-potassium transport in rat skeletal muscle. *J. Physiol (Lond)* **388**: 163-181
- Das PK, Bray GM, Aguayo RJ, Raminsky M (1986) Diminished ouabain-sensitive sodium-potassium ATPase activity in sciatic nerves of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Exp. Neurol.* **53**: 285-288
- Fagan JM, Satarug S, Cook P, Tischler ME (1987) Rat muscle protein turnover and redox state in progressive diabetes. *Life Sci.* **40**: 783-790
- Green DA, Latimer SA (1983) Impaired rat sciatic nerve sodium-potassium adenosine triphosphatase in acute streptozotocin diabetes and its correction by dietary myo-inositol supplementation. *J. Clin. Invest.* **72**: 1058-1063
- Hansen O (1982) Studies on ouabain-complexed (Na-K)-ATPase carried out with vanadate. *Biochem. Biophys. Acta* **692**: 187-195
- Hansen O (1984) Interaction of cardiac glycosides with (Na+K)-activated ATPase. A biochemical link to digitalis-induced inotropy. *Pharmacol. Rev.* **36**: 143-163
- Hegarty PVJ, Rosholt MN (1981) Effects of streptozotocin-induced diabetes on the number and diameter of fibres in different skeletal muscle of the rat. *J. Anat.* **2**: 205-211



- Kjeldsen K (1986) Complete quantification of the total concentration of rat skeletal muscle Na+K dependent ATPase by measurements of <sup>3</sup>(H)-ouabain binding. *Biochem. J.* **240**: 725-730
- Kjeldsen K, Norgaard A, Hansen O, Clausen T (1985) Significance of skeletal muscle digitalis receptors for <sup>3</sup>(H)-ouabain distribution in the guinea pig. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **234**: 720-724
- Moore RD, Munford JW, Pillsworth TJ jr (1983) Effects of streptozotocin diabetes and fasting on intracellular sodium and adenosine triphosphatase in rat soleus muscle. *J. Physiol. (Lond)* **333**: 277-294
- Nicol CJM, Burce DS (1981) Effect of hyperthyroidism on the contractile and histochemical properties of fast and slow twitch skeletal muscle in the rat. *Pflügers rch.* **390**: 73-79
- Norgaard A, Kjeldsen K, Hansen O (1985) K-dependent 3-O-methylfluorescein phosphatase activity in crude homogenate of rodent heart ventricle. *Eur. J. Pharmacol.* **113**: 205-211
- Norgard A, Kjeldsen K, Hansen O, Clausen T (1983) A simple and rapid method for the determination of the number of <sup>3</sup>(H)-ouabain binding sites in biopsies of skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **111**: 319-325
- Olson EN, Kelley DA, Smith PB (1981) Characterization of rat skeletal muscle sarcolemma during the development of diabetes. *Exp. Neurol.* **73**: 154-172
- Onji T, Liu M (1980) Effects of alloxan-diabetes on the sodium-potassium adenosine triphosphatase enzym system in dog hearts. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **96**: 799-804
- Pierce GN, Dhalla NS (1983) Sarcolemmal Na-K-ATPase activity in diabetic rat heart. *Am. J. Physiol.* **245**: C241-C247
- Sharma VK, Banerjee SP (1978) Specific <sup>3</sup>(H)-ouabain binding to rat heart and skeletal muscle: effects of thyroidectomy. *Mol. Pharmacol.* **14**: 122-129



# A MIOZIN KÖNNYŰ LÁNC FOSZFORILÁCIÓ SZEREPE A SZÍVIZOM ÖSSZEHÚZÓDÁS SZABÁLYOZÁSÁBAN

SZABÓ JUDIT ZSUZSANNA

Debreceni Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézete

1980-ban írtam "A szív miozin sajátosságainak és a szívizom kontraktilitásának összehasonlítása egészséges, hipertrófiás és atrófiás szívizomban" című kandidátusi értekezésemet. A munka konklúziója az volt, hogy a szívizom megváltozott kontraktilitása -legalábbis részben- a miozin megváltozott sajátosságainak tulajdonítható; a miozin ATPáz aktivitásának megváltozásáért pedig valószínűleg új típusú nehéz láncok megjelenése (a miozin megváltozott izoenzim összetétele) lehet felelős, mert a miozin könnyű láncok molekulásúlyában, egymáshoz vagy a nehéz láncokhoz viszonyított mennyiségükben nem észleltünk eltérést. Már akkor felvetődött azonban bennem a kérdés: és mi a helyzet a könnyű láncok foszforilációjával? Így a miozin könnyű láncok lehetséges élettani szerepére vonatkozó közleményeket az elmúlt tíz év során figyelemmel kísértem és az erre vonatkozó irodalmi áttekintést adom itt közre.

Mint ismeretes, a miozin könnyű láncainak egyikét, az ún. "DTNB" /5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoesav)/-könnyű láncot egy specifikus, kalciummal aktiválható könnyű lánc kináz foszforilálhatja (PERRIE és mtsai, 1973). Bár az eredeti

megfigyelést vázizmon tettek, rövidesen nyilvánvalóvá vált, hogy gerincesek különböző sejtjeiből származó miozinok regulatorikus könnyű láncai a vázizom miozinhoz hasonlóan reverzibilisen foszforilálódhatnak és defoszforilálódhatnak (ADELSTEIN és mtsai, 1973; FREARSON és PERRY, 1975; FREARSON és mtsai, 1976/a). A foszforilálódó regulatorikus miozin könnyű láncot FREARSON és PERRY (1975) P("phosphorylatable")-könnyű láncnak nevezték, megjelölésére a továbbiakban én is ezt használom. Kimutatták azt is, hogy simaizomban, továbbá nem izomszövetben, pl. trombocitákban a P-könnyű láncok foszforilációja a miozin aktin-aktivált ATPáz aktivitásának jelentős fokozódását eredményezi (ADELSTEIN és CONTI, 1975; GORECKA és mtsai, 1976; SMALL és SOBIESZEK, 1977). Ez a megállapítás összhangban egyéb kísérleti eredményekkel ahhoz a koncepcióhoz vezetett, hogy a P-könnyű láncok foszforilációja és defoszforilációja a simaizom kontrakcióját szabályozó mechanizmus obligát része (ADELSTEIN és EISENBERG, 1980; STULL és mtsai, 1980).

A P-könnyű lánc foszforilációnak a harántcsíkolt izom és szívizom kontrakció szabályozásában betöltött szerepével kapcsolatban azonban számos negatív, illetve egymásnak ellentmondó adat látott napvilágot. E közleményeket áttekintve megpróbálok választ adni arra a kérdésre is, hogy megváltozik-e a foszforiláció mértéke a szívizomban a kontraktilitást akut vagy krónikus jelleggel fokozó szerek (pl. pozitív inotrop hatású szerek) vagy beavatkozások (pl. fokozott fizikai megterhelés, tréning) hatására.

Kezdeti kísérletekben a P-könnyű lánc foszforilációnak a vázizom miozin ATPáz aktivitásra gyakorolt hatását tanulmányozták (MORGAN és mtsai, 1976). A foszforiláció a tisztított miozin vagy nehéz meromiozin aktin jelenlété-

ben vagy hiányában mért ATPáz aktivitását nem befolyásolta és az aktomiozin ATPáz aktivitását sem változtatta meg. Ezek a kezdeti, később mások által is megerősített kísérletek arra engedtek következtetni, hogy vázizomban és szívizomban -szemben a simaizommal- a P-könnyű láncok foszforilációja az izomkontrakció létrejöttéhez nem elengedhetetlenül szükséges, legfeljebb a kontrakciót módosíthatja (ADELSTEIN és EISENBERG, 1980; STULL és mtsai, 1980).

Lényegében ezt az elgondolást erősítették meg azok a kísérletek is, melyekben a foszforilációt in vivo mérték és kimutatták, hogy a vázizom összehúzódás foszforiláció nélkül is végbemegy (MANNING és STULL, 1979). A miozin P-könnyű lánc foszforiláció csupán a vázizom tetanuszos stimulációja hatására fokozódott, időbeli lezajlása pedig a maximális feszülés poszttetanuszos potenciációjának lefutásával mutatott párhuzamot (BÁRÁNY és mtsai, 1979; MANNING és STULL, 1979). Mindezek alapján arra következtettek, hogy a foszforilációnak a vázizom tetanuszos stimulációját követő izometriás összehúzódások megnagyobbításában szerepe lehet (STULL és mtsai, 1980). A szív miozin P-könnyű láncok foszforilációjával, illetve annak lehetséges élettani szerepével kapcsolatban pedig néhány ellentmondó adat ugyan napvilágot látott (FREARSON és mtsai, 1976/b; JEACOCKE és ENGLAND, 1980), azonban az a fel fogás volt általános, hogy a szívmiozinban, éppúgy mint vázizomban az izomösszehúzódás a miozin P-könnyű láncok foszforilációja nélkül is megtörténik; a foszforiláció legfeljebb a kontrakciót módosíthatja.

Mivel a P-könnyű láncok foszforilációja a miozin ATPáz aktivitását közvetlenül nem befolyásolta, a miozin egyéb tulajdonságaira gyakorolt hatását vizsgálták. Tanulmányozták pl. a foszforiláció hatását a szív és vázizom

miozin kalcium kötésére (HOLROYDE és mtsai, 1979/a; KARDAMI és GRATZER, 1982), továbbá az előzetesen disszociált P-könnyű láncoknak a miozin nehéz láncokhoz történő reasszociációjára (BHAN és mtsai, 1981); a foszforiláció lehetséges élettani szerepének feltárására vonatkozóan kevés sikerrel.

CROW és KUSHMERICK (1982/a és b) intakt vázizmokkal, COOKE és mtsai (1982) vázizom miofibrillumokkal, FRANKS és mtsai (1984) szívizom miofibrillumokkal végzett kísérletei alapján azonban úgy tűnt, hogy a P-könnyű lánc foszforiláció jól meghatározott kinetikai hatásokkal rendelkezik. Kimutatták ugyanis, hogy a foszforiláció az izometriás feszülés kifejlődése során az ATP hidrolízis sebességét csökkentette, azonban a létrejött maximális feszülés nem változott. Az eredményeket az izomösszehúzódás "kereszt-híd teóriá"-ja alapján úgy értelmezték, hogy a foszforiláció a miozin kereszthidak kialakulásának és felbomlásának a sebességét csökkenti (ennélfogva csökken az ATPáz aktivitás) és egyidejűleg részarányosan nő az az idő, amíg a kereszthidakat alkotó miozin fejek aktinhoz vannak kötve (ami viszont a változatlan izometriás feszülésért felelős). Így a P-könnyű láncok foszforilációja -az izomkontrakció jelenleg elfogadott sémája szerint (ADELSTEIN és EISENBERG, 1980)- egy vagy több olyan lépésnek a sebességét csökkentheti, melyek az aktinnak a miozintól történő disszociációját megelőzik (CROW és KUSHMERICK, 1982/a és b; COOKE és mtsai, 1982; FRANKS és mtsai, 1984). E séma alapján várható volt, hogy a foszforiláció hatására izotóniás kontrakció során is csökken az izom megrövidülési sebessége az aktomiozin turnover sebességének a csökkenése miatt. Egér gyors vázizmokban ezt meg is figyelték (CROW és KUSHMERICK, 1982/b), ahol a P-könnyű lánc foszforiláció 90%-os fokozódása az izom megrövidü-

lési sebességének mintegy 50%-os csökkenésével járt. Azonban BUTLER és mtsai (1983) vizsgálatai ezt az elképzelést nem erősítették meg. Bár erre magyarázattal szolgálni nem tudtak, jórészt elfogadást nyert az előbbi munkákon (CROW és KUSHMERICK, 1982/a és b; COOKE és mtsai, 1982; FRANKS és mtsai, 1984) alapuló következtetés, nevezetesen hogy az aktomiozin turnover sebességének a miozin P-könnyű láncok foszforilációja hatására bekövetkező csökkenése -legalábbis gyors vázizomban és szívizomban- az izom biomechanikai sajátosságainak az energiamegtakarítás irányába mutató változását jelentheti.

COOKE és mtsai (1982) vázizom, továbbá FRANKS és mtsai (1984) szívizom miofibrillumokkal végzett kísérletei felvilágosítással szolgálnak arra vonatkozóan is, hogy a kezdeti kísérletekben miért nem sikerült a foszforilációnak a miozin ATPáz aktivitásra semmiféle hatását kimutatni. Ugyanis a foszforiláció a miofibrilláris ATPáz aktivitást is csak abban az esetben csökkentette, ha a miofibrillumokat előzetes glutáraldehid kezeléssel "rögzítették". A glutáraldehid kezelés megakadályozza a miofibrillumok ATP és kalcium hozzáadásra bekövetkező összehúzódását (MIKAWA, 1979). Ha a glutáraldehid kezelést kalcium jelenlétében végzik a regulatorikus fehérjék (tropomiozin és troponin) olyan, ún. "aktivált" konformációban rögzülnek, ami az aktin-miozin kölcsönhatást -akár további kalcium hozzáadás nélkül is- lehetővé teszi. Kalcium hiányában végzett glutáraldehid kezelés viszont "inhibitoros" konformációban rögzíti a regulatorikus fehérjéket, amikor az aktin és miozin kölcsönhatása gátolt (MIKAWA, 1979).

Különböző időtartamú, kalcium jelenlétében végzett glutáraldehid előkezelést követő ATPáz aktivitás mérések azt mutatták, hogy a foszforiláció három különböző spe-

cieszből (patkány, kutya, nyúl) származó szív miofibrillumok ATPáz aktivitását mintegy 50%-al csökkentette (FRANKS és mtsai, 1984). A glutáraldehiddel nem rögzített miofibrillumokban a foszforilációnak az ATPáz aktivitásra gyakorolt hatását nem észlelték. A glutáraldehid kezelés jelentőségét FRANKS és mtsai (1984) abban látják, hogy meggátolja a szarkomér ATP és kalcium hozzáadásra bekövetkező megrövidülést, biztosítja a miofibrillumok rendezett filamentáris szerkezetét, továbbá lehetővé teszi, hogy a foszforiláció hatása a miozin molekula feji régióját a rúd résszel összekötő "csukló" közvetítésével manifesztálódjon (RITZ-GOLD és mtsai, 1980).

Az előbbieken vázolt, kétségtelenül tetszetős hipotézis ellen azonban szólnak bizonyos érvek. Elsőként említeném, hogy foszforiláció hatására az ATP hidrolízis sebességének a csökkenését gyors vázizomban és szívizomban figyelték meg, lassú vázizomban azonban nem (CROW és KUSHMERICK, 1982/a,b,c). Tekintettel arra, hogy a szívizom miozin kinetikai és egyéb sajátosságai inkább a lassú vázizom miozinéhoz állnak közelebb (SWYNGHEDAUW és mtsai, 1976) nehéz elképzelni, hogy egy olyan jelenség, mint az aktomiozin turnover sebességének foszforiláció hatására bekövetkező csökkenése gyors vázizomban és szívizomban létrejön, lassú vázizomban azonban nem.

Intakt szíven és izolált rostpreparátumokon végzett vizsgálatok arra utalnak, hogy közvetlen összefüggés áll fenn az intracelluláris szabad kalcium koncentráció és a maximális izomfeszülés, továbbá az izom megrövidülési sebessége között (LANGER, 1974). Intakt működő izomban a megrövidülésért illetve az izomfeszülésért felelős biokémiai és biofizikai mechanizmusok alapját a miozin kereszt-hidak és az aktin molekulák közötti kölcsönhatások képezik (KATZ, 1977). Az izom kontraktilis elemei által lét-



rehozott feszülés nagyságát pedig az egységnyi izomkeresztmetszetre vonatkoztatott ilyen "erőt termelő" aktív helyek száma határozza meg (KATZ, 1977). Változatlan izom illetve szarkoméra hossznál az aktív helyek száma a kalciumot kötő troponin molekulák számától, illetve a felszabadult kalcium mennyiségétől függ (LANGER, 1974). Az izom megrövidülési sebessége pedig -legalábbis terheletlen izomban- a kereszthidak kialakulásának és megszűntének sebességével, azaz a miozin ATPáz aktivitásával áll szoros korrelációban (BÁRÁNY, 1967; DELCAYRE és SWYNGHE-DAUW, 1975).

Mindezek értelmében az aktomiozin turnover sebességének foszforiláció hatására bekövetkező csökkenése azt jelenti, hogy a szívizomban ez éppen olyan beavatkozások hatására jön létre, amikor az intracelluláris kalcium tartalom nő (pl. béta adrenerg stimuláció). Közismert azonban, hogy szívizomban az intracelluláris kalcium tartalom fokozódása éppen a kontrakciós erő és a kontrakció maximális sebességének a fokozódásával (pozitív inotrop hatás) jár együtt. Ráadásul intakt szíven végzett vizsgálatok többsége nem mutatott változást a P-könnyű láncok foszforilációjának a mértékében pozitív inotrop beavatkozások hatására (HOLROYDE és mtsai, 1979/b; HIGH és STULL, 1980; JEACOCKE és ENGLAND, 1980; WESTWOOD és PERRY, 1981). Ezért teljesen nyilvánvaló következtetés, hogy bármi lényen is a foszforiláció szívizom kontrakciót moduláló hatásának a lényege, ha a foszforiláció szintje nem változik pozitív inotrop hatást eredményező beavatkozások következtében, nem lehet hatása az aktomiozin turnover sebességére sem.

Az előbb említett vizsgálatokban (HOLROYDE és mtsai, 1979/b; HIGH és STULL, 1980; JEACOCKE és ENGLAND, 1980; WESTWOOD és PERRY, 1981) kontroll perfúziós kísérletek-

ben a P-könnyű láncok 0.3-0.5 mól foszfátot tartalmaznak/mól könnyű lánc és ez a szint 5 perces katekolamin infúziót követően vagy a perfuzátum kalcium koncentrációjának az emelése hatására állandó maradt, holott azt várták, hogy e beavatkozások az intracelluláris kalcium tartalom fokozódása révén aktiválják a miozin P-könnyű lánc kinázt és nő a P-könnyű láncok foszforilációja. Így magyarázatként felmerült az a lehetőség, hogy a kináz aktivitása a szívben alacsony, legalábbis a vázizomhoz viszonyítva (ENGLAND, 1984). Azonban kiderült, hogy fokozott a  $^{32}\text{P}$  beépülése a P-könnyű láncokba olyan körülmények között is, amikor a katekolamin hatásra az össz foszfát tartalomban nincs változás (JEACOCKE és ENGLAND, 1980). Ez viszont a szívben egy aktív kináz/foszfataz rendszer jelenlétét valószínűsíti. E kísérleteken alapuló számítások szerint ENGLAND (1984) feltételezi, hogy a szívben a miozin könnyű lánc kináz már nyugalmi körülmények között is teljesen aktív (azaz a nyugalmi körülmények között kifejeződő kináz aktivitás azonos a kivonható össz kináz aktivitással /WOLF és HOFMANN, 1980/) és így az intracelluláris kalcium koncentráció bármi módon történő emelése sem fokozhatja tovább a kináz aktivitást (ENGLAND, 1984). Ez az elgondolás magyarázattal szolgálhat arra vonatkozóan, hogy miért nem történik fokozódás a P-könnyű láncok foszfát tartalmában akut inotrop beavatkozások hatására.

A teljesség kedvéért meg kell azonban említeni, hogy voltak olyan kísérletek, amelyekben pozitív inotrop hatású beavatkozások következményeként a P-könnyű láncok foszfát tartalmában fokozódásról számoltak be (KOPP és BÁRÁNY, 1979; RESINK és mtsai, 1981/a és b). Ezekben a vizsgálatokban a foszforiláció mértéke a kontrollokban sokkal alacsonyabb (0.07-0.12 mól foszfát/mól könnyű lánc)

volt annál, mint amit mások mértek. Mindez arra enged következtetni, hogy a különböző kísérleti feltételek között kifejeződő kináz/foszfataz aktivitástól, illetve ezek egymáshoz viszonyított arányától függ, hogy milyen mértékű a P-könnyű láncok foszforilációjának a szintje kontroll kísérletekben, és hogy ez fog-e változni az intracelluláris kalcium tartalom fokozódásával járó beavatkozások hatására.

Az eddigiekből nyilvánvaló, hogy a P-könnyű láncokat foszforiláló rendszer (P-könnyű láncok, mint szubsztrát, miozin könnyű lánc kináz és foszfataz) jelenléte a szívizomban az aktinon alapuló reguláció mellett a szívizom kontraktilitásának egy olyan, további, miozinon alapuló regulációs lehetőségét jelentené, melynek ki- és bekapcsolása szintén az intracelluláris kalcium tartalom fokozódása és csökkenése révén történne, miután a miozin könnyű lánc kináz kalcium+kalmodulin függő enzim (PIRES és mtsai, 1974; WOLF és HOFMANN, 1980). Nagy valószínűséggel cáfolható azonban, -hogy legalábbis akut beavatkozások során, - az intracelluláris kalcium tartalom fokozódása a szívizom kontraktilitását a P-könnyű láncok foszforilációja révén is szabályozza. ENGLAND (1984) szerint a szívben lévő össz kináz aktivitásnak 4-6 percre lenne szüksége ahhoz, hogy valamennyi P-könnyű láncot foszforilálja. Így ez a folyamat nem elég gyors ahhoz, hogy az intracelluláris kalcium tartalom fokozódásának az izom megrövidülési sebességre gyakorolt hatásáért felelős lehetne. Ezt az elképzelést az in vivo foszforiláció sebességre vonatkozó becslések is alátámasztották (ENGLAND, 1984).

Mivel a jelenleg rendelkezésre álló bizonyítékok nem támasztják alá azt az elgondolást, hogy a miozin P-könnyű lánc foszforiláció a szívizom kontraktilitás regulációjában akut jelleggel beavatkozik, alternatív lehetőséget

kerestek. Jól ismert, hogy a szívizom kontraktilitásában krónikus jellegű változások történnek, pl. fizikai megterhelés (tréning) hatására, vagy pl. hipertenzív hipertrofiában. E kontraktilitás változások egyrésze kétségkívül a különböző ATPáz aktivitású miozin izoenzimek részarányában bekövetkezett eltéréseknek tulajdonítható (HOH és mtsai, 1978; HOH és EGERTON, 1979; RUPP, 1981; MORANO és mtsai, 1988). Azonban MORANO és mtsai (1988) szerint spontán hipertenzív patkányokban a miozin P-könnyű lánc foszforiláció mértéke is csökken, ami az ilyen állatokban idős korban kifejlődő szívelégtelenség kialakulásához hozzájárulhat.

RESINK és mtsai (1981/a) a fokozott fizikai megterhelés (tréning)-hez történő adaptáció biokémiai alapjait keresve jutottak a miozin foszforiláció szerepének vizsgálatához. Patkányokat 9 héten át (5 nap hetente, naponta napi 15 percről 60 percre növelve a taposómalomban történő futtatás idejét) futtattak és kontroll, valamint trenírozott patkányok szív-miozinjának  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz, valamint a természetes aktomiozin  $\text{Ca}^{2+}$ -stimulált  $\text{Mg}^{2+}$ -függő ATPáz aktivitásait hasonlították össze. Futtatott patkányok szív-miozinjának a  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz aktivitása lényegesen magasabb volt, mint a kontrolloké, azonban a természetes aktomiozin  $\text{Ca}^{2+}$ -stimulált  $\text{Mg}^{2+}$ -függő ATPáz aktivitása nem változott. Az izolált perfundált szíveket béta adrenerg agonista izoproterenollal kezelve mind a troponin gátló alegységének, a troponin-I-nek, mind a miozin könnyű láncoknak a foszforilációja fokozódott. A troponin-I foszforilációjának a mértéke (1 mol/mol) hasonló volt kontroll és trenírozott patkányok szívében. A miozin  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz aktivitás  $V_{\max}$  értéke izoproterenol kezelés hatására valamennyi perfundált szívben nőtt, azonban a futtatott állatok szívében lényegesen jobban, mint a kontroll-

lokban. A  $V_{max}$  fokozódása és a miozin könnyű láncok foszforilációjának mértéke és sebessége között szoros, pozitív korrelációt figyeltek meg. Így a fokozott, kalciumfüggő miozin könnyű lánc foszforiláció, amit a béta adrenerg stimuláció még tovább fokoz, reprezentálhatná azt, a tréning hatására létrejövő biokémiai választ (RESINK és mtsai, 1981/a), amihez még a tréningezett állatokban a fokozott transzszarkolemmális kalcium beáramlás is társulhat (RESINK és mtsai, 1981/b). LITTEN és mtsai (1981) ugyanakkor tiroxinnal indukált szívhipertrófiában a miozin P-könnyű láncok foszforilációjának mértékében nem észleltek változást.

Bár ezen a területen egyelőre kevés adat áll rendelkezésünkre, azok a megfigyelések, hogy

- a szívizomban a P-könnyű láncok foszforilált formában előfordulhatnak,
- a miozin könnyű lánc kináz/foszfátáz enzimpár intakt szövetben aktív,
- a foszforiláció az aktomiozin kinetikában változást okoz,

arra engednek következtetni, hogy a P-könnyű lánc foszforiláció a szívizom kontraktilitás módosításában valóban szerepet játszik.

## ÖSSZEFOGLALÁS

Ismeretes, hogy különböző típusú izmokban, valamint nem izomsejtekben a miozin könnyű láncainak egyikét egy specifikus, kalciummal aktiválható könnyű lánc kináz foszforilálhatja. Azonban míg simaizomban a miozin P-könnyű lánc foszforilációja és defoszforilációja a simaizom kontrakciót szabályozó mechanizmus obligát része, váz-

illetve szívizomban a P-könnyű lánc reverzibilis foszforilációjának szerepe nem teljesen tisztázott. Miután vázizomban és szívizomban az izomösszehúzódnak a P-könnyű láncok foszforilációja nélkül is megtörténik, annak csupán az izomösszehúzódnak modulálásában tulajdonítanak jelentőséget. Gyors vázizomban és szívizomban az aktomiozin turnover sebessége a miozin P-könnyű láncok foszforilációjának hatására csökkent, lassú vázizomban azonban nem. Ezt a jelenséget úgy értelmezik, hogy a foszforiláció gyors vázizomban és szívizomban az izom biomechanikai sajátosságainak az energiamegtakarítás irányába mutató változását jelentheti. Intakt szíven végzett vizsgálatok többsége pozitív inotrop beavatkozások hatására nem mutatott a P-könnyű láncok foszforilációjának mértékében változást. Így kevésbé valószínű, hogy akut beavatkozások során az intracelluláris kalcium tartalom fokozódása a szívizom kontraktilitását -az aktinon alapuló reguláción kívül- a P-könnyű láncok foszforilációja révén is szabályozza. Feltételezik azonban, hogy a szívizom kontraktilitását krónikus jelleggel megváltoztató hipertrófiákban (pl. fokozott fizikai megterhelés hatására vagy hipertenzív hipertrófiában) a kontraktilitás változásban a miozin izoenzimek részarányának megváltozásán kívül a P-könnyű láncok foszforilációjában bekövetkezett változás is szerepet játszhat.

#### IRODALOM

- ADELSTEIN R.S., CONTI M.A., ANDERSON W. (1973) Phosphorylation of human platelet myosin.  
Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 70, 3115-3119.

- ADELSTEIN R.S., CONTI M.A. (1975) The effect of phosphorylation on platelet myosin and studies on substrate for platelet myosin light chain kinase. In: Cell Motility, Cold Harbor Conferences on Cell Proliferation, vol. 3. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory, pp. 725-738.
- ADELSTEIN R.S., EISENBERG E. (1980) Regulation and kinetics of the actin-myosin-ATP interaction. Ann. Rev. Biochem. 49, 921-956.
- BÁRÁNY M. (1967) ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening. J. Gen. Physiol. 50, 197-218.
- BÁRÁNY K., BÁRÁNY M., GILLIS J.M., KUSHMERICK M.J. (1979) Phosphorylation-dephosphorylation of the 18,000-dalton light chain of myosin during the contraction-relaxation cycle of frog muscle. J. Biol. Chem. 254, 3617-3623.
- BHAN A., MALHOTRA A., SCHEUER J. (1981) Subunit function in cardiac myosin. J. Biol. Chem. 256, 7741-7743.
- BUTLER T.M., SIEGMAN M.J., MOOERS S.U., BARSOTTI R.J. (1983) Myosin light chain phosphorylation does not modulate cross-bridge cycling rate in mouse skeletal muscle. Science 220, 1167-1169.
- COOKE R., FRANKS K., STULL J.T. (1982) Myosin phosphorylation regulates the ATPase activity of permeable skeletal muscle fibers. FEBS Lett. 144, 33-37.
- CROW M.T., KUSHMERICK M.J. (1982/a) Myosin light chain phosphorylation is associated with a decrease in the energy cost of contraction in fast twitch mouse muscle. J. Biol. Chem. 257, 2121-2124.

- CROW M.T., KUSHMERICK M.J. (1982/b) Phosphorylation of myosin light chains in mouse fast-twitch muscle associated with reduced actomyosin turnover rate. *Science* 217, 835-837.
- CROW M.T., KUSHMERICK M.J. (1982/c) Chemical energetics of slow- and fast-twitch muscles of the mouse. *J. Gen. Physiol.* 79, 147-166.
- DELCAYRE C., SWYNGHEDAUV B. (1975) A comparative study of heart myosin ATPase and light subunits from different species. *Pflügers Arch.* 355, 39-47.
- ENGLAND P.J. (1984) The significance of phosphorylation of myosin light chains in heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 16, 591-595.
- FRANKS K., COOKE R., STULL J.T. (1984) Myosin phosphorylation decreases the ATPase activity of cardiac myofibrils. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 16, 597-604.
- FREARSON N., PERRY S.V. (1975) Phosphorylation of the light-chain components of myosin from cardiac and red skeletal muscles. *Biochem. J.* 151, 99-107.
- FREARSON N., FOCANT B.W.W., PERRY S.V. (1976/a) Phosphorylation of light chain component of myosin from smooth muscle. *FEBS Lett.* 63, 27-32.
- FREARSON N., SOLARO R.J., PERRY S.V. (1976/b) Changes in phosphorylation of P light chain of myosin in perfused rabbit heart. *Nature* 264, 801-802.



- GORECKA A., AKSOY M.O., HARTSHORNE D.J. (1976) The effect of phosphorylation of gizzard myosin on actin activation.  
Biochem. Biophys. Res. Commun. 71, 325-331.
- HIGH C.W., STULL J.T. (1980) Phosphorylation of myosin in perfused rabbit and rat hearts.  
Am. J. Physiol. 239, H756-H764.
- HOH J.F.Y., McGRATH P.A., HALE P.T. (1978) Electrophoretic analysis of multiple forms of rat cardiac myosin: Effects of hypophysectomy and thyroxine replacement.  
J. Mol. Cell. Cardiol. 10, 1053-1076.
- HOH J.F.Y., EGERTON L.J. (1979) Action of triiodothyroxine on the synthesis of rat ventricular myosin isoenzymes.  
FEBS Lett. 101, 143-148.
- HOLROYDE M.J., POTTER J.D., SOLARO R.J. (1979/a) The calcium binding properties of phosphorylated and unphosphorylated cardiac and skeletal myosins.  
J. Biol. Chem. 254, 6448-6482.
- HOLROYDE M.J., SMALL D.A.P., HOWE E., SOLARO R.J. (1979/b) Isolation of cardiac myofibrils and myosin light chains with in vivo levels of light chain phosphorylation.  
Biochim. Biophys. Acta 587, 628-637.
- JEACOCKE S.A., ENGLAND P.J. (1980) Phosphorylation of myosin light chains in perfused rat heart. Effect of adrenaline and increased cytoplasmic calcium ions.  
Biochem. J. 188, 763-768.

- KARDAMI E., GRATZER W.B. (1982) Interaction of cardiac myosin and its light chains with calcium ions and regulation of binding by phosphorylation.  
J. Mol. Cell. Cardiol. 14, 73-80.
- KATZ A.M. (1977) Physiology of the Heart. Raven Press, New York, pp. 175-196 és 89-119.
- KOPP S.J., BÁRÁNY M. (1979) Phosphorylation of the 19,000-dalton light chain of myosin in perfused rat heart under the influence of negative and positive inotropic agents.  
J. Biol. Chem. 254, 12007-12012.
- LANGER G.A. (1974) Ionic movements and the control of contraction. In: The Mammalian Myocardium (ed. by G.A. LANGER, A.J. BRADY). A Wiley Biomedical-Health Publication, John Wiley and Sons, New York, pp.193-218.
- LITTEN R.Z., MARTIN B.J., HOWE E.R., ALPERT N.R., SOLARO R.J. (1981) Phosphorylation and adenosine triphosphatase activity of myofibrils from thyrotoxic rabbit hearts.  
Circ. Res. 48, 498-501.
- MANNING D.R., STULL J.T. (1979) Myosin light chain phosphorylation and phosphorylase activity in rat extensor digitorum longus muscle.  
Biochem. Biophys. Res. Commun. 90, 164-170.
- MIKAWA T. (1979) 'Freezing' of Ca-regulated conformation of reconstituted thin filament of skeletal muscle by glutaraldehyde.  
Nature 278, 473-474.

- MORANO I., LENGSELD M., GANTEN U., GANTEN D., RUEGG J. C. (1988) Chronic hypertension changes myosin isoenzyme pattern and decreases myosin phosphorylation in the rat heart.  
J. Mol. Cell. Cardiol. 20, 875-886.
- MORGAN M., PERRY S.V., OTTAWAY J. (1976) Myosin light-chain phosphatase.  
Biochem. J. 137, 687-697.
- PERRIE W.T., SMILLIE L.B., PERRY S.V. (1973) A phosphorylated light-chain component of myosin from skeletal muscle.  
Biochem. J. 135, 151-164.
- PIRES E., PERRY S.V., THOMAS M.A.W. (1974) Myosin light chain kinase, a new enzyme from striated muscle.  
FEBS Lett. 41, 292-296.
- RESINK T.J., GEVERS W., NOAKES T.D., OPIE L.H. (1981/a) Increased cardiac myosin ATPase activity as a biochemical adaptation to running training: Enhanced response to catecholamines and a role for myosin phosphorylation.  
J. Mol. Cell. Cardiol. 13, 679-694.
- RESINK T.J., GEVERS W., NOAKES T.D. (1981/b) Effects of extracellular calcium concentrations on myosin P light chain phosphorylation in hearts from running-trained rats.  
J. Mol. Cell. Cardiol. 13, 753-765.
- RITZ-GOLD C.J., COOKE R., BLUMENTHAL D.K., STULL J.T. (1980) Light chain phosphorylation alters the conformation of skeletal muscle myosin.  
Biochem. Biophys. Res. Commun. 93, 209-214.

- RUPP M. (1981) The adaptive changes in the isoenzyme pattern of myosin from hypertrophied rat myocardium as a result of pressure overload and physical training.  
Basic Res. Cardiol. 76, 79-88.
- SMALL J.V., SOBIESZEK A. (1977) Ca-regulation of mammalian smooth muscle actomyosin via a kinase-phosphatase-dependent phosphorylation and dephosphorylation of the 20000-M<sub>r</sub> light chain of myosin.  
Eur. J. Biochem. 76, 521-530.
- STULL J.T., BLUMENTHAL D.K., COOKE R. (1980) Regulation of contraction by myosin phosphorylation. A comparison between smooth and skeletal muscles.  
Biochem. Pharmacol. 29, 2537-2543.
- SWYNGHEDAUW B., LEGER J.J., SCHWARTZ K. (1976) The myosin isozyme hypothesis in chronic heart overloading.  
J. Mol. Cell. Cardiol. 8, 915-924.
- WESTWOOD S.A., PERRY S.V. (1981) The effect of adrenaline on the phosphorylation of the P light chain of myosin and troponin-I in the perfused rabbit heart.  
Biochem. J. 197, 185-193.
- WOLF H., HOFMANN F. (1980) Purification of myosin light chain kinase from bovine cardiac muscle.  
Proc. Natl. Acad. Sci. 77, 5852-5855.

# KERINGÉSFARMAKOLÓGIAI KUTATÁS A BIOGAL FARMAKOLÓGIAI OSZTÁLYÁN

TAKÁCS ERZSÉBET ILDIKÓ

BIOGAL Gyógyszergyár Rt. OTK Farmakológiai Kutató Osztály, Debrecen

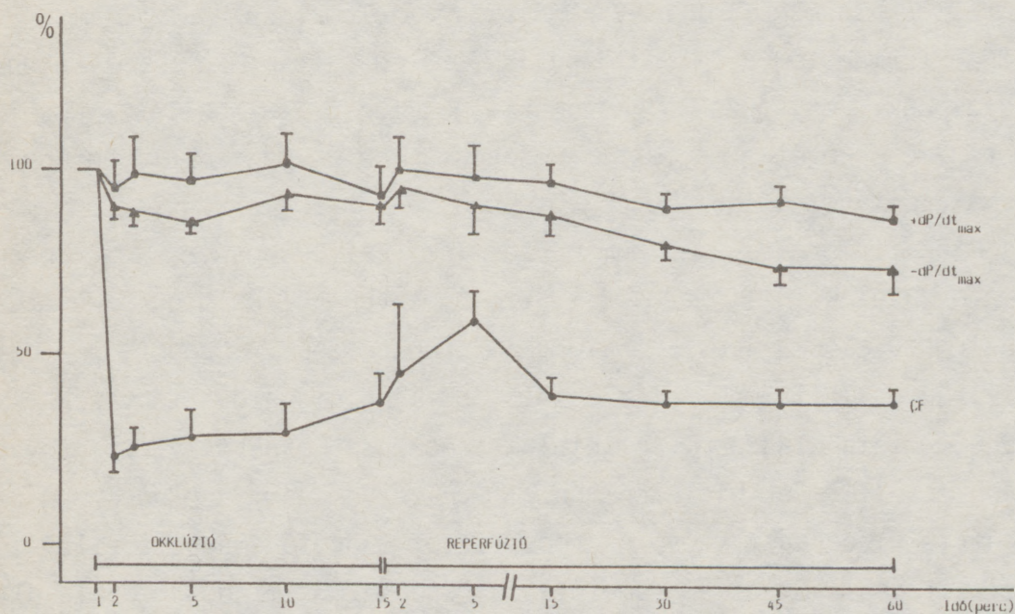
A BIOGAL Gyógyszergyár OTK Farmakológiai Kutató Osztályán a kísérletes farmakológiai vizsgálatok széles skálája mellett a keringésfarmakológia területén két fő irányban folytatunk kutatásokat: egyrészt a koronária okklúzió és az azt követő reperfúzió következményeit, másrészt a pajzsmirigyhormonok szivhatásait vizsgáljuk kiterjedtebben.

Mint ismeretes, a humán isémiás szivbetegségek és ennek talaján kialakuló infarktusos szövödmények a kardiovaszkuláris megbetegedéseknek egyik kiemelt fontosságú csoportja. A civilizációs ártalmak etiológiai és kondicionáló tényezők a betegség kialakulásában. A fiatal keresőképes korosztályt is egyre inkább érintik, a hirtelen halál veszélye nagy, elsősorban a koronária elzáródást vagy a reperfuziót követő kamrafibrilláció következtében. Mind a megelőzésre irányuló, mind a kialakult állapot javítására szolgáló kezeléseknek, mind a gyors beavatkozásra, a fatális kimenetel megakadályozására, az érintett miokardiális szegment életképességének, mechanikai és biokémiai funkcióinak visszaállítására, a károsodás kiterjedésének

csökkentésére eredményesen alkalmazható gyógyszerek kutatásának nagy a jelentősége.

Az elmúlt két év során olyan in vivo és in vitro módszereket vezettünk be, illetve fejlesztettünk ki, amelyek révén az okklúziós és reperfúziós szívkárosodások patomechanizmusa, gyógyszeres kivédésének lehetősége kísérletesen tanulmányozható.

Jelen munkánkban in vivo körülmények között a bal koronária anterior descendens (LAD) 15 perces leszorításával előidézett isémiás és az ezt követő 60 perces reperfúziós állapot hatásait vizsgáltuk altatott, nyitott mellkasú kutyákon.



1. ábra A globális és szegmentális szívfunkció változása az okklúziós és reperfúziós periódus alatt

Megállapítottuk, hogy a globális szívfunkció, amit a balkamrai nyomásból számított pozitív  $dP/dt_{max}$  és a negatív  $dP/dt_{max}$  értékekkel jellemeztünk, nem változott számottevően az okklúzió és

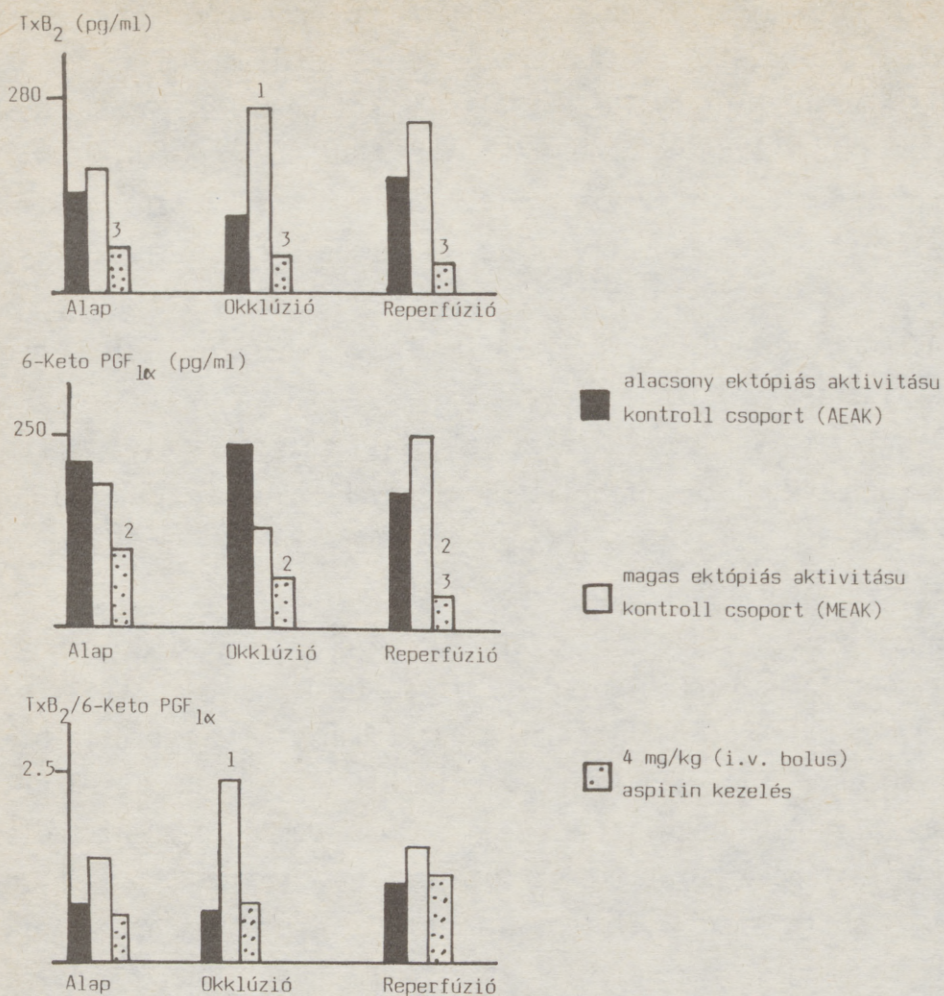
reperfúzió folyamán (1. ábra). Ugyanakkor az isémiás miokardium részre felhelyezett nyulásmérővel mért kontrakciós erő (CF) szignifikánsan, mintegy 70-80 %-al csökkent az okklúzió alatt, majd a reperfúzió kezdetén egy átmeneti emelkedés után, az ép miokardiális szegmensthez viszonyítva, mintegy 50 %-al csökkentebb értéket mutatott és maradt végig a 60 perces megfigyelés folyamán (1. ábra).

Az aorta középnyomás nem, a balkamrai végdiasztolés nyomás nőtt a kísérleti periódus alatt.

EKG-n regisztrálva az elektrofiziológiai változásokat, a kamrai extraszisztolék, a kamrafibrilláció leggyakrabban az okklúzió 1-3 illetve 10-15 perce között és/vagy a reperfúzió első perceiben jelentkezett, 60-70 %-os mortalitást okozva.

Az isémia és a reperfúzió számtalan sok biokémiai konzekvenciája közül (acidózis, intrecelluláris ATP,  $Ca^{2+}$  szint változások, katekolamin felszabadulás, leukocyta migráció stb.) a tromboxán ( $TxB_2$  RIA-KIT) és prosztaciklin (6-keto  $PGF_{1x}$  RIA-KIT) release valamint a fokozott szabadgyök képződés és a ventrikuláris aritmiák fellépése közötti összefüggéseket vizsgáltuk.

Az alap tromboxán szintet valamint a tromboxán/prosztaciklin arányt, a magas ektópiás aktivitású kezeletlen állatoknál magasabbnak találtuk, amely értékek az isémia és a reperfúzió alatt tovább emelkedtek (2. ábra). Az alacsony ektópiás aktivitású kontroll csoportnál a prosztaciklin alapérték volt magasabb, és a kísérlet folyamán emelkedő tendenciát mutatott (2. ábra). Az okklúzió előtt 5 perccel vénásan adott 4 mg/kg aspirin a tromboxán és prosztaciklin szintet és az okklúzió alatti magas tromboxán/prosztaciklin arányt szignifikánsan csökkentette (2. ábra).



- 1 szignifikáns különbség a két kontroll csoport között  
 2 szignifikáns különbség AEAK és az aspirin kezelt csoportok között  
 3 szignifikáns különbség MEAK és az aspirin kezelt csoportok között  
 A szignifikancia mértéke  $p < 0,05$

2. ábra A tromboxán, prosztaciklin szintek és a tromboxán/prosztaciklin arány változása az alacsony és magas ektópiás aktivitású kezeletlen állatoknál és 4 mg/kg aspirin kezelést követően, a kísérleti periódus különböző időpontjaiban. (A vérminták a jobb pitvarból származtak.)



Az aspirin kezelés gátolta az okklúzió alatti ektópiás aktivitás fokozódást és a kamrafibrillációk fellépését, a reperfuzió alatt jelentkező ventrikuláris aritmiákat kevésbé vagy nem befolyásolta (1. táblázat).

1. Táblázat

Az aspirin kezelés hatása a szivizom ektópiás aktivitására és az állatok túlélésére

	n	Kamrafibrilláció előfordulásának gyakorisága		Az állatok túlélése
		Okklúzió	Reperfuzió	
Kontroll	17	6/17	5/17	6/17
<sup>x</sup> 1 mg/kg aspirin	3	1/3	1/3	1/3
<sup>x</sup> 4 mg/kg aspirin	4	0/4	3/4	1/4

<sup>x</sup> Aspirin kezelés i.v. bolusban, 5 perccel az okklúzió előtt

A reperfuzió előtt 5 perccel intravénásan adott 200 mg/kg D-penicillamin a reperfuzió alatt jelentkező fokozott ektópiás aktivitás és kamrafibrilláció ellen nyújtott teljes védelmet (2. táblázat).

2. táblázat

A D-penicillamin kezelés hatása a szivizom ektópiás aktivitására  
és az állatok túlélésére

	n	Kamrafibrilláció előfordulásának gyakorisága a reperfúzió alatt	Az állatok túlélése
Kontroll	11	5/11	6/11
<sup>x</sup> D-penicillamin 200 mg/kg	4	0/4	4/4

<sup>x</sup> D-penicillamin kezelés i.v. bolusban, 5 perccel a reperfúzió előtt

Eredményeink, az irodalmi adatokhoz hasonlóan azt mutatták, hogy az érintett szivrést a magas tromboxán szint és főleg a magas tromboxán/prosztaciklin arány, feltehetően a mikrocirkuláció romlása révén - az isémia egyéb káros következményei mellett - jelentős szerepet játszik a ventrikuláris aritmiák kialakulásában, míg a magas prosztaciklin koncentrációnak protektív hatása van.

A vénásan adott 4 mg/kg aspirinnek az okklúzió alatti kamrafibrillációt kivédő hatása, a fentiek alapján, a tromboxán szintet illetve a tromboxán/prosztaciklin arányt csökkentő hatásával magyarázható.

A vénásan adott, scavenger hatású D-penicillamin reperfúzió alatti kamrafibrillációt gátló hatása, a szabadgyök felszabadulásnak a ventrikuláris aritmiák generálódásában játszott szerepét tükrözi. További kísérleteinkben azt a feltételezésünket próbáljuk megerősíteni, hogy e két ismert gyógyszer, vénás alkalmazási mód mellett, az infarktust követő akut életveszély elhárításában terápiás jelentőséggel bír.

Az egyes jelenségeket, a koszoruér reaktivitásának és prosztaciklin szintézisének változásai hipoxia hatására, in vitro körülmények között is tanulmányoztuk.

A fenti és más specieszeken beállított in vivo és in vitro vizsgálati modelljeinken a gyár új, originális, különböző hatásmechanizmusu vegyületeinek (gyökfogók, antiaritmikumok, kardiotonikumok, antitrombotikumok) keringésfarmakológiai tesztelését végezzük.

A másik kutatási terület, a tiroxin hormon szivmüködést befolyásoló hatásának vizsgálata. ("A pajzsmirigyhormonok szivhatásainak molekuláris alapjai" című Kandidátusi disszertáció; 1987). A kutatási eredményekből levont következtetések szerint, a tiroxin a szivizom kontraktilitását - a kontraktilis fehérjékre gyakorolt hatása mellett - a szarkoplazmatikus retikulum (SR)  $\text{Ca}^{2+}$  transzport funkciójának megváltoztatásával szabályozza. Pajzsmirigyhormonok hiányában az SR  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivált ATPáz enzim aktivitása és a  $\text{Ca}^{2+}$ -felvétele csökken, kis és rövid ideig tartó hormon kezelés mindkettőt fokozza, míg tartósan magas hipertiroxinémiában a folyamat szétkapcsolt. E változások valamint az SR membrán foszfolipid és zsírsav összetételében bekövetkezett módosulások alapján feltételezzük, hogy a pajzsmirigyhormon miokardiális hatása, a  $\text{Ca}^{2+}$  transzportban szerepet játszó fehérjék és/vagy membránlipidek minőségileg új, vagy fokozott szintézise révén valósulhat meg.

Az SR  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivált ATPáz enzim mennyiségi illetve minőségi változásainak (elektromikroszkópos vizsgálatok) valamint a szabályzó mechanizmusban (foszfolamban) feltételezett módosulásoknak a tanulmányozására más intézetekkel kollaborációban folynak a további kísérleteink.

Kutatási munkáink mellett, és jelenleg nagyobb hányadban, különböző fejlesztési feladatokat, rutin gyógyszervizsgálatokat

végzünk.

Az utóbbi években a dinamikusan fejlődő BIOGAL Gyógyszergyárnak robbanásszerűen bővült a terméklistája. A korábban fő profilt jelentő antibiotikumok mellett egyre jelentősebb a különböző hatástani csoportba tartozó specialitások gyártása, forgalomba hozatala. Új utakat, lehetőségeket és profilbővitést jelent a kozmetikumok, a gyógytermékek valamint a mezőgazdaságban alkalmazható készítmények megjelenése is. A farmakológiai osztály munkája ezért sokrétű.

A készítmények csoportosításánál az eredet mellett maradván, az originális kemoterápiás gyógyszerek esetében, az általános farmakológiai hatás (központi idegrendszer, szív-keringés, emésztőrendszer, stb.), valamint akut toxicitás vizsgálatokat és ha szükséges, műszeres kinetikai vizsgálatokat végzünk.

A licence, reprodukciós, generic termékek esetén (pl. Amoxicillin termékcsalád, Pallagicin inj., Ciklosporin termékek, Sucralfat tabl. stb.), az Országos Gyógyszerészeti Intézet (OGYI) által előírt vizsgálatokat vitelezzük ki, amelyek a készítmények preklinikai törzskönyvi dokumentációjának összeállításához szükségesek. Az előírások termékenként változnak ugyan, de ezek többnyire akut toxikológiai, hatásmegerősítő, kinetikai vizsgálatok.

A gyógytermékek esetében is a hatásosság kimutatása, a mellékhatásmentesség deklarációja a követelmény (pl. Peponen, Allitera, Halolaj, Kukoricacsiraolaj kapszulák stb.). Ezek a különböző növényi és állati eredetű olajokat tartalmazó készítmények jelentős lipid szint csökkentő és/vagy trombocita aggregációt gátló hatással rendelkeznek.

A külsőleg alkalmazott paramedicinális készítményeket (Pepotin kenőcs, Zealin és Sinacne termékcsalád stb.) valamint a Hélia-D kozmetikumokat, a toxikus mellékhatás kizárása céljából, gyógyszer szintű biztonsági, toxikológiai teszteknek vetjük alá.

A gyár transzdermális és egyéb tapasz valamint más

gyógyszerforma fejlesztését (pl. Brulamycin szemcsepp, Ceraffin sebfedő stb.) farmakokinetikai és tolerancia vizsgálatokkal segítjük.

A teljesség igénye nélkül felsorolt gyógyszerfejlesztő tevékenységünk során is magas minőségi színvonalú kísérletes és dokumentációs munkára törekszünk.

### IRODALOM

Keringésfarmakológiai témával kapcsolatos saját előadások és közlemények:

1. Bordán Károlyné, Takács, E.I.: Béta-laktám antibiotikumok hemosztázisra gyakorolt hatása K-vitamin hiányos diétán tartott patkányokon. Kemoterápiai Konferencia. 1988. május 1-3. Hajduszoboszló.
2. Molnár, E., Takács, E.I., Krenács, T., Dux, L.: Szarkoplazmatikus retikulum  $Ca^{2+}$  ATPáz szintézis indukciója oxidatív izmokban thyroxin kezelés hatására. XVIII. Membrán-Transport Konferencia. 1988. május 18-21. Sümeg.
3. Molnár, E., Krenács, T., Takács, E.I., Szentmiklósi, J., Kónya, E., Dux, L.: Thyroxin kezelés hatása lassu vázizom és szivizom szarkoplazmatikus retikulum membrán differenciálódására. MÉT LIII. Vándroggyűlés. 1988. július 2-5. Szeged.
4. Bordán Károlyné, Takács, E.I.: Cefalosporinok hemosztázisra gyakorolt hatása K-vitamin hiányos diétán tartott patkányokon. "A korszerű antimikrobás kezelés kérdései napjainkban" c. szimpózium. 1988. szeptember 23-24. Szentes.
5. Takács, E.I., Seres, T., Fehér, Gy.: The role of granulocytes in the development of myocardial injury during reperfusion. 1st Joint Meeting of Hungarian and Italian Pharmacological Societies. 1988. sept. 29-30. Verona
6. Jakab, Gy., Kissné László, Zs., Takács, E.I.: A szivizom miofilamentumok, szarkoplazmatikus retikulum és a foszfolipidek foszforilálásának változása tiroxin indukálta szivhipertrófiában. XIX. Membrán-Transport Konferencia, 1989. május 10-13. Sümeg.

7. Cseppentő, Á., Szentmiklósi, J., Oláh, P., Takács, E.I., Jancsó, S., Szegi, J.: A dimethinden antiaritmiás hatásának összehasonlító farmakológiai vizsgálata.  
MÉT LIV. Vándorgyűlés 1989. augusztus 27-30. Debrecen
8. Kónya, É., Szabó Lajosné, Takács, E.I.: Chrysanthemum parthenium (L.) extraktumok hatása serotoninnal kiváltott vasokonstriktóra.  
MÉT LIV. Vándorgyűlés 1989. augusztus 27-30. Debrecen
9. Bordán Károlyné, Takács, E.I.: Mandokef és BK-662 hemosztázisra gyakorolt hatása.  
MÉT LIV. Vándorgyűlés 1989. augusztus 27-30. Debrecen
10. Fehér, Gy., Seres, T., Takács, E.I.: A szivizom hipoxia és reoxigenizáció alatti kontrakciós változásainak értékelése in vitro és in vivo modellen.  
MÉT LIV. Vándorgyűlés 1989. augusztus 27-30. Debrecen
11. Fehér, Gy., Seres, T., Takács, E.I.: An Experimental Canine Model to Study Acute Ischemic and Postischemic Myocardial Dysfunction.  
Csehszlovák Farmakológiai Társaság éves nagygyűlése 1989. május 29-június 2. Marianske Lázně
12. Takács, E.I., Seres, T., Fehér, G.: Role of Biochemical Changes in the Development of Early Ischemic and Reperfusion Arrhythmias.  
2nd Joint Meeting of Italian and Hungarian Pharmacological Societies. May 14-15, 1990 Budapest
13. Seres, T., Fehér, G., Takács, E.I.: Inotropic Response of "Stunned" Myocardium Induced by Dopamine in Dogs.  
2nd Joint Meeting of Italian and Hungarian Pharmacological Societies. May 14-15, 1990 Budapest
14. Fehér, G., Takács, E.I., Seres, T.: Effects of Restacorin (B-GYKI-382133) a new Antiarrhythmic Agent in a Coronary Occlusion-Reperfusion Canine Model.  
2nd Joint Meeting of Italian and Hungarian Pharmacological Societies. May 14-15, 1990 Budapest
15. Takács, E.I., Fehér, G., Seres, T., Lenkey Á.: Egyes biokémiai változások szerepe a korai isémiás és reperfuziós aritmiák kifejlődésében.  
VII. Gyógyszerkutatói Konferencia 1990. augusztus 22-24. Debrecen

16. Fehér, G., Takács, E.I., Seres, T.: A RESTACORIN (B-GYKI 38233) vegyület hatása koronária okklúzió-reperfúzió indukált aritmiákra.  
VII. Gyógyszerkutató Konferencia 1990. augusztus 22-24. Debrecen
17. Dr. Bordán Károlyné, Dr. Takács Erzsébet Ildikó: Béta-laktám típusu antibiotikumok vérzékenységet okozó mellékhatása.  
VII. Gyógyszerkutató Konferencia 1990. augusztus 22-24. Debrecen
18. Kónya, É., Pusztai, F., Ujházi, I., Takács, E.I.: Chrysanthemum Parthenium (L.) hatása simaizom kontrakciókra.  
VII. Gyógyszerkutató Konferencia 1990. augusztus 22-24. Debrecen
19. Takács, E.I., Seres, T., Fehér, G.: Biochemical Changes and the Development of Early Ischemic and Reperfusion Arrhythmias.  
IUPHAR International Congress of Pharmacology 1-6 July, 1990 Amsterdam
20. Fehér, G., Takács, E.I., Seres, T.: Effects of B-GYKI-38233 a new Antiarrhythmic Agent in a Dog Model.  
IUPHAR International Congress of Pharmacology 1-6 July, 1990 Amsterdam

#### Közlemények

1. Takács, E.I., Seres, T., Fehér, G.: The Role of Granulocytes in the Development of Myocardial Injury During Reperfusion  
Pharmacol. Res. Commun. 20/1, Suppl. 165-166 (1988)
- 2.a Fehér, G., Takács, E.I., Seres, T.: Effects of Restacorin (B-GYKI-38233) a New Antiarrhythmic Agent in a Coronary Occlusion-Reperfusion Canine Model  
Acta Physiol. Hung., 75, Suppl. 99-100 (1990)
- 2.b Fehér, G., Takács, E.I., Seres, T.: Effects of Restacorin (B-GYKI-38233) a New Antiarrhythmic Agent in a Coronary Occlusion-Reperfusion Canine Model  
Eur. Journ. Pharmacol. 183/5 1769-1770 (1990)
- 3.a Seres, T., Fehér, G., Takács, E.I.: Inotropic Response of "Stunned" Myocardium Induced by Dopamine in Dogs  
Acta Physiol. Hung., 75, Suppl. 257-258 (1990)

- 3.b Seres, T., Fehér G., Takács, E.I.: Inotropic Response of "Stunned" Myocardium Induced by Dopamine in Dogs  
Eur. Journ. Pharmacol. 183/3 769-770 (1990)
- 4.a Takács, E.I., Seres, T., Fehér, G.: Role of Biochemical Changes in the Development of Early Ischemic and Reperfusion Arrhythmias  
Acta Phyciol. Hung., 75, Suppl. 271-272 (1990)
- 4.b Takács, E.I., Seres, T., Fehér, G.: Role of Biochemical Changes in the Development of Early Ischemic and Reperfusion Arrhythmias  
Eur. Journ. Pharmacol. 183/3 326-327 (1990)



IV.

A HEMORHEOLÓGIAI KUTATÁSOK  
FARMAKOLÓGIAI JELENTŐSÉGE

P  
é  
s  
c  
a  
S  
m  
a  
D  
é  
s  
c

# DROTAVERIN-ACEFILLINÁT (DEPOGEN) ÉS PENTOXIFILLIN (TRENTAL) ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA

KAPUI ZOLTÁN, HERMECZ ISTVÁN, SARKADI BALÁZS\*,  
SZENTMIKLÓSI PÉTER és TARDOS LÁSZLÓ

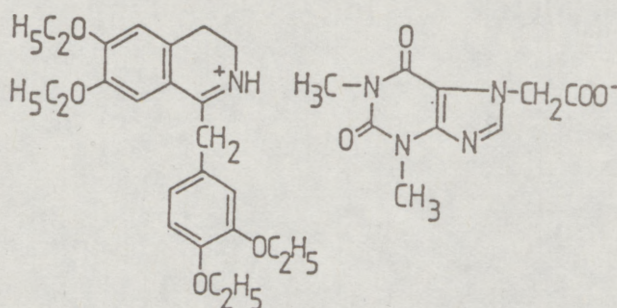
CHINOIN Gyógyszer- és Vegészeti Termékek Gyára Rt. Kutatási Főosztálya  
és Országos Hematológiai és Vértranszfúziós Intézet\*, Budapest

## BEVEZETÉS

Pentoxifillin /P/ jelentős helyet foglal el a perifériás érbetegségek terápiájában. A mechanizmus, mellyel javítja a szervek mikrocirkulációját, hemorheológiai hatásával függ össze: csökkenti a vér viszkozitását, a fibrinogén koncentrációt, javítja a vörösvérsejtek /VVS/ szűrhetőségét. /Ambrus és munkatársai 1984, Strano és munkatársai 1984, Ott és munkatársai 1983, Pilla és munkatársai 1983, Angelkort 1979/. Gátolja thrombocyták aggregációját, valamint kitapadásukat az érfalhoz /Angelkort 1979, Deguchi és munkatársai 1977, Stefanovich és munkatársai 1977, Itoh és Satoh 1979, Ott és munkatársai 1983/. Javítja a VVS-ek szűrhetőségét, mely hatása jól demonstrálható in vitro ATP depletált vagy ozmotikusan zsugorított VVS-ekkel /Leonhardt és

Grigleit 1977, Schubotz és Mühlfellner 1977, Ehrly 1979, Seiffge és Kieswetter 1981/.

Mészáros és Szentmiklósi által szintetizált Drotaverin-acefillinát /DRA/: 6,7,3',4'-tetraetoxi-1-benzil-3,4-dihidroizokinolin-theofillin-7-acetát (Depogén<sup>R</sup>) (1. ábra) /Szentmiklósi és munkatársai 1977/, több előnyös hatásával kiemelkedik a drotaverin-sók sorából mint értágító és spazmolitikum /Szatmári és munkatársai 1984, Vargay és munkatársai 1984, Szentmiklósi és Marton 1983, Kapui és munkatársai 1989, Tardos és munkatársai 1989/.



1. ábra: A Depogén kémiai struktúrája

Jelen közleményünkben összehasonlítjuk a DRA és a P hemorheológiai hatását, in vitro és ex vivo mért antiaggregációs hatását, valamint a thrombocytá 3 - as faktor felszabadulására kifejtett hatását.

## MÓDSZEREK

### 1. VVS FILTRABILITÁS MÉRÉSE

A VVS-ek in vitro filtrabilitásának a mérésére Teitel (1967) módszerét alkalmaztuk, amelyben koncentrált VVS szuszpenzió szűrődési sebességét mértük. A szűréshez ismert pórus átmérőjű ( 5  $\mu\text{m}$  ) szűrőpapírt használtunk /Macherey-Nagel, Düren NSZK

gyártmány/. 40 % hematokritra beállított VVS szuszpenziót 37°C-on inkubáltuk 30 percig CPD tartósító oldatban a vizsgált drogok jelenlétében, majd a VVS-ket lecentrifugáltuk és a tömény üledéket filtráltuk. Minden esetben meghatároztuk a filtrált minta hemoglobin koncentrációját, hogy a minta VVS koncentrációjának csekély eltéréseit korrigálni lehessen. Ezt követően a VVS - ket szűrtük, a szűrés sebességét ml filtrált VVS/perc dimenzióban adtuk meg. Kiszámítottuk a VVS-ek fele mennyiségének átáramlásához szükséges időt (  $T_{0.5}$  ) és ezt használtuk a filtrabilitás megváltozásainak jellemzésére. A legújabb irodalmi adatok is alátámasztják, hogy az alkalmazott módszer jól jellemzi a VVS membrán plaszticitását, és összehasonlítva egyéb mérési módszerekkel hasonló eredmények nyerhetők /Teitel 1977, Neumann és munkatársai 1983/.

A kísérletekben friss, normál VVS-ket, hiperozmotikus oldatban zsugorított ( 1,6 M NaCl ) friss VVS-ket illetve 30 napig 4°C-on CPD oldatban tárolt "öreg" VVS-et használtunk. E két utóbbi kezelés hatására a VVS-ek szűrési ideje jelentősen megnőtt.

## 2. THROMBOCYTA AGGREGÁCIÓ /TA/ MÉRÉSE

### 2.1. NYÚL TA MÉRÉSE IN VITRO

Kísérleteinkben mindkét nemű, 2.0-3.0 kg súlyú nyulakat intravénás injekcióval altattunk 30 mg/kg pentobarbitállal. Szívpunkcióval nyert vért 3.8 %-os Na-citrátot tartalmazó centrifuga csőbe gyűjtöttük és 5 percig 800 g - vel centrifugáltuk, majd a felülúszó thrombocytában gazdag plazmát /PRP/ pipettával leszívtuk. A vért 4 percig 4000 fordulat/min (4000 g) fugálva nyertük a thrombocytában szegény (PPP) plazmát. Mérésekhez a PRP-t 250.000/ml-re állítottuk be 0.1 M Tris-HCl pufferrel / $P_H$  7.5/, mely 0.9 % NaCl-t és 3 mM  $CaCl_2$ -ot tartalmazott.

TA-t Born módszerével mértük /Born 1967/, 2 csatornás Chrono-log aggregométerrel. Az aggregáció mérés 0,5 ml-es tesztcsövekben történt állandó fordulatszámú keverés mellett, 37 °C - on. Az aggregációt  $10^{-4}$  M ADP,  $1.5 \times 10^{-4}$  M arachidonsav, 40  $\mu$ g/ml Kollagen, vagy 20  $\mu$ M A-23187 Ca-ionofor hozzáadásával indítottuk meg, és 3 percig regisztráltuk a fény áteresztés ( OD ) változását. A vizsgálandó anyagot 2 percig 37 °C - on előinkubáltuk a PRP-vel. Az aggregációt %-osan a következő formula alapján számítottuk ki:

$$\text{aggregáció \%} = \frac{\text{PRP kezdeti OD} - \text{PRP egyensúlyi OD}}{\text{PRP kezdeti OD} - \text{PPP OD}} \times 100$$

$$\text{gátlási \%} = \frac{\% \text{ aggr. az inhibitor nélkül} - \% \text{ aggr. inhibitorral}}{\% \text{ aggr. inhibitor nélkül}}$$

## 2.2. HUMAN TA MÉRÉSE

Egészséges önkéntesektől vett vért 1 : 9 arányban 3,8 % - os natriumcitrát oldatot tartalmazó műanyagcsőbe fogtuk fel. A PRP -t 4 perces 1500 fordulat számmal végzett centrifugálással nyertünk, majd további centrifugálással /4000 rpm/10 min/ állítottuk elő a PPP-t. A thrombocyta számot 300.000/ml állítottuk be, mérést az előző fejezetben foglaltak szerint végeztük. Az aggregáció kiváltása  $1.0 \times 10^{-5}$ M ADP hozzáadásával történt.

## 2.3. TA MÉRÉSE EX VIVO

Kísérletet mindkét nemű 2.0-3.0 kg súlyú 30 mg/kg petobarbital-Na-al i.v. altatott nyulakon végeztük. A vizsgálni kívánt anyagokat vagy i.v. a jugularis vénába adtuk, vagy 1.0 ml 0.5 %-os metilcellulozban szuszpendálva juttatuk a gyomorba szondán keresztül. 10 ml vért vettünk a gyógyszer adagolást megelőzően

illette követően és ebből végeztük a meghatározásokat a fenti módszerrel. Aggregáció kiváltása  $10^{-4}$ M ADP hozzáadásával történt.

### 3. HUMAN LEUKOCYTA AGGREGACIO MÉRÉSE

Kísérleti anyagot human leukocyta szuszpenzióból készítettük, melyet egy óráig  $4^{\circ}\text{C}$ -on üleptítettünk. A felülúszó nagyrészt elöntöttük a maradék kb. 50 ml fehér-és vörösvérsejtet tartalmazó szuszpenziót centrifugacsövekbe osztottunk szét. A VVS-t hemolizáltuk /8 ml szuszpenzió + 76 ml desztillált víz/, majd 4 ml 18 %-os NaCl oldat hozzáadásával az izotoniát helyreállítottuk. Fehérvérsejteket ezután centrifugáltuk /600 rpm, 15 min,  $20^{\circ}\text{C}$ / és a felülúszót elöntöttük majd 1 ml HES oldatban /Fresenius GmbH/ szuszpendáltunk. A szuszpenziót ezután HES és fiziológiás sóoldat 1:1 keverékével hígítottuk megfelelő leukocyta szám eléréséig. Az ép leukocyta számát Giemsa festéssel állapítottuk meg, melyet 80-85 %-osnak találtunk, a thrombocyta tartalom 2.0 % volt ez a mennyiség méréseket nem befolyásolta.

A méréseket Born módszerével végeztük 2 csatornás Chrono-log típusú aggregométerben. A szuszpenzió fehérvérsejt száma  $3.0-4.0 \times 10^7$ / ml volt. A méréshez a leukocyta szegény szuszpenziót 100 szoros hígítással állítottuk elő a tisztított leukocyta szuszpenzióból, és ennek az optikai denzitását vettük 100 %-os aggregációnak. Az aggregációt  $1.2 \times 10^{-3}$ M arachidonsav hozzáadásával váltottuk ki és a számításokat a 2.1. fejezetben megadottak alapján végeztük.

### 4. THROMBOCYTA 3 - AS FAKTOR /TF 3/ FELSZABADULÁS VIZSGÁLATA

Nyúl PRP-t állítottunk elő a 2.1. fejezetben leírtak szerint. A TF 3 meghatározást Spaet és Cintron 1965 szerint végeztük Stypven alvadási idő teszt segítségével, mely X és V alvadási faktorok Russel féle vipera méreggel történő aktiválásán alapszik. 0.55 ml

PRP-t előinkubáltuk a vizsgálati anyag különböző koncentrációival majd 4.0 ug/ml végkoncentrációban kollagént adtunk hozzá állandó keverés közben 37°C-on. Ezután 0.1 ml plazmát mértünk be koagulométer csövébe /Coagulometer KC 1, Heinrich Amelung Co.NSZK/, mely 0.1 ml 25 mM CaCl<sub>2</sub>-t és 0.01 ml Russel vipera mérget /5.0 ug/ml/ tartalmazott, és az alvadási időt regisztráltuk.

## EREDMÉNYEK

### 1. HEMORHEOLOGIAI HATÁS

Friss, humán VVS - ek könnyen szűrhetőek az átmérőjüknél kisebb pórusú szűrőpapíron, a minták azonban elég nagy egyéni szórást mutatnak /5-8 min/. P és DRA egyaránt csökkentette a filtrabilitást, ennek mértéke - 20-30 % - azonban csekély és így nem alkalmas dózishatás - görbe felvételre. Ezért kísérleteket végeztünk ozmotikusan zsugorított ill. 30 napig tárolt VVS-kel, melyeknek szűrhetősége jelentős mértékben csökkent.

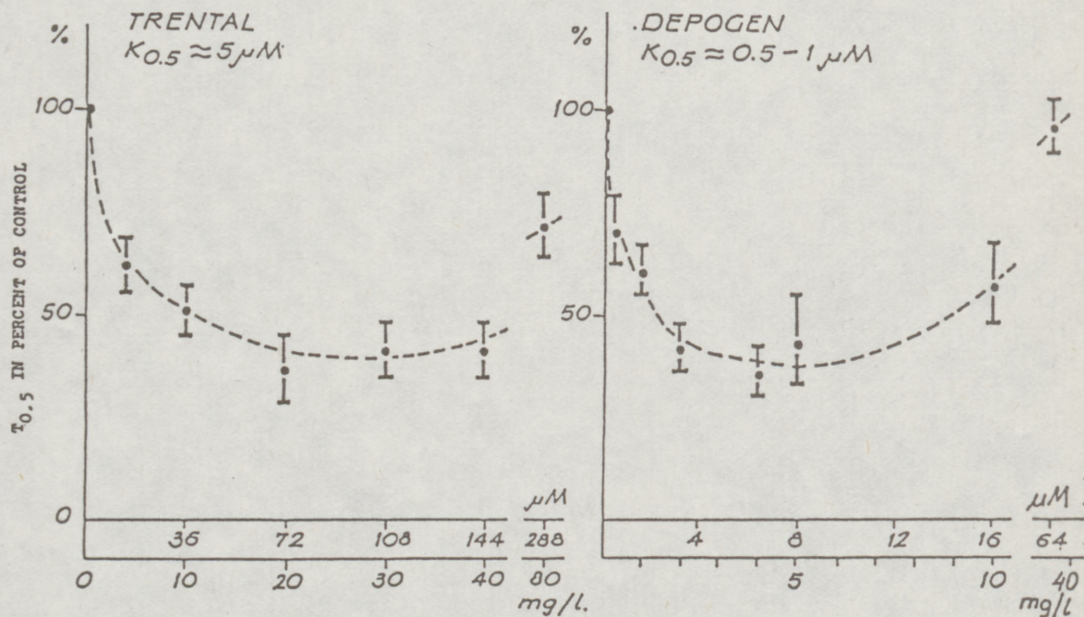
P és DRA hatását humán zsugorított VVS-el végzett kísérletekben mutatja a 2. ábra.

Az ábrán látható, hogy a kezeletlen kontrolok szűrési idejét /T<sub>0.5</sub>/ 100 %-nak véve mindkét anyag dózis függően csökkentette a szűrési idejét. A hatás maximuma tekintetében kb. azonos a két anyag hatása, de a görbe meredeksége és a K<sub>0.5</sub> érték alapján a DRA 5-10-szer hatásosabb mint a P. A hatóanyag koncentrációjának növelésével a VVS - ek szűrhetősége csökkent és az így kialakuló harang alakú görbe karakterisztikus mindkét anyag hatásában /Ambrus és munkatársai 1984/, azaz a szűrhetőség javításának van egy meghatározott optimuma.

P és DRA hatását 30 napig tárolt VVS - ek szűrhetőségére mutatja a 3. ábra. A görbe lefutását, valamint a maximális hatást figyelembe véve nincsen lényegi eltérés a kétféle kísérlet

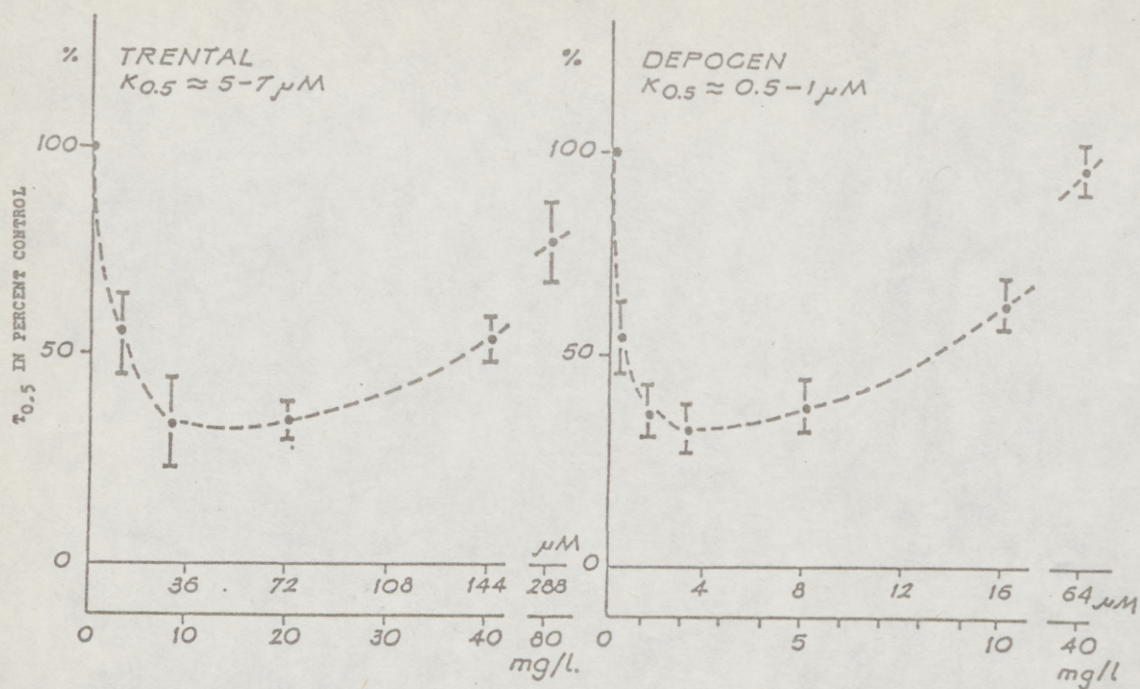


eredménye között.



2. ábra. A P és DRA hatása friss, ozmotikusan zsugorított human VVS-ek szűrhetőségére.

E kísérletekben elért eredményeket összegzi az I. táblázat, melyből kitűnik, hogy mindkét anyag kb. háromszorosára növeli a szűrés sebességét, azaz csökkenti a  $T_{0.5}$  értéket és hatásosság tekintetében a DRA felülmúlja a P - t. A táblázatban még bemutatjuk a DRA két komponensének a Drotaverinnek (DR) és a Xantin - 7 - ecetsavnak (Xantin-7-ac.) a hatását is. A táblázatból látható, hogy a két komponens hatása a DRA hatásában nem egyszerűen összeadódik, hanem minőségileg egy új hatásról van szó, mivel a DRA egy nagyságrenddel kisebb koncentrációban hat.



3. ábra. A P és DRA hatása 30 napig tárolt human VVS-ek szűrhetőségére.

Kezelés	Zsugorított VVS-ek		30 napig tárolt VVS-ek	
	$T_{0.5}$ (%)	$K_{0.5}$ ( $\mu M$ )	$T_{0.5}$ (%)	$K_{0.5}$ ( $\mu M$ )
P	$36 \pm 5$	5	$33 \pm 11$	5 - 7
DRA	$37 \pm 8$	0.5 - 1	$32 \pm 5$	0.5 - 1
DR	$35 \pm 7$	2 - 3	$36 \pm 8$	3 - 5
Xantin-7-ac.	$76 \pm 10$	10	$64 \pm 12$	10

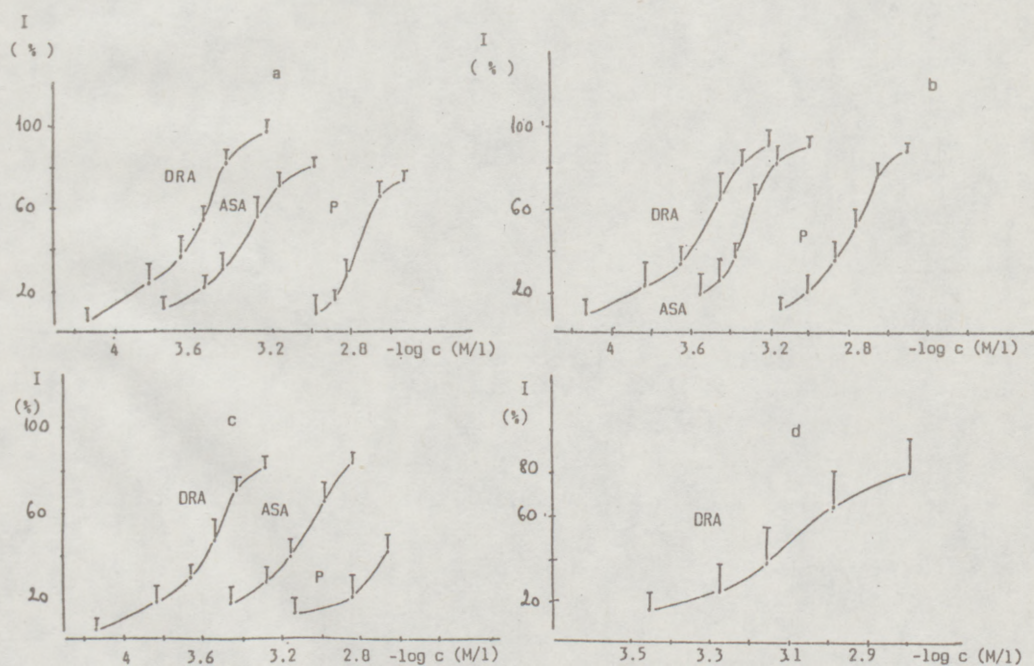
1. táblázat

## 2. A P ÉS DRA ANTIAGGREGÁCIÓS HATÁSA

DRA és P antiaggregációs hatását referensként acetilszalicilsavval (ASA) hasonlítottuk össze in vitro nyúl thrombocytákon, a dózis - hatás görbék a 4. ábrán láthatók, míg az anyagok  $IC_{50}$  értékeit a 2. táblázatban foglaltuk össze.

Kitűnt, hogy DRA jelentős aktivitással bír, megközelítíti az ASA antiaggregációs hatását, míg P 5-10-szer gyengébb. Ca-ionophor hatását csak DRA gátolta számottevően.

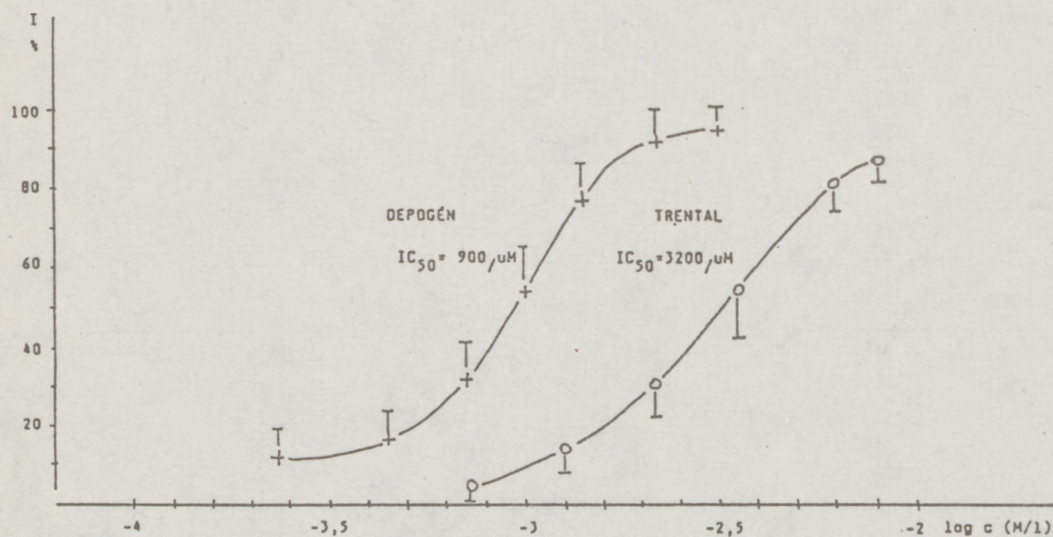
A vegyületek antiaggregációs hatását ábrázoltuk human vérlemezkéken mérve az 5. ábrán, az ADP-vel kiváltott aggregáció gátlásában a DRA 4-szer erősebb hatást mutatott mint a P,  $IC_{50}$  értéke  $900 \mu M$ .



4. ábra. P, DRA és ASA antiaggregációs hatása ADP (a), Kollagén (b), arachidonsav (c) és A-23187 Ca ionofor (d) indukálta nyúl vérlemezke aggregációra in vitro.

Aggregáló ágens	IC <sub>50</sub>		
	ASA	TRENTAL	DEPOGEN
AOP (10 <sup>-4</sup> M/l)	460	1760	450
AA (1.5×10 <sup>-4</sup> M/l)	240	> 2000	490
Collagen(40,ug/ml)	290	1500	820
A-23187 Ca ionophore (5,μM/l)	>1000	> 2000	1000

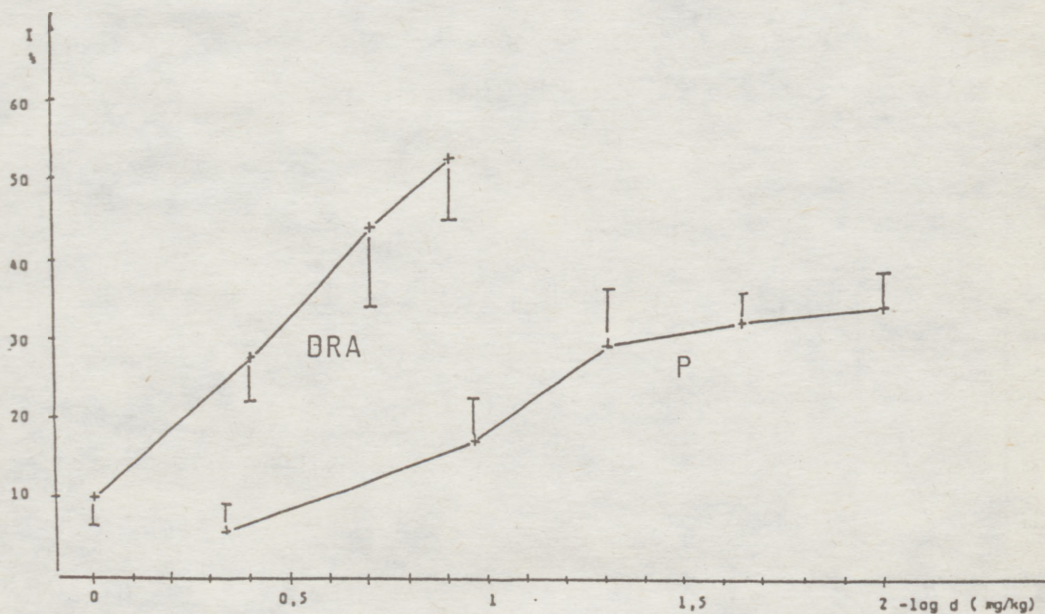
2. táblázat. A P, DRA és ASA antiaggregációs hatása.



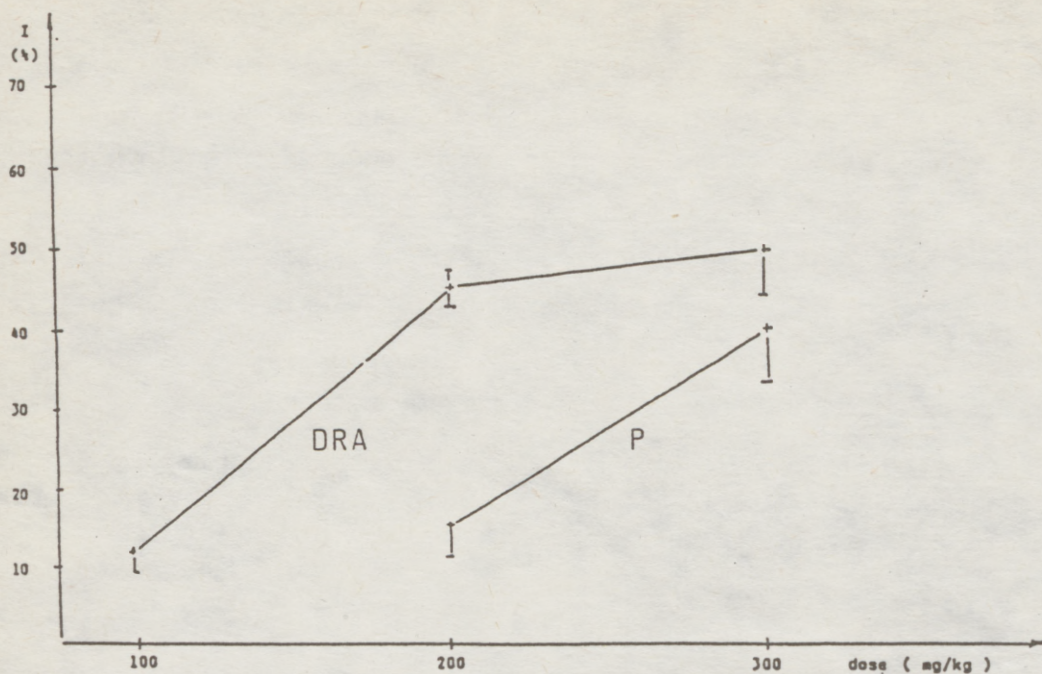
5. ábra. A P és DRA antiaggregációs hatása human vérlemezkén.

A vegyületek ex vivo mért antiaggregációs hatását nyúl thrombocytá szuszpenzióban mértük, miután DRA-t illetve P-t i.v. vagy per os adtuk. DRA i.v. adva 1.0-7.5 mg/kg váltott ki dóziszfüggő hatást,

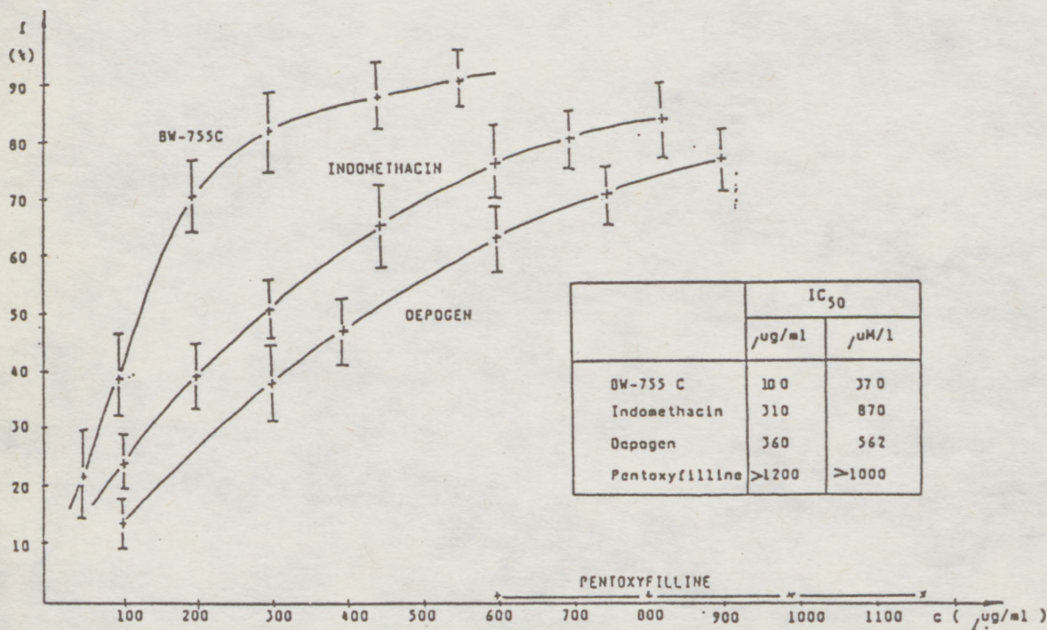
$IC_{50} = 0.7 \text{ mg/kg}$  /6. ábra/, a P hatása itt jóval gyengébb. Hasonló hatás mutatható ki intragasztrikus adagolást követően is /7. ábra/. A DRA  $ED_{50}$  értéke  $300 \text{ mg/kg}$ , a P gyengébbnek bizonyult. Vizsgáltuk a P és DRA human leukocytá aggregáció gátló hatását, mikor is a human leukocyták aggregációját arachidonsavval váltottuk ki. Kontrollként ismert gyulladásgátló vegyületeket használtunk, (Indomethacin, BW-755 C). Ismert, hogy a gyulladásgátló hatással rendelző vegyületek gátolják a fehérvérsejtek arachidonsav indukálta aggregációját. A DRA 1.5-ször gyengébbnek bizonyult, mint BW-755C, mely ismert hatású gyulladásgátló, és azonos koncentrációban hatott, mint az Indomethacin, e kísérletben P hatástalan volt /8. ábra/.



6. ábra. Intravénás bólus injekcióban adott P és DRA ex vivo mért antiaggregációs hatása altatott nyúlón.



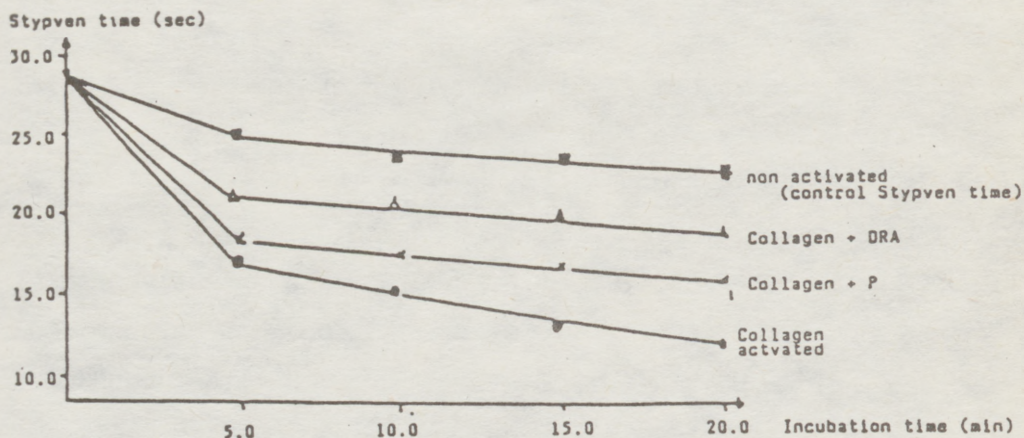
7. ábra. Orálisan, szondán keresztül adott P és DRA ex vivo mért antiaggregációs hatása altatott nyúlón.



8. ábra. P, DRA, Indomethacin és BW-755C human leukocytá aggregációt gátló hatása.

### 3. PF-3 FELSZABADULÁS GÁTLÁSA

4  $\mu\text{g/ml}$  Kollagen megrövidíti a Stypven alvadási időt, míg a DRA és P előkezelés megnyújtja.



9. ábra. P és DRA hatása a PF-3 felszabadulásra.

A 9. ábrán látható, a DRA és a P kezelés hatása a a Stypven alvadási időre, de csak a DRA hatása szignifikáns.

### EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE

Az in vitro észlelt VVS filtrabilitást javító hatás, mely különösen jelentős az ozmotikusan zsugorított illetve "öreg" VVS esetében, therápiás jelentőséggel bír miután kóros állapotban a mikrocirkuláció romlásának egyik oka a keringő VVS - ek rigiditásának növekedése. A mikrocirkuláció javítása - a deformálhatóság helyreállításával - jelentős a szövetek oxigén ellátása miatt. Ezt a hatást tekintik alapvetőnek a P szempontjából és ennek tulajdonítunk nagy jelentőséget a DRA hatásában is. A VVS szűrhetőséget javító hatás már alacsony koncentráció alkalmazásánál kimutatható és ez biztató az esetleges mellékhatások szempontjából is.

A P és DRA egyaránt gátolja a különböző ágensekkel, ADP, arachidonsav, Kollagen és A-23187 Ca ionofor, által kiváltott in vitro thrombocytá aggregációt. A P és DRA hatását összehasonlítottuk az ASA-val, mely ma az egyik legelterjedtebben alkalmazott antithrombotikum. A DRA hatása jelentősen, mintegy 5-10-szer múlja felül a P hatását, és az ASA hatásereőségének nagyságrendjébe esik, in vitro mérve. Szeretnénk hangsúlyozni a Ca-ionoforral kiváltott aggregáció gátlásának jelentőségét, mivel sem a P sem az ASA nem mutatott számottevő aktivitást. Ez arra utal, hogy a vérlemezék működésében fontos szerepet betöltő Ca aktivitást is befolyásolja. Bár a DRA és az ASA antiaggregációs hatása azonos dimenzióban mutatható ki, de hatásmechanizmusuk eltérő. Az ASA gátolja a thrombocytában a  $TxA_2$  produkciót a ciklooxygenáz enzim gátlásával irreverzibilisen, ugyancsak gátolja a prosztaciklin képzést az érfal endothelben, ez a gátlás azonban reverzibilis /Roth és munkatársai 1979, Burch és munkatársai 1979, Jaffe és munkatársai 1979/. A DRA elősegíti a prosztaciklin képzést az érfalban és gátolja a  $TxA_2$  produkciót a vérlemezékben azáltal, hogy gátolja a foszfodieszteráz enzimet, és ezzel emeli az intracelluláris Ca szintet /Tardos és munkatársai 1989/.

DRA és P in vivo antiaggregációs hatása bizonyítható per os és i.v. adagolást követően ex vivo történő mérésekkel. Elsősorban i.v. adagolást követően a dózishatás-görbék meredeksége tekintetében jelentős az eltérés DRA javára, de jelentős eltérés észlelhető orális adagolást követően is.

Ismeretes, hogy a vérlemezékéből felszabaduló foszfolipidek jelentős szerepet töltenek be a véralvadásban /Dombrose és munkatársai 1981, Van Rijn és munkatársai 1983/, ilyen hatása van aggregációt kiváltó aktivitás mellett a Kollagénnak, mely PF 3-at aktivál /Fésűs és munkatársai 1979, Sanberg és munkatársai 1982, 1985/. Kísérleteink arra utalnak, hogy DRA szerepet játszik ezen faktor felszabadulásának gátlásában is, azaz az aggregáció



folymatában több ponton is beavatkozik. A DRA jelentősen gátolja a human fehérvérsejtek aggregációját, mely hatása vetekszik olyan ismert gyulladásgátlókkal, mint Indomethacin illetve BW-755C. Ilyen hatással a P nem rendelkezik. DRA-nak nincs gyulladásgátló hatása, tehát ebbéli aktivitása szelektívnek tekinthető.

Kísérleteink alapján Depogen jelentős hemorheológiai hatással rendelkezik, mivel javítja az előregedett VVS-ek filtrabilitását. A filtrabilitást javító hatása kifejezettebb mint a Trentalé, de ugyanakkor értágító hatása is figyelemre méltó /Tardos és munkatársai 1989/, míg a P nem rendelkezik értágító hatással. Mikrocirculáció javításának tekintetében figyelemre méltó még antiaggregációs hatása. E három kiemelkedő hatása révén DRA jelentős szerep tölthet be a perifériás érbetegségek terápiájában.

#### IRODALOM:

Ambrus JL, Ambrus CM, Taheri SA, Gastpar H, Reddington MM. (1984), Red cell flexibility and platelet aggregation in patients with chronic obstructive vascular disease (COAD) and study of therapeutic approaches. *Angiology* 35: 418-426

Angelkort B. (1979), Thrombozytenfunktion, plasmatische Blutgerinnung und Fibrinolyse bei chronisch arterieller Verschluss Krankheit. *Medizinische Welt* 30: 1239-1248

Born GVR, Cross MJ. (1963), The aggregation of blood platelets. *J. Physiol. (Lond.)* 168: 178-195

Burch JW, Stanford PW. (1979), Inhibition of platelet prostaglandin synthetase by oral aspirin. *J. Clin. Invest.* 61: 314-319

Deguchi K, Ito T, Shima H, Uno N, Nakamori I, Ueno H. (1977), Clinical use of pentoxifylline - concerning blood viscosity and platelet function. *Mie Medicine* 21: 375-380

Dombrose FA, Bode AP, Lentz BR. (1981), Differentiation of factor V-

like activity from catalytic phospholipid - like surface activity in membrane fractions derived from human platelets. *Throm. Res.* 22, 603

Itoh T, Satoh T. (1979), Influence of pentoxifylline (Trental) on platelet aggregation and serum lipids in patients with obstructive cerebrovascular disorders. *Pharmatherapeutica* 2: 159-164

Jaffe EA, Weksler BB. (1979), Recovery of endothelial cell prostacyclin production after inhibition by low doses of aspirin. *J. Clin. Invest.* 63: 532-535

Kapui Z, Tardos L, Hermecz I, Stadler I, Ambrus JL. (1989), Comparative Studies with Drotaverine-Acephyllinate and Pentoxifylline. *Thrombosis and Haemostasis* 62: 349

Leonhardt H, Grigoleit HG. (1977), Effects of pentoxifylline on red blood cell deformability and blood viscosity under hyperosmolar conditions. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 299: 197-200

Müller R. (1985), On the therapy of disturbances of blood fluidity. *Angiology* 36: 226-234

Ott E, Fazekas F, Lechner H. (1983), Haemorheological effects of pentoxifylline in disturbed blood flow behaviour in patients with cerebrovascular disease. *European Neurology* 22(suppl. 1.): 105-107

Pilla G, Ciaponi A, Migliavacca A, Bonora C. (1983), L'insufficienza cerebrovascolare cronica senile. Effetti del suloctidil e della pentossifillina sulla deformabilità eritrocitaria. *La Ricerca Clinica e in Laboratorio* 13(Suppl. 3.): 459-464

Roth GL, Majerus PW. (1975), The mechanism of the effect of aspirin on human platelets I. Acetylation of a particular fraction protein. *J. Clin. Invest.* 56: 624-632

Sandberg H, Andersson LO, Höglund S. (1982), Isolation and characterisation of lipid - protein particles containing platelet factor 3 released from human platelet. *Biochem. J.* 203: 303

- Schubotz R, Mühlfellner O. (1977), The effect of pentoxifylline on erythrocyte deformability and on phosphatide fatty acid distribution in the erythrocyte membrane. *Current Medical Research and Opinion* 4: 609-617
- Seiffge D, Kieseletter H. (1981), Effect of pentoxifylline on single red cell deformability. *Klinische Wochenschrift* 59: 1271-1272
- Spaet TH, Cintron J. (1965), Studies on platelet factor 3 availability. *Br. J. Haemat.* 11: 269
- Stefanovich V, Jarvis P, Grigoleit HG. (1977), The effect of pentoxifylline on the 3'5' cyclic AMP - system in bovine platelets. *International Journal of Biochemistry* 8: 359-364
- Szentmikósi P, Marton S. (1983), Biopharmaceutical Aspects of Depogen. *Pharmazie* 38: 611-613
- Szentmiklósi P, Mészáros Z, Tardos L. (1977), Hungarian Patent. No. 167,246
- Szatmári I, Simon G, Vargay Z, Tóth É, Szücs T. (1984), The fate of Drotaverine - Acephyllinate in rat and man I. Absorption, distribution and excretion in the rat. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinetics* 9: 11-16
- Tardos, L, Cseh G. (1989), The pharmacodynamics of drotaverine. *Therapia Hungarica* '89: 30-39
- Tardos L, Kapui Z, Hermez I, Szentmiklósi P. (1989), Hemorheological Studies with Drotaverine-Acephyllinate and Pentoxifylline. *Cardiovascular Drugs and Therapy* 3(suppl. 2.): 634 (1989)
- Zinzadse KI, Gulischwili LN, Tavcheliidse TD, Vorobjov OJ. (1978), The effect of pentoxifylline on the flow properties of blood in experimental atherosclerosis in rabbits. *Pharmatherapeutica* 2: 118-122
- Van Rijn JLML, Rosing J, Van Dieijen G, Bevers EM, Zwaal RFA, Henker HC. (1983), The interaction between blood platelets and

blood coagulation factors. *Arzneim. Forsch./Drug. Res.* 33: 1365  
Vargai Z, Deutsch T, Szatmári I, Szüts T, Várkonyi P, Kerpel-  
Fronius S, Eckhardt S. - (1984), The fate of Drotaverine-  
Acephyllinate in rat and man II. Human pharmacokinetics of  
Drotaverine-<sup>14</sup>C-Acephyllinate. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinetics*  
9: 17-29

V.

A KÁLCIUM-PUMPA SZEREPE A MIOKARDIÁLIS  
FUNKCIÓKAT BEFOLYÁSOLÓ SZEREK  
HATÁSMECHANIZMUSÁBAN

I  
P  
V  
S  
C  
I  
C

## CH-103 HATÁSA A MIOKARDIÁLIS MEMBRÁN $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz AKTIVITÁSÁRA

NOSZTRAY K., VARGA E., DARABOS G., SZENTMIKLÓSI A. J.,  
SZABÓ J. ZS.

Debreceni Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézete, Debrecen

Irodalmi adatok alapján jól ismert, hogy a klinikai gyakorlatban széles körben alkalmazott béta receptor gátló vegyületek – a béta receptorokon kifejtett antagonizmuson kívül – jelentős, egyéb farmakológiai hatásokkal rendelkeznek (SMITH, 1982). A béta gátlók nem receptoriális farmakológiai hatásainak megjelölésére – a felfedezésük óta eltelt mintegy 30 év során – különböző elnevezéseket ("helyi érzéstelenítő hatás", "kinidinszerű hatás", "membrán aktivitás", "membránstabilizáló aktivitás") használtak. Az utóbbi évek során e nem receptoriális hatások sora jelentősen bővült, és napjainkra az ideg ingerületvezetésre, valamint a korneális válaszra kifejtett helyi érzéstelenítő, vagy a szív ingerképzésére gyakorolt kinidinszerű hatásokon túlmenően magába foglalja pl. trombocitákban a szerootonin felvétel gátlását és a már akkumulált szerootonin felszabadulásának fokozását (LEMMER és mtsai, 1972), vörösvérsejtekben a plazmamembrán  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -aktivált ATPáz aktivitásának gátlását (GODIN és mtsai, 1976; WHITTAKER és mtsai, 1982), a szívben a lizo-szómák membránjának a stabilizálását (WELMAN, 1979), patkánymáj mitokondriumban a foszfolipáz A hatására lét-

rejövő duzzadás kialakulásának a gátlását (SEPPALA és mtsai, 1971) és izolált kutya koronária artérián mutatott kalcium antagonista hatásukon (SAKANASHI és NISHI, 1981) kívül a szív kalcium transzport rendszereire is hatást gyakorolnak (NAYLER és mtsai, 1969; DHALLA és mtsai, 1977; DZURBA és mtsai, 1984).

A DOTE Gyógyszertani Intézetében a közelmúltban végezték a CHINOIN Gyógyszergyár vegyészei által szintetizált béta gátló hatású, CHINOIN-103 jelzésű vegyület részletes farmakológiai analízisét (SZEGI és mtsai, 1977/a, 1977/b; MÉSZÁROS és mtsai, 1983, 1986). Megállapították, hogy e vegyület is rendelkezik ún. nem receptorális hatásokkal, amennyiben a patkányszív  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -aktivált ATPáz aktivitását gátolta (SZABÓ és mtsai, 1988). Mindezek alapján feltehető volt, hogy a CHINOIN-103 - egyéb béta gátlókhöz hasonlóan - a szív kalcium transzport rendszereire is hat.

Jelen kísérleteink célja a CHINOIN-103-nak (CH-103) a szív membranális  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz-okra gyakorolt hatásának vizsgálata volt. E vizsgálatokat részben szívizom összhomogenizátumon végeztük: e kísérletekben a mitokondriális ATPáz-okat nátriumaziddal gátolva, a szarkolemmális és szarkoplazmatikus retikulumban lokalizálódó  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz aktivitásokat együtt mérjük ugyan, de a szer membránlipid perturbációt előidéző hatását mindkét fajta membránon ugyanolyan eséllyel fejtik ki. Más, főleg szarkolemmális eredetű membránokat tartalmazó frakcióval végzett kísérleteink arra engednek következtetni, hogy a szer hatásában a membránlipidek perturbációján kívül, kalcium antagonista sajátossága is közrejátszhat.



Kísérleteinket vegyes nemű, 200–250 g testsúlyú CFY patkányokon végeztük. A patkányokat nyakátmetszéssel öltük meg, a szíveket azonnal eltávolítottuk, a pitvarok és nagyerek maradványait ollóval levágtuk. A szívkamrákat jéghideg ioncserélt vízzel vérmentesre mostuk, majd a nedvesség tízszeres térfogatának megfelelő ún. homogenizációs médiummal VELEMA és ZAAGSMA (1981) szerint teflon fejes üveg Potter készülékkel homogenizáltunk. Egyetlen minta nyeréséhez általában 4–6 patkányból származó szívkamrákat egyesítettünk. A homogenizációs médium 20 mM Tris-HCl pufferben (pH 7.0) 1 mM EDTA-t tartalmazott.

A  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz aktivitást szívizom összhomogenizátumban és VELEMA és ZAAGSMA (1981) módszere szerint differenciál centrifugálással előállított, zömmel szarkolemmális eredetű miokardiális membránokat tartalmazó frakcióban is meghatároztuk. A fehérje tartalmat LOWRY és mtsai (1951) módszere szerint határoztuk meg. A membránfrakció jellemzése a fehérjehozam, a  $\text{Mg}^{2+}$ -aktivált ATPáz aktivitás illetve annak azid érzékeny hányadának meghatározása, az ouabain érzékeny  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -aktivált ATPáz aktivitás, továbbá a kálium-stimulált p-nitrofenilfoszfátáz aktivitás és szialsav tartalom meghatározása alapján történt (SZABÓ és mtsai, 1989).

Az összhomogenizátum  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz aktivitásának vizsgálatát VELEMA és mtsai (1985) szerint, magnézium nélkül, illetve 0.45 és 5.0 mM szabad  $\text{Mg}^{2+}$  koncentrációknál,  $10^{-7}$ – $10^{-4}$  M szabad  $\text{Ca}^{2+}$  koncentrációk jelenlétében végeztük. Ahhoz, hogy az előbbieken említett szabad  $\text{Mg}^{2+}$  és  $\text{Ca}^{2+}$  koncentrációkat nyerjük, felhasználtuk FABIATO és FABIATO (1979) által közölt adatokat, melyek arra vonatkoznak, hogy milyen arányban kell bemérni  $\text{CaCl}_2$ -ot,  $\text{MgCl}_2$ -ot és a kalciummal komplexet képző EGTA-t (etilénglikol-bisz-béta-aminoetiléter-N,N,N',N'-tetraecetsav) az inkubációs médiumba 5 mM és ennél magasabb Tris-ATP koncentrációknál ahhoz, hogy a kívánt szabad  $\text{Ca}^{2+}$  és  $\text{Mg}^{2+}$  koncentrációkat kapjuk ( I. táblázat).

I. táblázat A $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz mérésekhez használt inkubációs médiumok összetétele FABIATO és FABIATO (1979) szerint									
$-\text{Log}(\text{Ca}^{2+})_{\text{szabad}}$		7	6.5	6	5.5	5	4.5	4	M
$\text{Mg}^{2+}$ nélkül	ATP	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.16	6.54	mM
	Ca	0.125	0.125	0.125	0.125	0.21	0.63	2.1	mM
	EGTA	1.35	0.51	0.21	0.083	-	-	-	mM
$\text{Mg}^{2+}$ szabad 0.45 mM	ATP	6.16	6.17	6.17	6.18	6.22	6.32	6.66	mM
	Ca	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.178	0.593	mM
	Mg	5.46	5.45	5.45	5.45	5.45	5.45	5.45	mM
	EGTA	1.38	0.54	0.24	0.14	0.072	-	-	mM
$\text{Mg}^{2+}$ szabad 5.0 mM	ATP	5.10	5.10	5.10	5.10	5.11	5.12	5.15	mM
	Ca	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.144	mM
	Mg	10.15	10.05	10.02	10.01	10.01	10.0	10.0	mM
	EGTA	1.51	0.59	0.26	0.17	0.12	0.09	-	mM

Az össz ATPáz aktivitás meghatározáshoz az inkubációs médium a táblázatban lévő komponenseken kívül tartalmazott még 50 mM Tris-HCl puffert (pH 7.5), 75 mM KCl-ot, 5 mM  $\text{NaN}_3$ -ot és 200 ug fehérjét 1 ml végtérfogatban. Az alap ATPáz méréséhez az inkubációs médiumból a  $\text{CaCl}_2$ -ot kihagytuk. A  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivált ATPáz aktivitás az össz és az alap ATPáz aktivitások különbsége.

A CH-103-at a fehérjével  $37^\circ\text{C}$ -on 5 percig előinkubáltuk. Az enzimreakciót ezt követően Tris-ATP szubsztráttal indítottuk. Az inkubálást  $37^\circ\text{C}$ -on 15 percig végeztük, majd a reakciót 1 ml 0.8 M perklórsavval állítottuk le. A keletkezett csapadékot 15 perces 3000xg-n történő centrifugálással távolítottuk el, majd a fehérjementes felüliszórból a felszabadult anorganikus foszfátot TAUSSKY és SHORR (1953) módszere szerint határoztuk meg.

A membránfrakció  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz aktivitásának vizsgálata RUDINGER és mtsai (1984) szerint kalcium jelenlétében és hiányában az alábbi összetételű inkubációs médiumban történt: 25 mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.1 mM EGTA, 75 mM NaCl, 25 mM KCl, 5 mM  $\text{NaN}_3$ , 1 mM  $\text{MgCl}_2$  és 0.15 mM  $\text{CaCl}_2$  továbbá 5 mM ATP- $\text{Na}_2$  mint szubsztrát, a fehérje végkoncentráció 50 ug/ml. RUDINGER és mtsai (1984) szerint az általuk használt nyúl miokardiális membrán ATPáz 0.15 mM  $\text{CaCl}_2$  koncentrációnál muta-

tott maximális aktivitást, ami ebben a vizsgálati rendszerben 20  $\mu\text{mol}$  ( $2 \times 10^{-5} \text{M}$ ) szabad kalcium koncentrációnak felel meg. A felszabaldult anorganikus foszfátot ebben az esetben is TAUSSKY és SHORR (1953) szerint mértük. A CH-103-at a membránfehérjével az ATPáz aktivitás méréshez 5 percen keresztül  $37^{\circ}\text{C}$ -on előinkubáltuk.

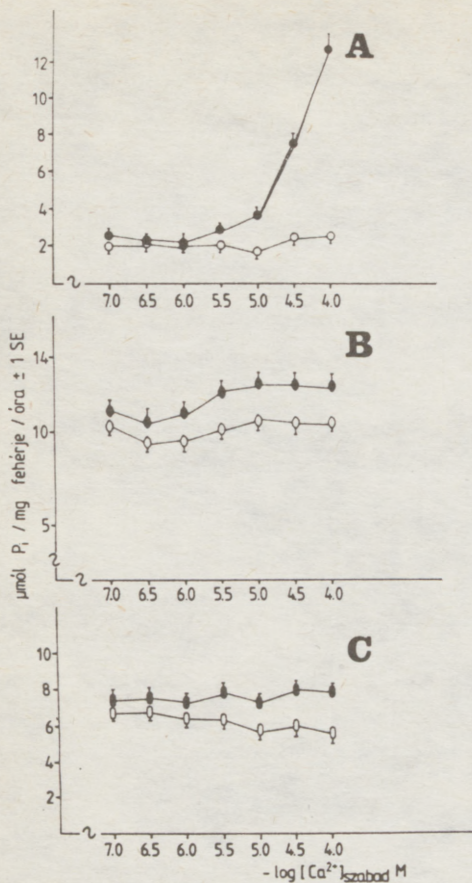
A fehérje meghatározáshoz standardként használt bovin szérum albumin Fluka, az EGTA Sigma, a gélelektroforetikusán homogén marhavérkalmodulin Reanal, a többi felhasznált vegyszer analitikailag legtisztább Reanal készítmény volt. A CH-103-al a Chinoin Gyógyszergyár bocsátotta rendelkezésünkre.

Az eredmények statisztikai értékelése a Student féle  $t$  próba segítségével történt. Szignifikánsnak tekintettünk egy különbséget, ha  $p < 0.05$ .

### Eredmények

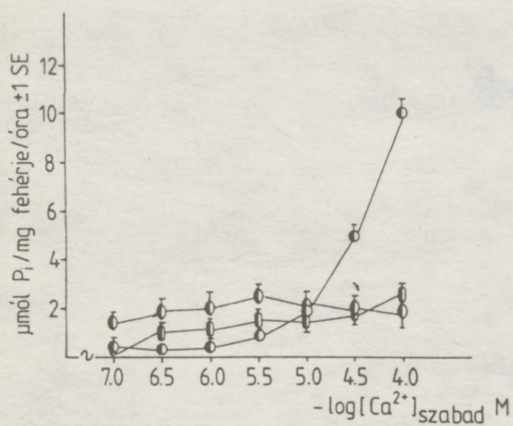
Patkányszív összhomogenizátumban mért ATPáz aktivitásokat a szabad kalcium koncentráció függvényében, magnézium nélkül, illetve 0.45 és 5.00 mM szabad magnézium koncentrációk jelenlétében az 1. és 2. ábrák mutatják.

Magnéziumot nem tartalmazó inkubációs médiumban (1. ábra "A") kétértékű kation aktivátor hiányában az ún. "alap" ATPáz aktivitás meglehetősen alacsony. A szabad kalcium koncentráció emelése  $5 \times 10^{-6}$ – $10^{-4}$  M nagyságrendben az ATPáz aktivitást jelentősen stimulálja, azaz az ATP hidrolízise magnézium ionok hiányában is végbemegy (1. ábra "A" és 2. ábra). 0.45 mM szabad magnézium koncentráció mellett az alap ATPáz aktivitás a magnézium mentes médiumban mérthez képest jelentősen nő. A kalcium az alap ATPáz aktivitást mérsékelten stimulálja (1. ábra "B" és 2. ábra). A magnézium koncentráció további emelése 5 mM-ra az alap ATPáz aktivitást a 0.45 mM szabad magnézium



1. ábra

Patkányszív összhomogenizátumban mért alap (üres jelek) és össz (fekete jelek) ATPáz aktivitás magnéziumot nem tartalmazó inkubációs médiumban ("A"), továbbá 0.45 mM ("B") és 5.00 mM ("C") szabad magnézium koncentrációknál (n=3).

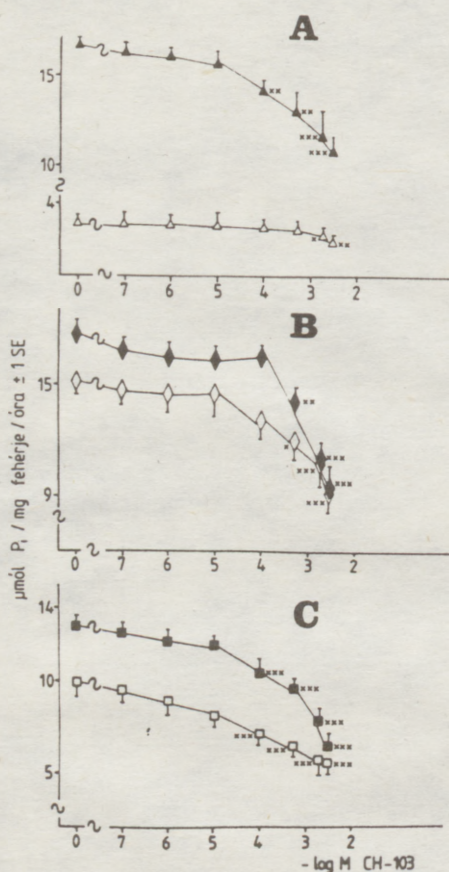


2. ábra

Patkányszív összhomogenizátum  $Ca^{2+}$ -aktivált ATPáz aktivitása magnéziumot nem tartalmazó inkubációs médiumban (○), továbbá 0.45 mM (◐) és 5.00 mM (●) szabad magnézium koncentráció jelenlétében.

koncentráció jelenlétében mért értékhez képest inkább csökkenti (1. ábra "C"), míg a kalciummal aktiválható ATPáz specifikus aktivitása hasonló ahhoz, amit 0.45 mM szabad magnézium koncentráció jelenlétében mértünk (2. ábra).

Miután magnézium nélkül, illetve a használt szabad magnézium koncentrációk bármelyikénél jelentős kalcium aktiválást csupán  $10^{-4}$  M szabad kalcium koncentráció jelenlétében tapasztaltunk, a CH-103 hatását az ATPáz aktivitásra csak  $10^{-4}$  M szabad kalcium koncentráció jelenlétében tanulmányoztuk.

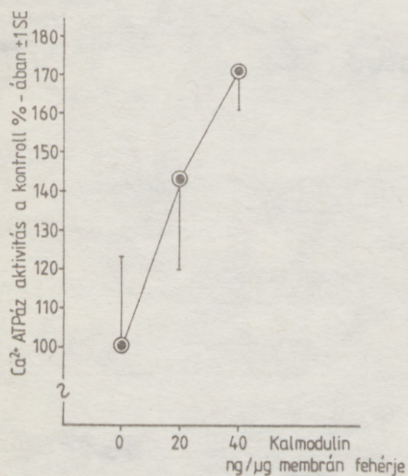


3. ábra

CH-103 hatása a patkányszív összhomogenizátum alap (üres jelek) és össz (fekete jelek) ATPáz aktivitására  $10^{-4}$  M szabad kalcium koncentráció jelenlétében magnéziumot nem tartalmazó inkubációs médiumban ("A"), illetve 0.45 mM ("B") és 5.00 mM ("C") szabad magnézium koncentrációknál (n=3). Szignifikáns eltérés a kontrolltól: <sup>x</sup>p < 0.05; <sup>xx</sup>p < 0.01; <sup>xxx</sup>p < 0.001.

A 3. ábra a CH-103 különböző koncentrációinak a hatását

mutatja patkányszív összhomogenizátumban mért ATPáz aktivitásra. A CH-103 hozzáadása nélkül mért specifikus aktivitások ebben a sorozatban valamivel magasabbak voltak, mint az 1. és 2. ábrán bemutatott kísérleteinkben, azonban a kalcium koncentráció emelésének hatása az ATPáz aktivitásra hasonló jellegű volt, mint amit előző kísérleteinkben tapasztaltunk. Mint látható, a CH-103 mind az alap, mind az össz ATPáz aktivitásokat "nagyjából" dózisfüggő módon gátolta. Ez azt jelenti, hogy magnézium nélkül (3. ábra "A") az amúgy is alacsony alap ATPáz esetén csak mérsékelt gátlás volt tapasztalható, míg 0.45 mM szabad magnézium koncentráció jelenlétében  $5 \times 10^{-4}$  M CH-103 (3. ábra "B"), addig 5.00 mM szabad magnézium koncentráció jelenlétében már  $10^{-4}$  M CH-103 szignifikánsan gátolta az alap ATPáz aktivitást. Az össz ATPáz aktivitást már szignifikánsan gátló legalacsonyabb CH-103 koncentráció  $10^{-4}$  M volt (3. ábra "A" és "C"), míg 0.45 mM szabad magnézium koncentráció jelenlétében csupán  $5 \times 10^{-4}$  M CH-103 gátolta az össz ATPáz-t szignifikánsan. További kísérleteinkben VELEMA és ZAAGSMA (1981) módszere szerint előállított membránfrakcióban tanulmányoztuk a CH-103 hatását.



#### 4. ábra

Exogén kalmodulin hatása a membránfrakcióban mért szarkolemmális  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz aktivitásra.

A kalmodulint 250 mM-os Tris-HCl pufferben (pH 7.5) oldottuk 200 µg/ml végkoncentrációban. Ebből a törzsolatból 10 ill. 5 mikroliter térfogatban mértük be a kalmodulint az inkubációs médiumba.

Mint ismeretes, a kalcium hiányában történő szarkolemma előállítás kalmodulin mentes membránvezikulumot eredményez (SCHARFF, 1981), VELEMA és mtsai (1985) is úgy vélték, hogy a hipotóniás, kalcium mentes pufferrel előállított membránvezikulumok endogén kalmodulint valószínűleg nem tartalmaznak. Ezért szükségesnek tartottuk megvizsgálni exogén kalmodulin hatását (40 ng ill. 20 ng kalmodulin/ug szarkolemmális fehérje koncentrációban) a  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz aktivitásra (4. ábra).

Megállapítottuk, hogy exogén kalmodulin a membránfrakció  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz aktivitását 40 ng végkoncentrációnál mintegy 100%-al stimulálta.

A CH-103 - 3 mM végkoncentrációnál - az alap és az össz ATPáz aktivitást is szignifikánsan gátolta (II. táblázat).

II. táblázat CH-103 hatása a patkányszív szarkolemmális $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz aktivitására exogén kalmodulin jelenlétében <sup>Ⓜ</sup>					
Minta	ATPáz aktivitás				
	umol $\text{P}_1$ / mg fehérje / óra (átlag <sup>±</sup> SE)			az össz ATPáz %-ában	
	alap	össz	$\text{Ca}^{2+}$ -aktivált	alap	$\text{Ca}^{2+}$ -aktivált
Kontroll (n=5)	20.14 <sup>±</sup> 2.38	22.94 <sup>±</sup> 3.38	2.80 <sup>±</sup> 0.60	87.80	12.20
CH-103 (n=4)	3.10 <sup>±</sup> 0.13 <sup>xx</sup>	5.81 <sup>±</sup> 0.30 <sup>x</sup>	2.71 <sup>±</sup> 0.25	53.40	46.60
Szignifikáns eltérés a kontrolltól: <sup>x</sup> p < 0.01; <sup>xx</sup> p < 0.001					
<sup>Ⓜ</sup> 40 mg/ug szarkolemmális fehérje					

Az össz ATPáz aktivitás szignifikáns gátlása következtében, bár a  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivált ATPáz specifikus aktivitása abszolút értékben a CH-103 hatására a kontrollhoz képest nem változott, az össz ATPáz aktivitás %-os megoszlásában jelentős változást tapasztaltunk. Míg a kontroll esetén az össz ATPáz-nak mintegy 88%-a az alap és csupán 12% a

kalciummal aktiválható hányad, a CH-103 jelenlétében mért össz ATPáz-nak az alap ATPáz 53%-a, a kálciummal aktiválható hányad pedig 47%-a, vagyis a kontrollhoz képest az össz ATPáz aktivitáson belül az alap ATPáz %-os aránya csökken, míg a kalciummal aktiválható hányad ennek megfelelően arányosan nő.

### Megbeszélés

Irodalmi adatok alapján jól ismert, hogy a szívizom szarkolemmában is van egy kalcium pumpa rendszer jelen, melynek feladata az intracelluláris kalcium homeosztázis fenntartása (CARONI és CARAFOLI, 1980; CARONI és CARAFOLI, 1981; VELEMA és mtsai, 1983). A kalcium pumpához kapcsolódó ATPáz enzim kalcium iránti affinitása nagy ( $K_a$  0.1 és 0.5  $\mu\text{M}$  között) és működése magnézium jelenlététől függ. Éppen ezért ezt a kalcium pumpa ATPáz-t - a félreértések elkerülése végett - célszerű kalcium-stimulált magnézium-függő ATPáz-nak ( $\text{Ca}^{2+}$ -stimulált,  $\text{Mg}^{2+}$ -függő ATPáz-nak, vagy röviden  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -ATPáz-nak) nevezni. Az enzimet mikromol nagyságrendű kalcium koncentrációk aktiválják, és kiviszi a kalciumot a szívizom sejtekből. Elsősorban nyugalmi körülmények között működik, amikor az intracelluláris kalcium koncentráció alacsony (DHALLA és ELIMBAN, 1984).

Más szerzők (ZIEGELHOFFER és mtsai, 1979; DHALLA és mtsai, 1981) azonban úgy vélik, hogy a kalcium csatornák megnyitását, ami a kalciumnak a sejtbe történő bejutását lehetővé teszi, is egy  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz kontrollálja. Az enzim kalcium iránti affinitása azonban alacsony ( $K_a$  érték 0.6 mM hozzávetőleg) és működéséhez magnézium jelenlétét nem igényli (DHALLA és ELIMBAN, 1984).



Izolált szarkolemma preparátumokban bármelyik ATPáz aktivitást mint a kalcium jelenlétében (össz) és hiányában (alap) mért aktivitások közötti különbséget határozzák meg, a kérdés csupán az, hogy mit tekintünk alap ATPáz-nak.

A  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz mérésére összhomogenizátumban mi az alacsony össz kalcium koncentrációt tartalmazó kalcium-EGTA puffert használtuk. Az ebben a rendszerben kapott eredményeink megerősítik VELEMA és mtsai (1985) állítását, miszerint az ATP hidrolízise magnézium nélkül is megtörténhet. VELEMA és mtsai (1985) szívizomra vonatkozó adatai összhangban állnak SHIGEKAWA és mtsai (1983) nyúl vázizom szarkoplazmatikus retikulum ATPáz-ra vonatkozó eredményeivel. SHIGEKAWA és mtsai (1983) különbségeket találtak a csak kalcium és kalcium és magnézium jelenlétében végbemenő ATP hidrolízis között. Az előbbit kalcium-típusú ATP-hidrolízisnek, az utóbbit magnézium-típusú ATP hidrolízisnek nevezték. Megállapították, hogy az utóbbi esetben, azaz ha kalcium+magnézium vannak jelen, sokkal gyorsabb az ATP hidrolízise, mintha csak magnézium van jelen. Kalcium és magnézium egyidejű jelenléte esetén mindkét típusú ATP hidrolízis végbemeget mindaddig, míg mindkét szubsztrát (kalcium-ATP, magnézium-ATP) képes reakcióba lépni az enzim aktív helyével, bár valószínű, hogy mindkét szubsztrát a másik kompetitív inhibitoraként viselkedik. Ilyen mechanizmus magyarázhatja a  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz igen mérsékelt kalcium függését 0.45 és 5.00 mM szabad magnézium koncentrációk jelenlétében (1. ábra "B" és "C", 2. ábra). Ha pedig a szabad magnézium koncentrációt 0.45 mM-ról 5.00 mM-ra emeljük és ezáltal a magnézium-ATP szubsztrát komplex túlsúlyát hozzuk létre a kalcium-ATP szubsztrát komplexszel szemben, a  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivált ATPáz aktivitás szinte valamennyi vizsgált kalcium koncentráció-

nál tovább csökken (2. ábra).

A CH-103  $10^{-4}$  M és ennél magasabb koncentrációi patkányszív összhomogenizátumban és tisztított szarkolemma frakcióban is az alap és össz ATPáz aktivitásokat szignifikánsan gátolták. A gátlás mértéke meghaladja azt amit egy másik szarkolemmális enzim, a  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -aktivált ATPáz esetén tapasztaltunk (SZABÓ és mtsai, 1988). Ezek a koncentrációk lényegesen magasabbak annál, melyekben a CH-103 izolált szívpreparátumokon végzett kísérletekben farmakológiai aktivitást mutat. MÉSZÁROS és mtsai (1983) a CH-103-nak a szív transzmembrán potenciáljaira, ionáramaira és kontrakciós erejére gyakorolt hatását tanulmányozva megállapították, hogy a szer izolált tengerimalac pitvari és kamrai miokardiumon béta gátló hatással rendelkezik ( $\text{ED}_{50} = 1.3 \times 10^{-6}$  M) és ennél magasabb koncentrációkban gátolja a befelé irányuló gyors nátrium áramot ( $\text{ED}_{50} = 1.7 \times 10^{-5}$  M). A CH-103 csökkenti a befelé irányuló lassú kalcium áramot is ( $\text{ED}_{50} = 2.1 \times 10^{-4}$  M) emlősszíven. Mindezek alapján joggal várható, hogy a CH-103, hasonlóan az egyéb béta receptor gátlókhöz a szív kalcium transzport rendszereire is hatást gyakorolhat. Mindezeket figyelembe véve gondoltunk arra, hogy a CH-103 hatásában a kalcium antagonisták sajátossága is közrejátszhat.

A DOTE Gyógyszertani Intézetében végzett korábbi vizsgálatok szerint (SZABÓ és mtsai, 1988) a CH-103, egyéb béta gátlókhöz hasonlóan jelentős, a membránlipidek perturbációját előidéző hatással is rendelkezik. A membrán perturbációt előidéző hatás a vegyületek lipofilicitásától, illetve kémiai szerkezetüktől függ, ez azonban merőben eltérő a béta receptorokon kifejtett antagonizmussal kapcsolatosan megfigyelt hatás-szerkezet összefüggéstől.

ONDRIAS és mtsai (1987) kimutatták, hogy a lipofil természetű béta gátlók apoláros lipid magban ún. szabad tér-

fogatot indukálhatnak, ami destabilizálhatja a lamelláris membrán struktúrát és megváltoztathatja a membránban lokalizálódó enzimek aktivitását. Valószínű tehát, hogy a CH-103-nak sem a  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPáz-ra, sem a  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz-ra kifejtett hatásában nem a béta gátló sajátossága, hanem a vegyület lipofilicitása a domináló tényező. A Gyógyszer-tani Intézetben referens kalcium antagonistákkal való összehasonlítás is arra enged következtetni, hogy a CH-103 nem kalcium antagonistá, hanem lipofil sajátosságai következtében hat a miokardiális membrán kalcium ATPáz aktivitására.

### Összefoglalás

A béta blokkoló és kalcium antagonistákkal rendelkező CH-103-nak a miokardiális membrán kalcium ATPáz-ra gyakorolt hatását tanulmányoztuk patkányszív összhomogenizátumban és szarkolemma frakcióban. A CH-103 mind összhomogenizátumban, mind szarkolemma frakcióban gátolta  $10^{-4}$  M és ennél magasabb koncentrációkban a  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz aktivitást. A vegyület hatását összehasonlítva a Gyógyszer-tani Intézetben korábban, referens anyagként használt béta gátlókkal (propranolol, praktolol) és kalcium antagonistákkal (verapamil, corontin) kapott eredményekkel megállapítottuk, hogy a  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz gátlás valószínűleg a CH-103 membránlipidek perturbációját előidéző hatásának tulajdonítható, és ilyen értelemben a vegyület lipofilicitásának illetve kémiai szerkezetének függvénye. E sajátosság azonban merőben eltérő a béta gátlóknak a béta receptorokon kifejtett antagonizmusukkal kapcsolatban megfigyelt hatás-szerkezet összefüggéstől, és a kalcium antagonisták különböző kémiai csoport-

tokba sorolása sem ad direkt módon felvilágosítást a szerek lipofilicitásáról.

### Irodalomjegyzék

- CARONI P., CARAFOLI E. (1980) An ATP-dependent  $\text{Ca}^{2+}$ -pumping system in dog heart sarcolemma. *Nature* 283, 765-767.
- CARONI P., CARAFOLI E. (1981) The  $\text{Ca}^{2+}$ -pumping ATPase of heart sarcolemma. *J. Biol. Chem.* 256, 3263-3270.
- DHALLA N.S., LEE L.S., ANAND M.B., CHAUHAN M.S. (1977) Effects of acebutolol, practolol and propranolol on the rat heart sarcolemma. *Biochem. Pharmacol.* 26, 2055-2060.
- DHALLA N.S., ANAND-SRIVASTAVA M.B., TUANA B.S., KHANDELWAL E.L. (1981) Solubilization of a calcium dependent adenosine triphosphatase from rat heart sarcolemma. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 13, 413-423.
- DHALLA N.S., ELIMBAN V. (1984) Methods for the isolation and purification of heart sarcolemmal enzymes. *In: Methods in Studying Cardiac Membranes* (ed. by DHALLA N.S.), vol. II., CRC Press, Boca Raton, Florida, 193-209.
- DZURBA A., GANGULY P.K., GUERIN A., DHALLA N.S. (1984) Alterations in the heart sarcolemmal  $\text{Ca}^{2+}$  transport activity by some beta-adrenergic antagonists. *Basic Res. Cardiol.* 79, 620-626.

- FABIATO F., FABIATO A. (1979) Calculator programs for computing the composition of the solutions containing multiple metals and ligands used for experiments in skinned muscle cells.  
J. Physiol. (Paris) 75, 463-505.
- GODIN D.V., WAN NG T., TUCHEK J.M. (1976) Studies on the interaction of propranolol with erythrocyte membranes.  
Biochim. Biophys. Acta 436, 757-773.
- LEMMER B., WIENHOLD G., HELLENBRECHT D., BAK I.J., GROBECKER H. (1972) Human blood platelets as cellular models for investigation of membrane active drugs: beta adrenergic blocking agents.  
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 275, 299-313.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L., RANDALL R.J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent.  
J. Biol. Chem. 193, 265-275.
- MÉSZÁROS J., KELEMEN K., MARKÓ R., KECSKEMÉTI V., KORBONITS D., KOVÁCS G., SZEGI J. (1983) Effect of CH-103, a new antiarrhythmic drug on the transmembrane potentials ionic currents and contractile force in heart muscle.  
Arch. int. Pharmacodyn. 262, 250-265.
- MÉSZÁROS J., KORBONITS D., KOVÁCS G., SZEGI J. (1986) Mechanism of the antifibrillatory action of Chinoin-103, a new antiarrhythmic drug.  
Arch. int. Pharmacodyn. 279, 268-281.
- NAYLER W.G., STONE J., CARSON V., McINNES I., MACK W., LOWE T.E. (1969) The effect of beta adrenergic antagonists on cardiac contractions, myofibrillar ATPase activity, high-energy phosphate store and lipid-facilitated transport of calcium ions.  
J. Pharmacol. Exp. Ther. 165, 225-233.

- ONDRIAS K., STASKO A., JANCINOVA V., BALGAVY P. (1987)  
Comparison of the effect of eleven beta-adrenoceptor blocking drugs in perturbing lipid membrane: An ESR spectroscopy study.  
Mol. Pharmacol. 31, 97-102.
- RUDINGER A., MYLOTTE K.M., DAVIS P.J., DAVIS F.B., BLAS S.D. (1984) Rabbit myocardial membrane  $Ca^{2+}$ -adenosine triphosphatase activity: stimulation in vitro by thyroid hormone.  
Arch. Biochem. Biophys. 229, 379-385.
- SAKANASHI M., NISHI K. (1981) Relaxation of isolated dog coronary artery induced by propranolol.  
Eur. J. Pharmacol. 70, 83-85.
- SCHARFF O. (1981) Kinetics of calmodulin-dependent ( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ )-ATPase in plasma membranes and solubilized membranes from erythrocytes.  
Arch. Biochem. Biophys. 209, 72-80.
- SEPPALA A.J., SARIS N.E.L., GAUFFIN M.L. (1971) Inhibition of phosphorylase-A-induced swelling of mitochondria by local anaesthetics and related agents.  
Biochem. Pharmacol. 20, 305-313.
- SHIGEKAWA M., WAKABAYASHI S., NAKAMURA H. (1983) Reaction mechanism of  $Ca^{2+}$ -dependent adenosine triphosphatase of sarcoplasmic reticulum.  
J. Biol. Chem. 258, 8698-8707.
- SMITH H.J. (1982) The need to redefine membrane stabilizing activity of beta-adrenergic receptor antagonists.  
J. Mol. Cell. Cardiol. 14, 495-500.
- SZABÓ J., NOSZTRAY K., SZEGI J. (1988) Effect of CH-103, a new beta adrenergic receptor antagonist on the activity of sarcolemmal  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase in rat myocardium.  
Pharmacol. Res. Commun. 20, Suppl.I. 173-174.

- SZEGI J., SZABÓ J., SZENTMIKLÓSI A.J., HARSÁNYI G., KORBONITS D. (1977/a) Új adrenerg béta-receptor bénítő aromás oxibutanolamin származékok és a Trasicor összehasonlító farmakológiai vizsgálata. *Acta Pharm. Hung.* 47, 145-154.
- SZEGI J., SZENTMIKLÓSI A.J., SZABÓ J., HARSÁNYI G., KORBONITS D. (1977/b) A TE-176 (Chinoín-103) béta-receptor bénítő, antiarrhythmiás, antianginás és cardiovasculáris hatásai. *Acta Pharm. Hung.* 47, 227-240.
- TAUSSKY H.H., SHORR E. (1953) A micro-colorimetric method for the determination of inorganic phosphorus. *J. Biol. Chem.* 202, 675-685.
- VELEMA J., ZAAGSMA J. (1981) Purification and characterization of cardiac sarcolemma and sarcoplasmic reticulum from rat ventricle muscle. *Acta Biochem. Biophys.* 212, 678-688.
- VELEMA J., BOLT G.R., ZAAGSMA J. (1983) Cyclic AMP induced stimulation and inhibition of  $Ca^{2+}$ -uptake in rat cardiac sarcolemma vesicles. *Biochem. Pharmacol.* 32, 714-717.
- VELEMA J., BLOM J.J., ZAAGSMA J. (1985) Comparison of  $(Ca^{2+}, Mg^{2+})$ -ATPase and  $Ca^{2+}$ -ATPase in rat cardiac sarcolemma. *Int. J. Biochem.* 17, 1091-1096.
- WELMAN E. (1979) Stabilization of lysosomes in anoxic myocardium by propranolol. *Br. J. Pharmacol.* 65, 479-482.
- WHITTAKER M., WICKS R.J., BRITTEN J.J. (1982) Studies on the inhibition by propranolol of some human erythrocyte membrane enzymes and plasma cholinesterase. *Clin. Chim. Acta* 119, 107-114.

ZIEGELHOFFER A., ANAND-SRIVASTAVA M.B., KHANDELWAL R.L.,  
DHALLA N.S. (1979) Activation of heart sarcolem-  
mal  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATPase by cyclic AMP-dependent pro-  
tein kinase.

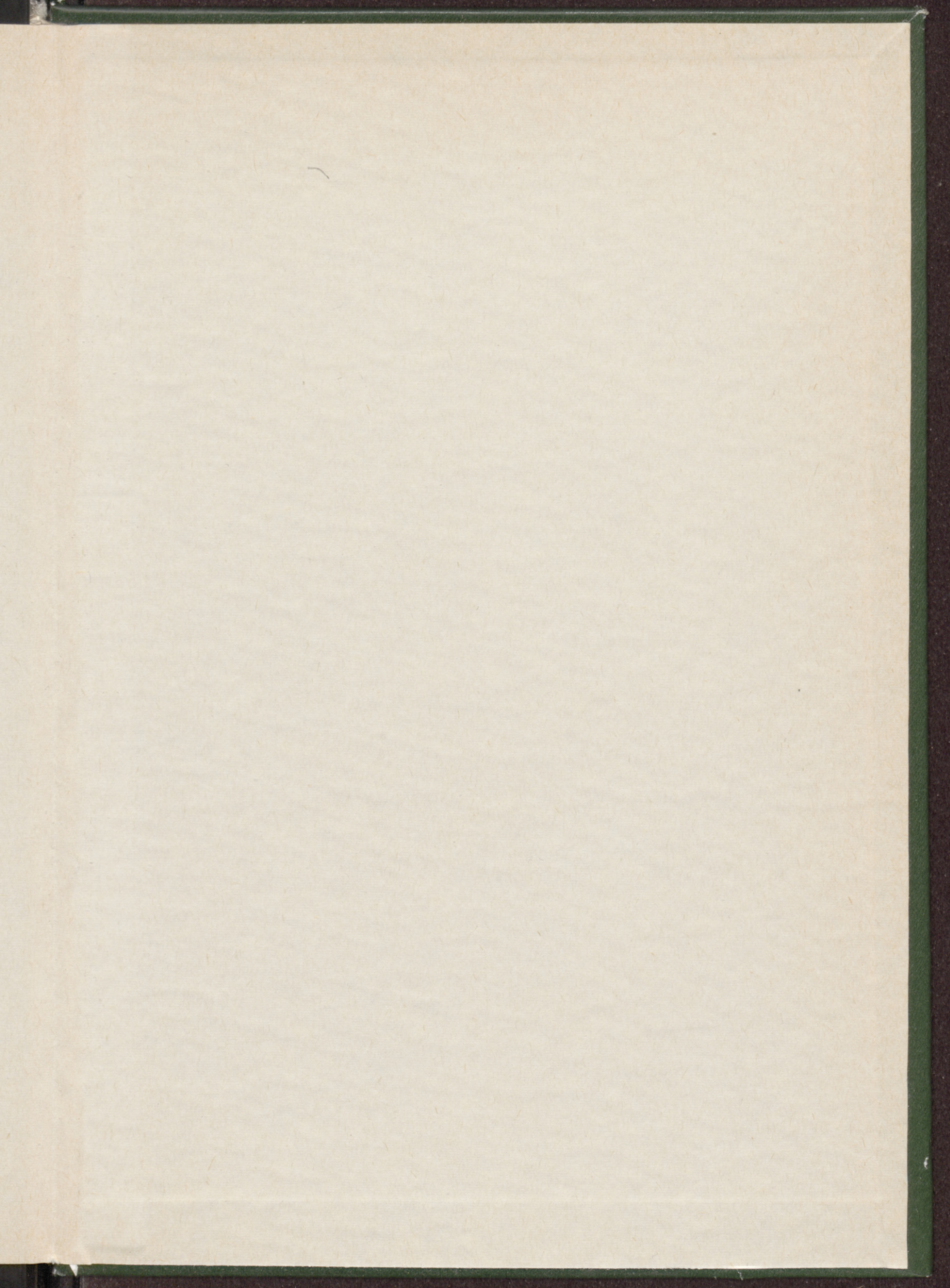
Biochem. Biophys. Res. Commun. 89, 1073-1081.

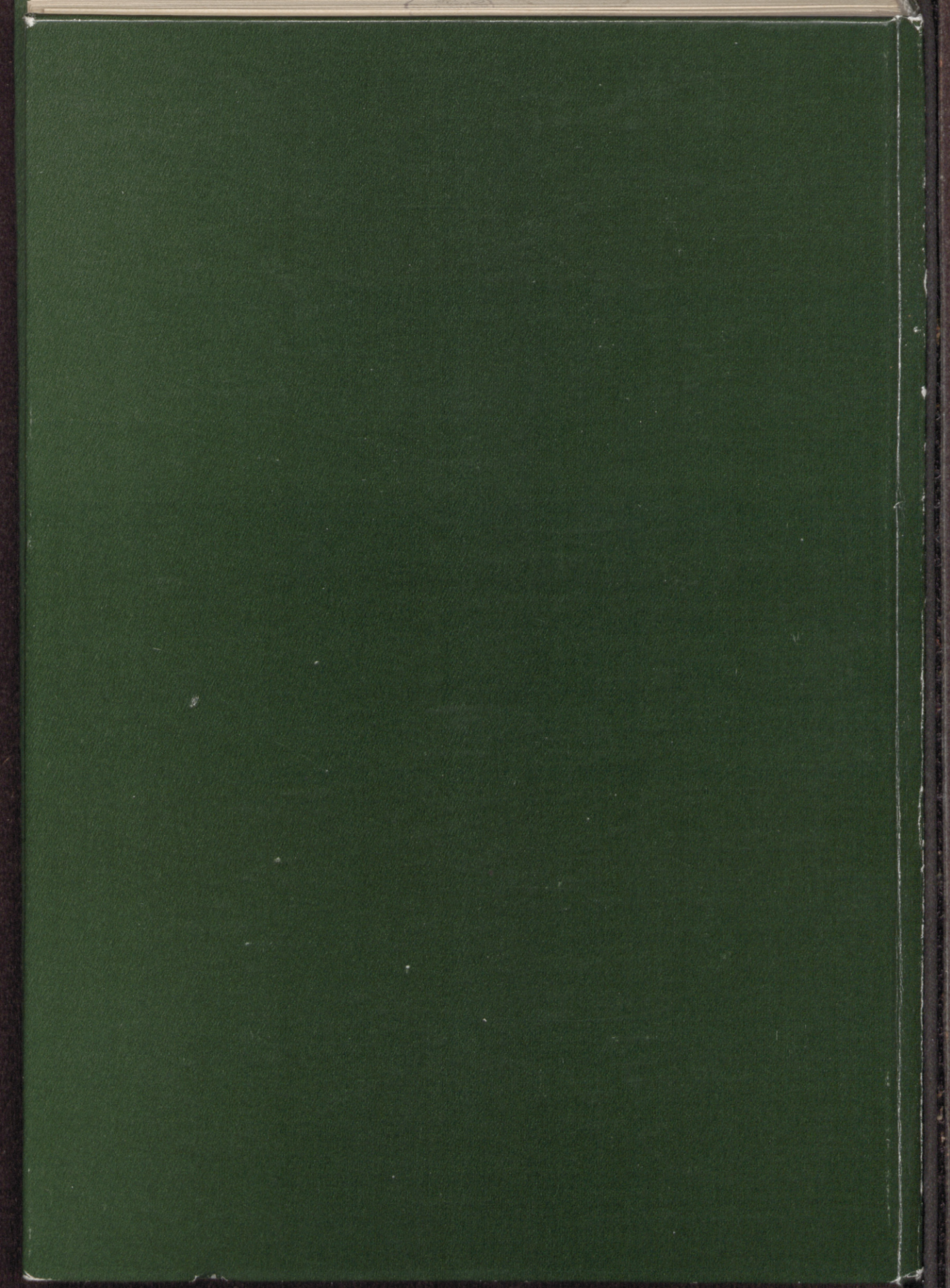




.L.,  
em-  
pro-

6265-2





A kéringgésfajmáklógiakutatások újjabizteredményei