

A PROSTAGLANDIN E_1 (PGE_1) HATÁSA A MYOCARDIÁLIS NEUROCHÉMIAI TRANSZMISSZIÓRA

HADHÁZY PÁL és KNOLL JÓZSEF, az MTA lev. tagja

Közlésre érkezett: 1973. IV. 6.

Az elmúlt években többen számoltak be arról, hogy a prostaglandinok (PG) gátolják a sympathikus ideg ingerlésének a hatását izolált szívkészítményeken (Hedqvist és Wennmalm, 1970; Wennmalm és Hedqvist 1970; Baum és Shropshire, 1971). Jóval kisebb azonban az érdeklődés a PG és a parasympathikus válaszok kölcsönhatása iránt. Wennmalm és Hedqvist (1971) kimutatta, hogy a PGE_1 csökkenti a vagusingerléssel kiváltott frekvenciacsökkenést izolált perfundált nyúlshíven. Mivel kísérleteikben a PGE_1 nem módosította az exogén acetylcholin negatív chronotrop hatását, feltételezték, hogy a PGE_1 vagusgátló hatását az acetylcholin felszabadulásának presynaptikus csökkenése magyarázza. Újabb adatok azonban cáfolják ezen elképzelést: a PGE_1 nem befolyásolta az acetylcholin felszabadulását tengerimalac ileum vagusrostjaiból (Hadházy és mtsai, közlés alatt).

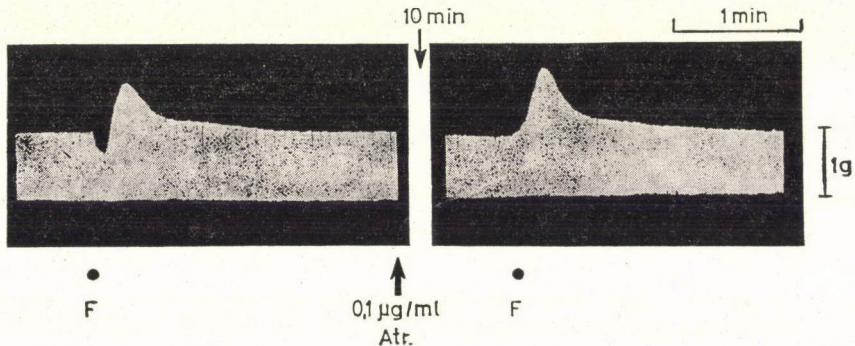
Az alábbi leírt kísérleteinkben arra kívántunk választ kapni, hogy milyen támadásponton valósul meg a PGE_1 vagusgátló hatása. Vizsgáltuk továbbá azt a kérdést, hogyan hat a PGE_1 az adrenerg rostok elektromos ingerlését követő sympathikus válaszra; elsősorban a PG-hatásnak az ingerlés időtartamától való függését tanulmányoztuk.

Vizsgálati módszerek

Izolált szívpitvar-készítmény. Ezt a preparátumot elvéreztetéssel megölt tengerimalacokból nyertük. Mindkét szívpitvart a jobboldai vagusideggel együtt kimetszettük, és a spontán működő szervet 10 ml, 31°C -on tartott Krebs-oldatban függesztettük fel. A tápoldatot 95% O_2 és 5% CO_2 keverékével oxigenizáltuk. A vagust 30 mp-enként szupramaximális feszültségű, 0,5 msec impulzustartamú és különböző Hz-számú áramsorozatokkal ingereltük. A szívfrekvenciát EKT-1 típusú tachométerrel folyamatosan regisztráltuk.

Az exogén acetylcholin és PGE_1 chronotrop hatását szintén spontán működő tengerimalac pitvarokon elemeztük. A vagust ezekben a kísérletekben nem preparáltuk ki, a kísérleti feltételek egyébként az előbbiekkal megegyeztek.

A PGE_1 és adrenerg izgalom kölcsönhatását konstans frekvenciával működtetett, tengerimalacból izolált balpitvarokon tanulmányoztuk; a kontraktilitás-változásokat mértük. A nyugalmi feszülést (0,3–0,5 g) úgy állítottuk be, hogy maximális kontrakciókat kapjunk. A szerveket 180/min frekvenciájú, a küszöböt 20–30%-kal meghaladó feszültségű, 1,0 msec impulzustartamú, az izomrostokat direkte ingerlő négyszög-impulzusokkal működtettük. 3–5 percenként ezt az „alapingerlést” különböző impulzusszámú (10–



1. ábra. A téringerlés okozta negatív inotrop hatás gátlása atropinnal tengerimalac bal fülcsén. Direkt ingerlés: 3 Hz; 1,0 msec impulzustartam; feszültség 20%-kal a küszöb felett. Téringerlés (F): 3 Hz; 1,0 msec impulzustartam; feszültség supramaximális; impulzusszám: 20

20–40), szupramaximális feszültségű téringerek váltották fel. Ez a beavatkozás — átmeneti kontrakciócsökkenés után — pozitív inotrop hatást idézett elő. A gyengülést a parasympathikus rostokból felszabadult acetylcholin, a kontraktilitás-növekedést az adrenerg idegvégződésekből szabadabbá váló noradrenalin okozza (Blinks, 1966). Mivel a sympathikus hatást kívántuk vizsgálni, 100 ng/ml atropint adtunk a szervfürdőbe, ami a negatív inotrop effektust teljes mértékben meggátolta (1. ábra). Az inotrop hatás adrenerg eredetét az igazolja, hogy ez az effektus nem jön létre a noradrenalin felszabadulását meggátló guanethidin, a béta receptor bénító pindolol (LB-46) jelenlétében, s nem váltható ki az axonális vezetést gátló tetrodotoxin adása után sem.

Az inotrop hatást Ugo Basile Microdynamometer feszülésmérővel, izometriásan regisztráltuk kormozott hengeren. A vizsgált vegyületeket 0,1–0,3 ml fizioológias sóoldatban adtuk a szervfürdőbe. A kísérleti méréseket a készítmények szervfürdőbe helyezése után egy-másfél óra elteltével kezdtük meg.

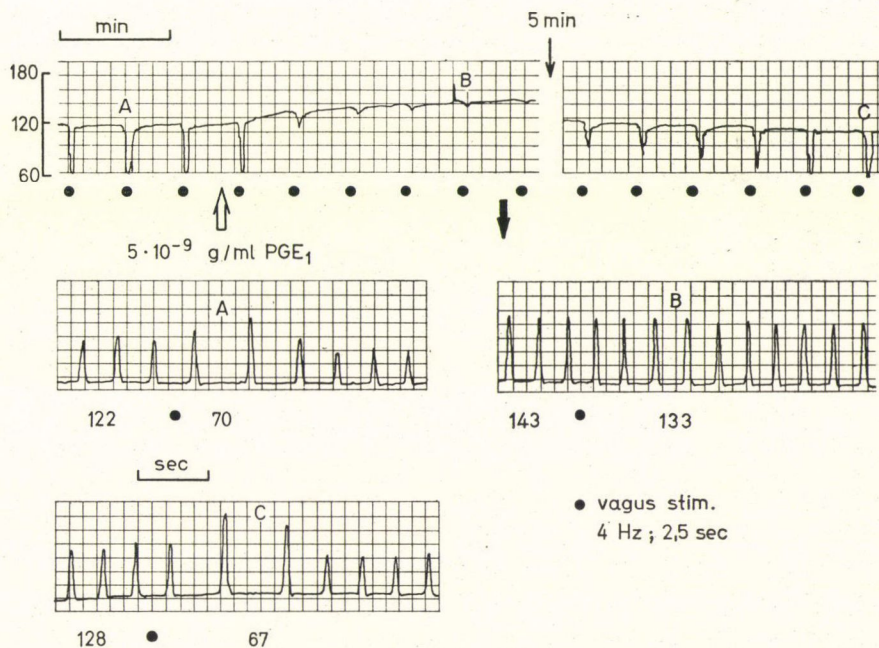
A ganglionáris transmissio vizsgálata. A PGE_1 hatását a ganglionáris áttevődésre pentobarbitállal (35 mg/kg, i.p.) narkotizált macskákon tanulmányoztuk. A jobb oldali nyaki preganglionáris sympathikus ideget kipreparáltuk, átvágtuk, s a perifériás csontot platina-elektrodpáron keresztül

szupramaximális feszültségű, 4 Hz frekvenciájú impulzus-sorozatokkal percenként ingereltük. A válaszul fellépő pislogóhártya-kontrakciókat mértük. Kipreparáltuk és megkanülöztük a gangl. cerv. sup.-hoz futó art. lingu.-t, s ebbe fecskendeztük a kérdéses anyagokat, minden esetben 0,2 ml fiziológias sóoldatban. A befecskendezés idejére az art. carotist leszorítottuk, hogy elősegítsük a vegyületek eljutását a dúcsejtekhez. A készítmények megbízható működését minden kísérletben ganglionbénító adásával ellenőriztük.

A PGE₁-et a Chinoin Gyógyszergyár szintetizálta és bocsátotta rendelkezésünkre. A kísérletes adatokat „t” test segítségével értékeltük (szignifikancia-határ: 5%).

Eredmények

A PGE₁ vagusgátló hatása. A PGE₁ $2,5 \times 10^{-9}$ – $5,0 \times 10^{-9}$ g/ml koncentrációban, erőteljesen gátolta a vagusingerlést követő negatív chronotrop választ spontán működő tengerimalac pitvaron. Jellegzetes hatást szemléltet a 2. ábra. A felső két regisztrátumon tachogram demonstrálja a frekvencia változásait, az alsó ábrarészleteken a pitvari kontrakciók görbéi láthatók. 5,0 ng/ml



2. ábra. A PGE₁ gátló hatása a vagusingerléssel kiváltott bradycardiára spontán működő tengerimalac pitvaron. A felső regisztrátumok bal oldalán: kalibráció, frekv./min. Az alsó regisztrátumok alatti számok a kontrakciók közötti maximális időtartamból számított percenkénti frekvenciát jelzik. Fekete nyílnál: kimosás

PGE₁ — miközben a 120/min frekvenciát 150/min-re növelte — teljes mértékben felfüggesztette a 4 Hz-es ingerlés hatását. Kimosás után a vagusingerlés hatékonysága visszatért a kiindulási értékre.

I. táblázat

A PGE₁ ingerlési frekvenciától függő vagusgátló hatása izolált tengerimalac pitvarokon. Az ingersorozatok impulzusszáma minden frekvenciánál ugyanaz: 16 impulzus. Átlag $\pm$ S.E.

PGE ₁	A szívfrekvencia %-os csökkenése vagusingerlés (v.i.) után		
—	v.i.: 4 Hz	v.i.: 8 Hz	v.i.: 16 Hz
—	33,6 $\pm$ 6,1	51,2 $\pm$ 4,6	57,4 $\pm$ 4,9
5,0 ng/ml	7,7 $\pm$ 1,4	27,0 $\pm$ 3,7	39,2 $\pm$ 3,7
p	<0,01	<0,05	<0,05
n=	7	5	5

A PGE₁ különböző ingerfrekvenciáknál mért vagusgátló hatására vonatkozó adatokat az I. táblázat összegezi. Ebből kitűnik, hogy 5,0 ng/ml PGE₁ az idegingerlés frekvenciájától függően gátolja a vagusingerlést követő negatív chronotrop válaszokat: 4 Hz-nél 76, 8 Hz-nél 47 és 16 Hz-nél 32%-os volt a gátlás.

A PGE₁ hatása a ganglionáris transmissióra. Holmes és mtsai (1963), valamint Kayaalp és McIsaac (1968) korábban közölték, hogy a PGE₁ nem gátolja a ganglionáris áttevődést. A mi eredményeink megegyeznek az idézett szerzők észlelésével. Három macskán — egy-egy kísérletben többször ismételve — az art. lingu.-ba fecskendezett 2,0 μ g PGE₁ (10,0 μ g/ml-es oldatból 0,2 ml) nem befolyásolta a preganglionáris rostok ingerlésére (4 Hz, 8 impulzusból álló sorozatok) bekövetkező pislogóhártya-kontrakciók nagyságát. Reprezentatív kísérletet demonstrál a 3. ábra. A hexamethonium hatékonysága a preparátum megbízható működését bizonyítja: a beadott anyagok eljutottak a dúcsejtekhez.

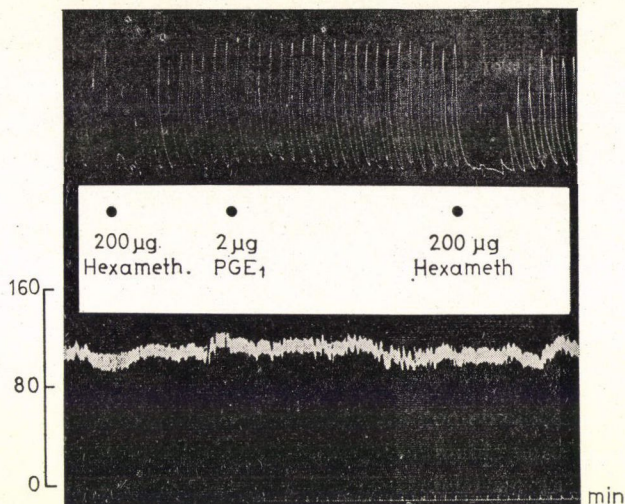
Mind a ganglionsejtek, mind a környezetükben futó axonok relatíve — a szív kísérletekben alkalmazott töménységhez képest — nagy koncentrációjú PGE₁-gyel kerültek kontaktusba. Így ez a hormon sem a ganglionáris áttevődést, sem az axonális vezetést nem befolyásolta. Minthogy a PGE₁ nem csökkenti az acetylcholin felszabadulását a parasympathikus idegvégződésekből (Hadházy és mtsai, közlés alatt), a vegyület vagusgátló hatásának postsynaptikusan, a pitvari ingerképző sejteken kell létrejönnie.

A PGE₁ antiacetylcholin hatása. Az előbbieik alapján várható, hogy ez a hormon az exogén acetylcholin negatív chronotrop hatását is csökkenti.

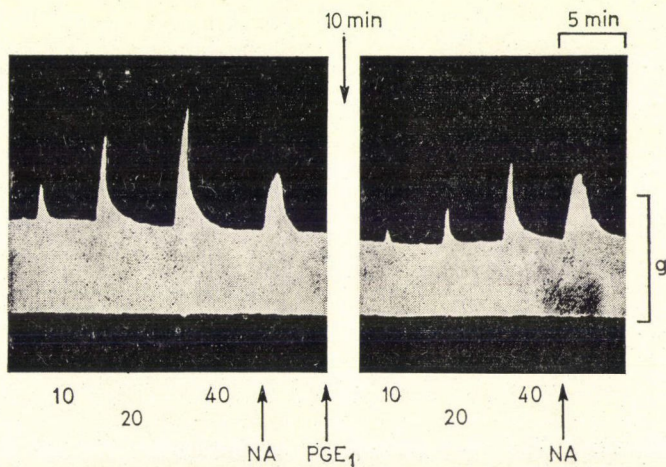
Egy további kísérletsorozatban (n = 8) 150 ng/ml acetylcholin a 4 Hz-es vagusingerléshez hasonló mértékű bradycardiát okozott. 5,0 ng/ml PGE₁

jelenlétében az acetylcholin adását követő negatív chronotrop válasz a kontroll-hoz képest jóval gyengébb volt. Normál Krebs-oldatban az acetylcholin $39,4 \pm 2,8\%$ -kal csökkentette a szívfrekvenciát, PGE₁ adása után mindössze $10,0 \pm 2,5\%$ -kal. A két érték közötti különbség szignifikáns ($p < 0,001$).

Az eredményekből az következik, hogy a PGE₁ — a fenti kísérleti körülmények között — a vagusingerléssel kiváltott negatív chronotrop választ



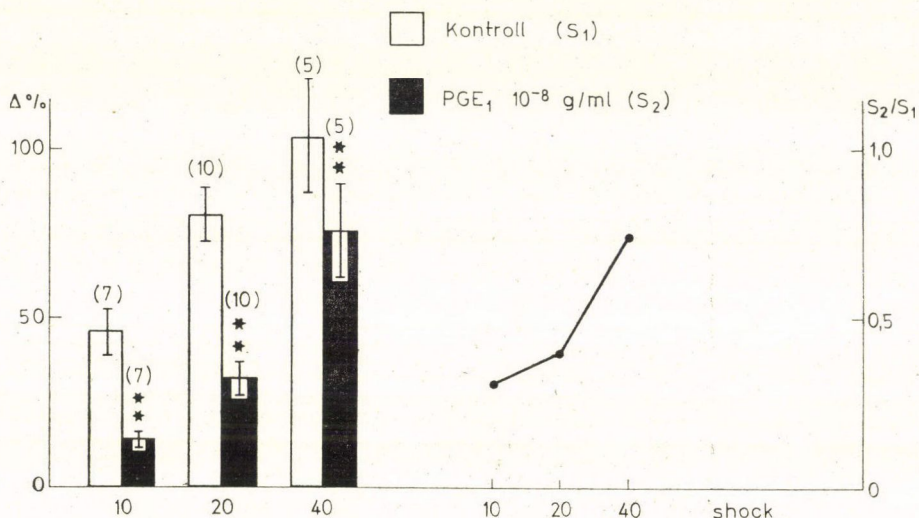
3. ábra. A PGE₁ hatása a ganglionáris transmissióra altatott macskán. Felső rész: a preganglionáris ideg ingerlésével kiváltott pislogóhártya-kontrakciók. Alsó görbe: vérnyomás (Hgmm)



4. ábra. A PGE₁ (10 ng/ml) hatása a téringerléssel és noradrenalinnal előidézett pozitív inotrop válaszra tengerimalac bal pitvaron. NA: 100 ng/ml noradrenalin. Az ábra alatti számok: a téringerlés tartamát jelző impulzusszámok

azáltal gátolja, hogy csökkenti a vagus-végződésekből felszabadult acetylcholin hatását a pitvari ingerképző sejteken.

A PGE₁ hatása az adrenerg transmissióra. Izolált, konstans frekvenciával (3 Hz) működtetett tengerimalac pitvarokon 10⁻⁸ g/ml PGE₁ csökkentette a téringlerléssel kiváltott pozitív inotrop válaszokat. Jellegzetes effektust demonstrál a 4. ábra. A gátló hatás mindhárom alkalmazott impulzusszámnál



5. ábra. A PGE₁-nek a téringlerlés tartamától függő gátló hatása tengerimalac bal pitvarokon. Abszcissza: a téringerek impulzusszáma. Bal oldali ordináta: pozitív inotrop hatás a kontroll %-ában. Az oszlopok felett zárójelben: a kísérletek száma. Függőleges vonalak: S.E. S₁: a téringlerlés hatása normál Krebs-oldatban, S₂: ugyanaz PGE₁ jelenlétében

(10–20–40 stimulus) jelentkezik, de ez kisebb mérvű a tartósabb (40 impulzus) téringlerlésnél. Az ábrából az is kitűnik, hogy az exogén noradrenalin (100 ng/ml; submaximális koncentráció!) pozitív inotrop hatása nem módosul PGE₁ jelenlétében. Három kísérletben 100 ng/ml noradrenalin átlagban $0,7 \pm 0,03$ g-ról $1,2 \pm 0,04$ g-ra, a PGE₁ adása után $0,6 \pm 0,07$ g-ról $1,1 \pm 0,1$ g-ra növelte a kontrakcióerőt.

Az 5. ábra összesítve szemlélteti, hogy a PGE₁ a téringlerlés tartamától függően gyengíti az adrenerg rostok izgatásával előidézett pozitív inotrop válaszokat: minél tartósabb a téringer, annál kevésbé gátol a PGE₁.

Az adrenerg transmissio és a PG közötti kölcsönhatást elemző kísérleteink megerősítik a PGE₁ noradrenalin felszabadulást gátló hatásáról nyert irodalmi adatokat. Eredményeink továbbá arra utalnak, hogy ez a gátló hatás elsősorban a sympathikus ingerlés kezdeti szakaszában jelentkezik.

Megbeszélés

Wennmalm és Hedqvist (1971) szerint a PGE₁ az acetylcholin felszabadulásának gátlásával csökkenti a vagus-bradycardiát. Feltetésük azon alapul, hogy kísérleteikben a vegyület nem befolyásolta az exogén acetylcholin negatív chronotrop hatását. A mi eredményeink cáfolják feltetésüket. Kísérleteinkben 5,0 ng/ml PGE₁ nagymértékben gátolta a 150 ng/ml acetylchollinnal kiváltott frekvenciacsökkenést. Utóbb idézett szerzők 0,7–4,5 µg acetylchollint adtak a perfundált szív aortájába, ily módon az ingerképző sejtek környezetében valószínűleg magasabb koncentrációt ért el a cholinerg transmitter, mint a mi készítményeinknél. Ez magyarázhatja, hogy Wennmalm és Hedqvist (1971) nem észlelt „antiacetylcholin” hatást PGE₁ jelenlétében.

A postsynaptikus támadáspont mellett szólnak azon korábbi adataink is (Hadházy és mtsai, közlés alatt), melyek szerint a PGE₁ nem csökkenti az acetylcholin felszabadulását a tengerimalac ileum vagusrostjaiból. Jogos feltételezni, hogy a transmitter az ileum és szívpitvar vagus-végződéseiből azonos mechanizmussal szabadul fel, ugyanis mindkét szövetet C típusú parasymphikus rostok idegzik be.

A PGE₁ „anticholinerg” hatása kapcsolatos lehet a ciklikus AMP (cAMP) rendszer aktivációjával. Az alábbiak szólnak ezen feltevés mellett. A PGE₁ növeli a cAMP-szintet tengerimalac szívben (Sobel és Robinson, 1969), az acetylcholin viszont csökkenti e hormon koncentrációját (Murad és mtsai, 1962). Egyéb, a szívben a cAMP-szintet emelő vegyületek, mint a catecholaminok (Sutherland és Robinson, 1969), theophyllin (Butcher és Sutherland, 1962) és a glucagon (Levey és Epstein, 1969), a PGE₁-hez hasonló módon csökkentik a vagus-bradycardiát (Hadházy, 1971, 1972; Hadházy és Vizi, nyomtatás alatt; Hadházy, nyomtatás alatt). Végül a dibutyryl cAMP ugyancsak csökkentette a vagusingerlés által kiváltott negatív chronotrop választ (Hadházy, nem közölt adat).

A prostaglandinok „antiadrenerg” hatása jóval részletesebben tanulmányozott kérdés, mint a PG és cholinerg rendszer közötti kölcsönhatás. Mind a PGE₁, mind a PGE₂ csökkenti a sympathikus ingerlés chronotrop és inotrop hatását perfundált nyúlshíven (Hedqvist és Wennmalm, 1970) és izolált tengerimalac fülcsén (Baum és Shroshire, 1971). Idézett szerzők spontán működő preparátumokat használtak, ahol a pozitív chronotrop effektus per se növeli a kontraktilitást (Blinks és Koch-Weser, 1963). Ezen komplikáló hatás kizárása érdekében választottuk a konstans frekvenciával működtetett izolált pitvart. Kísérleti eredményeink részben — a módszertani különbségtől eltekintve — ismert adatokat erősítenek meg. Új megállapításunk az, hogy a PGE₁ adrenerg transmissiót gátló hatása a sympathikus ingerlés tartamától függ. Minél alacsonyabb a shockszám, annál kifejezettebb a gátlás. Tehát a PGE₁ az adrenerg rostok ingerlésének csak az első fázisában hatékony, a

későbbi szakaszban nem befolyásolja a sympathikus transmitter felszabadulását. Ez a jelenség hasonló az acetylcholin-felszabadulás noradrenalinvaló gátlásához (Knoll és Vizi, 1971).

A helyi érzéstelenítők és a hozzájuk hasonlóan ható vegyületek ugyan csak gátolják a transmitter kiáramlását a végkészülékekből, éspedig a neuron teljes hosszában, tehát már az axonális vezetést is megbénítják. Ily módon az ideg ingerlés frekvenciájától és impulzusszámától (ingertartamtól) függetlenül fejtik ki gátló hatásukat. Ezzel szemben a PG az adrenerg transmissiót valószínűleg csak a neuroeffektor végkészüléken, mégpedig az ingerlés frekvenciájától és időtartamától függően gátolja. Feltételezhető, hogy ez a hatás mód teszi a PG-t alkalmassá az adrenerg transmissio modulációjára. A PG-nak a parasympathikus ingerületátvitelben — úgy látszik — presynaptikus támadásponton nincs modulátor szerepe: nem befolyásolja az acetylcholin felszabadulását a cholinerg végkészülékekből. Ez a hormon a parasympathikus rostokkal beidegzett sejtek funkcióját postsynaptikus-effektorialis támadásponton módosítja.

IRODALOM

- Baum, T. és Shropshire, A. T.: *Am. J. Physiol.* **221**, 1470 (1971).
 Blinks, J. R.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **151**, 221 (1966).
 Blinks, J. R. és Koch-Weser, J.: *Pharmacol. Rev.* **15**, 531 (1963).
 Butcher, R. W. és Sutherland, E. W.: *J. Biol. Chem.* **237**, 1244 (1962).
 Hadházy, P.: *Br. J. Pharmac.* **42**, 364 (1971).
 Hadházy, P.: *Eur. J. Pharmacol.* **20**, 284 (1972).
 Hedqvist, P. és Wennmalm, A.: *Acta physiol. scand.* **79**, 19A (1970).
 Holmes, S. W., Horton, E. W. és Main, I. H. M.: *Br. J. Pharmac.* **21**, 538 (1963).
 Kayaalp, S. O. és McIsaac, R. J.: *Eur. J. Pharmacol.* **4**, 283 (1968).
 Knoll, J. és Vizi, E. S.: *Br. J. Pharmac.* **42**, 263 (1971).
 Levey, G. S. és Epstein, S. E.: *Circ. Res.* **24**, 151 (1969).
 Murad, F., Chi, Y. M., Rall, T. W. és Sutherland, E. W.: *J. Biol. Chem.* **237**, 1233 (1962).
 Sobel, B. E. és Robinson, A. K.: *Circulation, Suppl. III.* **40**, 189 (1969).
 Sutherland, E. W. és Robinson, G. A.: *Pharmacol. Rev.* **18**, 145 (1969).
 Wennmalm, A. és Hedqvist, P.: *Life Sci.* **9**, Part I., 931 (1970).
 Wennmalm, A. és Hedqvist, P.: *Life Sci.* **10**, Part I., 465 (1971).