

A PGE_1 INGERTARTAMTÓL ÉS INGERLÉSI FREKVENCIÁTÓL FÜGGŐ GÁTLÓ HATÁSA A SZIMPATIKUS TRANZMISSZIÓRA

ILLÉS PÉTER, TORMA ZOLTÁN, VIZI E. SZILVESZTER, az orvostudományok kandidátusa és KNOLL József, az MTA lev. tagja

Közlésre érkezett: 1973. IV. 6.

A noradrenalin preszinaptikusan gátolja az acetilkolin (Knoll és Vizi, 1971; Vizi és Knoll, 1971) és a noradrenalin felszabadulását (Starke, 1972) és ez a gátlás függ az ingerlés frekvenciájától és időtartamától (Vizi, Somogyi, Hadházy és Knoll, közlés alatt). A proszttaglandinok (PG-k) preszinaptikusan gátolják a noradrenerg transzmissziót (Hedqvist, 1970), míg a kolinerg nem (Hadházy, Illés és Knoll, 1973). A noradrenerg transzmisszióra gyakorolt PG hatás függ az ingerlési paraméterektől (Hedqvist és mtsai, 1970; Ambache és Zar, 1971; Hedqvist és von Euler, 1972a). A nyűlbél ingerlésekor PG-k is szabadulnak fel (Ferreira és mtsai, 1972) és ismert, hogy a PG-k kontrahálják ezt a szervet (Horton és Main, 1965). Így feltehető volt, hogy a PG-k a nyűlbél szimpatikus transzmisszióját is gátolják.

Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy mennyiben befolyásolja az ingerlési frekvencia és shockszám a PGE_1 szimpatikus transzmissziót gátló hatását. Izolált nyúl jejunumon, tengerimalac és patkány vas deferensen és macska pislogóhártyán dolgoztunk.

Módszerek

1. *Nyúl jejunum.* A nyúl jejunumot a hozzátartozó szimpatikus idegekkel Finkleman (1930) szerint preparáltuk. Egy 2–3 cm hosszú béldarabot 14 ml-es fürdőben Krebs-oldatban függesztettünk fel. Az oldatot 37°C -on 95% O_2 – 5% CO_2 -al buborékolattuk át. Az oldat összetétele a következő volt (mM): NaCl 113; KCl 4,7; $CaCl_2$ 2,5; KH_2PO_4 1,2; $NaHCO_3$ 25 és glukóz 11,5. A kontrakciókat „Servogor” kompenzográfion izometriásan regisztráltuk. A periarteriális idegeket platina elektróddal 15 illetve 40 másodpercig ingereltük 10 percenként 3–15 Hz-el, és 0,5 msec impulzusszélességgel, supramaximális feszültség mellett (10–20 V).

2. *Tengerimalac és patkány vas deferens.* A készítményeket ugyanúgy preparáltuk mint előző kísérleteinkben (Knoll, Somogyi, Illés, Vizi, 1972). A szerveket Krebs-oldatban, 37°C -on függesztettük fel, 3,5 ml-es fürdőben és 95% O_2 – 5% CO_2 -al buborékolattuk át. Téringerlést alkalmaztunk (Paton és Vizi, 1969) és a kontrakciókat izometriásan regisztráltuk, „Servogor”

kompenzográfón. Supramaximális (10 V/cm) négyszög hullámokkal ingereltünk 1 msec impulzusszélességgel és 10 Hz frekvenciával. A shockszámot 1–50-ig vagy 1–10-ig emeltük. Néhány kísérletben a patkány vas deferenset 0,1 Hz frekvenciával ingereltük.

3. *Macska pislogóhártya.* 2–3 kg súlyú macskákat 35 mg/kg i.p. pentobarbitallal altattunk, és a pislogóhártya mediális simaizmát Thompson (1958) szerint preparáltuk. A szerveket 3,5 ml-es szervfürdőben Krebs-oldatban függesztettük fel. 37° C-on és 95% O₂ – 5% CO₂-al buborékoltattuk át. A kísérlet megkezdése előtt egy órán keresztül 2 g előfeszítést alkalmaztunk, mivel a preparátumok kezdetben kontrahált állapotban vannak. Téringerlést alkalmaztunk és a kontrakciókat izometriásan regisztráltuk „Servogor” direktíron. Ingerlési paraméterek: 10 V/cm feszültségesés; 1 msec impulzusszélesség; 0,033 Hz frekvencia

4. *Alkalmazott anyagok.*

A kísérletek során a következő anyagokat alkalmaztuk: (±)–PGE₁ (Chinoín) (–)–PGE₁ (Upjohn), (–)–noradrenalin bitartarát (Koch Light), phentolamin methan sulphonat (CIBA) tolazolin hydrochlorid (E.G.Y.T.) phenoxybenzamin hydrochlorid (Dibenzylin; Smith Kline and French).

A (±)–PGE₁ tisztaságát a következő módszerekkel ellenőriztük: vékony réteg kromatográfia (egyetlen folt), enzimatis leontás sertés tüdő 15-hidroxi prosztaglandin dehidrogenázsal, és biológiai összehasonlítás (–)–PGE₁-el.

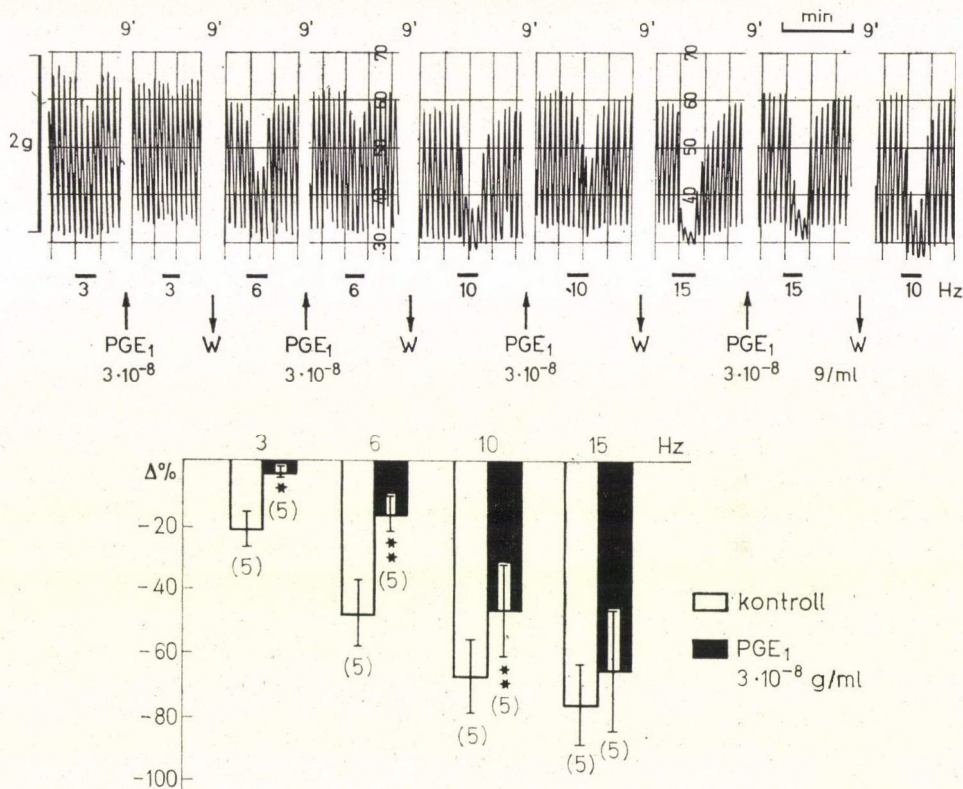
A biológiai meghatározást patkány-gyomorszeleten, tengerimalac-bélen és tengerimalac vas deferensen végeztük, az utóbbit 10 Hz-el ingereltük percenként. A (±)–PGE₁ a (–)–PGE₁-el azonos jellegű hatást fejtett ki, de az utóbbi mintegy kétszer hatékonyabb volt. Adataink megegyeznek Ramwell és mtsai (1969) kísérleti eredményeivel.

A (±)–PGE₁ törzsoldatot úgy készítettük, hogy 1 mg anyagot 0,1 ml 96%-os etanolban oldottunk, és desztillált vízzel hígítottuk tovább 10 ml-re. A további hígításokat Krebs-oldatban készítettük el.

Eredmények

1. *Nyúl jejunum.* A szimpatikus ingerlés frekvenciától függően gátolta a nyúlbél spontán motilitását (1/a és b ábra). Az 1/a ábra egy tipikus kísérletet mutat be. 3×10^{-8} g/ml PGE₁ 8 perces inkubáció után gátolta a 3, 6 és 10 Hz-es ingerlés hatását de a 15 Hz-esét nem. Az ábra jobb oldalán látható, hogy a PGE₁ kimosása után visszatér a szimpatikus ingerlés (10 Hz) eredeti hatékonysága. Az 1/b ábrán a spontán motilitás esökkenését a kontroll százalékában fejeztük ki. Megállapítható, hogy a 3, 6 és 10 Hz-es ingerlés hatásának gátlása szignifikáns, míg a 15 Hz-es ingerlés effektusa nem változik

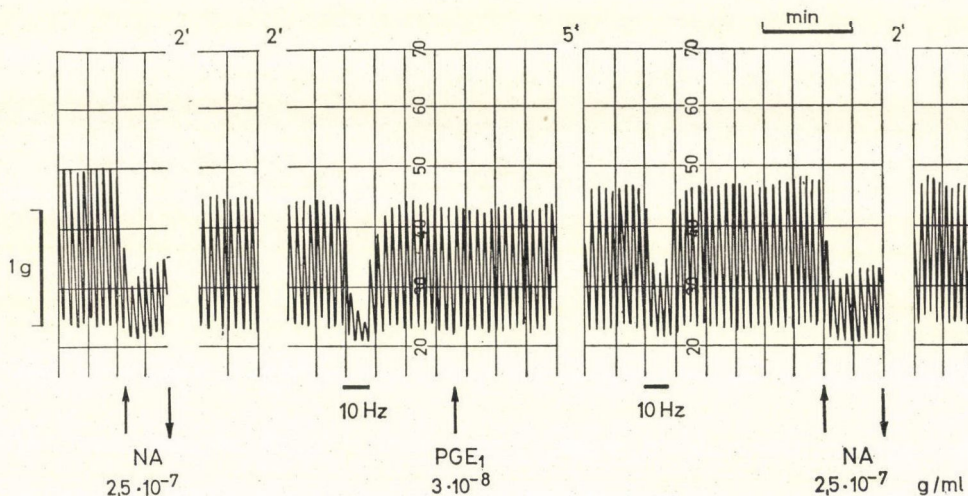
meg szignifikánsan PGE₁ jelenlétében. A továbbiakban felmerül az a kérdés, hogy a PGE₁-nek ez a hatása pre- vagy posztzinaptikus-e? A PGE₁ nem gátolta az exogén noradrenalin hatását, de gátolta a 10 Hz-es ingerlését (2. ábra). Két további kísérletben meghatároztuk a noradrenalin ED₅₀ értékét, azaz azt a noradrenalin dózist, mely a spontán kontrakciókat felére csökkenti le. Azt találtuk, hogy ez az érték 3×10^{-8} g/ml PGE₁ jelenlétében a kontrollhoz képest nem változik (kontroll ED₅₀ = $1,6 \times 10^{-7}$ g/ml; PGE₁ jelenlétében $1,5 \times 10^{-7}$ g/ml). A fenti adatok a preszinaptikus hatás mellett szólnak.



1. ábra. PGE₁ hatás a nyúl jejunum szimpatikus transzmisszióján. A preparátumokat szupra-maximálisan (10–20 V) ingereltük 10 percenként 15 másodpercig, 0,5 msec impulzusszélességgel és a feltüntetett frekvenciákkal. (A) Tipikus kísérlet. (B) A spontán aktivitás csökkenését a kontroll százalékában fejeztük ki. Az ábrán feltüntetettük a középértékek szórását, és zárójelben a kísérletek számát. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$

További három kísérletben megvizsgáltuk a PGE₁ gátlás shockszám függését, és azt találtuk, hogy a gátlás nem változott szignifikánsan akár 150 akár 400 shockkal ingereltünk 10 Hz-nél.

2. *Tengerimalac és patkány vas deferens 37° C-on.* A 3/a és b ábra a tengerimalac és patkány vas deferens kontrakciós erejét mutatja 10 Hz-nél



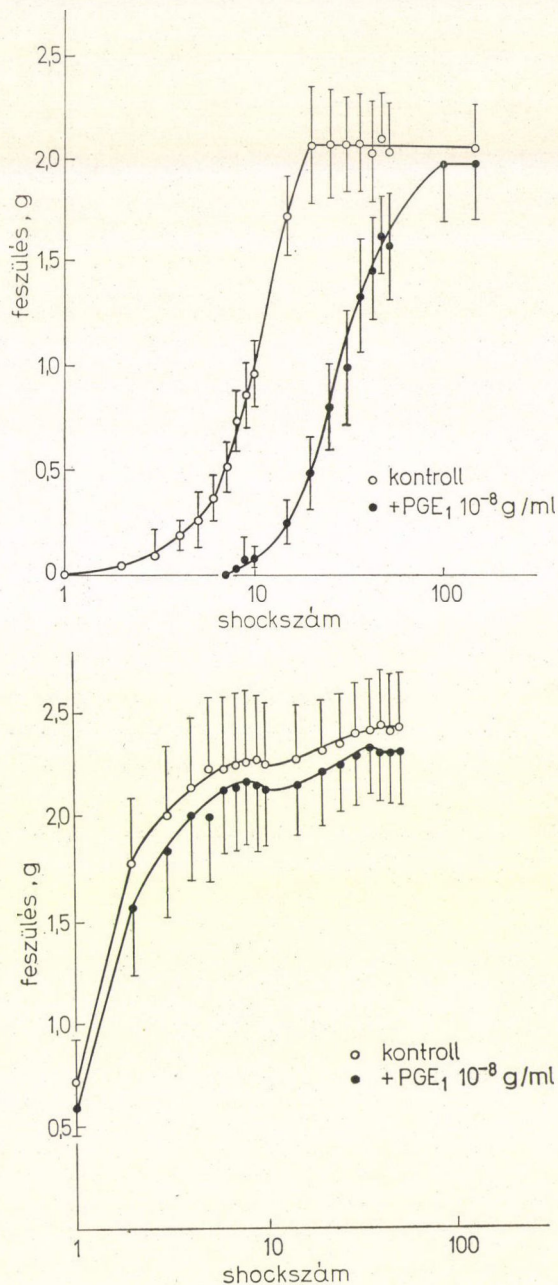
2. ábra. A PGE_1 hatása nyúl jejunumon az ingerlésre felszabaduló és exogén noradrenalinra. Az ingerlési paraméterek azonosak mint az 1. ábrán. Az exogén noradrenalin a PGE_1 jelenlétében is a kontrollal azonos hatást fejt ki, és ez preszinaptikus támadáspontra utal

emelkedő shockszám mellett. 10^{-8} g/ml PGE_1 szignifikánsan gátolja a tengerimalac vas deferens kontrakcióit egészen 100 shockig (3/a ábra). E shockszám felett a kontrakciómagasság nem gátolható. A 4. ábrán látható, hogy 20 shocknál 10^{-8} g/ml PGE_1 nemcsak a kontrakció magasságot, de az összehúzódnás sebességét is csökkenti. 100 shocknál azonban már csak az utóbbi érték csökken.

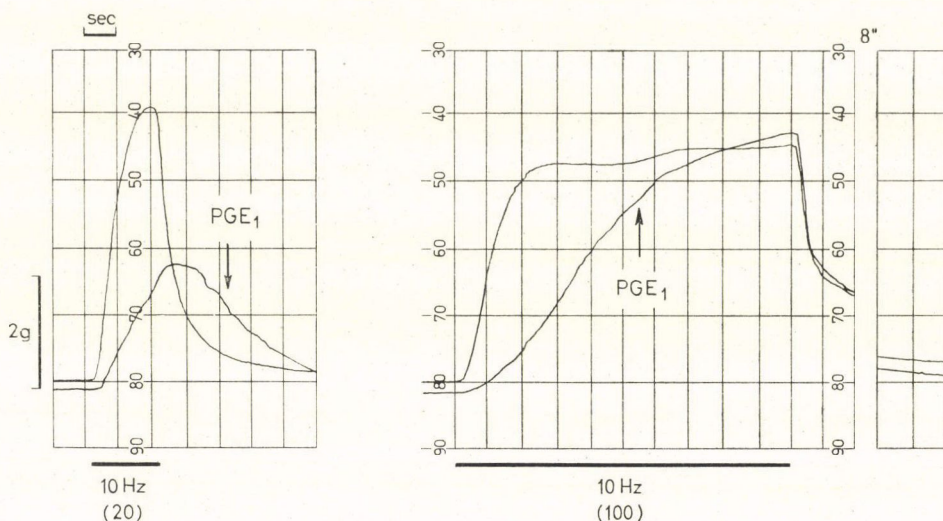
A patkány vas deferensen a PGE_1 (10^{-8} g/ml) semmilyen shockszámnál nem gátol. A PGE_1 nagyobb koncentrációban (10^{-6} g/ml) sem gátolja a kisfrekvenciás (0,1 Hz) vagy nagyfrekvenciás (10 Hz) ingerlés hatását. 10^{-8} – 10^{-6} g/ml PGE_1 nem befolyásolja a szinguláris ingerrel kiváltott válasz magasságát vagy sebességét sem.

3. *Tengerimalac vas deferens 20° C-on.* 10 Hz-nél emeltük a shockszámot 37° C-on (5/a ábra) és 20° C-on (5/b ábra). 37° C-on a PGE_1 valamennyi shockszámnál gátol, míg 20° C-nál csak az alacsonyabb shockszám hatása gátolt. A shockszám-hatás görbe formája 20° C-on eltér a 37° C-on kapottól, mivel a kis shockszám hatása jobban megnő mint a nagyé. 20° C-on 2 shock hatása $2900 \pm 290\%$ -kal, 3 shocké $1590 \pm 218\%$ -kal 10 shocké pedig csak $150 \pm 32\%$ -kal ($n = 8$, S. E.) nő meg a 20° C-on kapott értékekhez képest. A submaximális noradrenalin dózis (2×10^{-6} g/ml) hatása a 20° C-on kapott érték $180 \pm 42\%$ -ára nő.

4. *Macska pislogóhártya.* A téringerlés valóban az idegelemekre hat, mivel 10^{-6} g/ml tetrodotoxin teljesen meggátolja a 0,033 Hz-es ingerlés hatását. Vizsgáltuk, hogy noradrenalin szabadul-e fel az ingerlésre, és azt találtuk,



3. ábra. Shocks szám-hatás görbék vas deferens készítményeken 10 Hz-es ingerlési frekvencia mellett. A készítményeket 8 V/cm feszültségeséssel, 1 msec impulzusszélességgel ingereltük. A szervfürdő hőmérséklete 37° C. (A) Tengerimalac vas deferens. (B) Patkány vas deferens. Az egyes pontok 6 (A) illetve 3 (B) kísérlet átlagát jelzik. Feltüntetettük a középértékek szórást, ha nem, akkor azok kisebbek voltak a pontoknál. A PGE₁ a patkány vas deferensen hatástalan



4. ábra. A 10 Hz-es téringerlés kontrakciót okozó hatása tengerimalac vas deferensen. A shock-számot zárójelben tüntettük fel. A görbéket ugyanazon a készítményen vettük fel. A kontroll válasz regisztrálása után 10 percig 10^{-8} g/ml PGE₁-el inkubáltuk a szervet

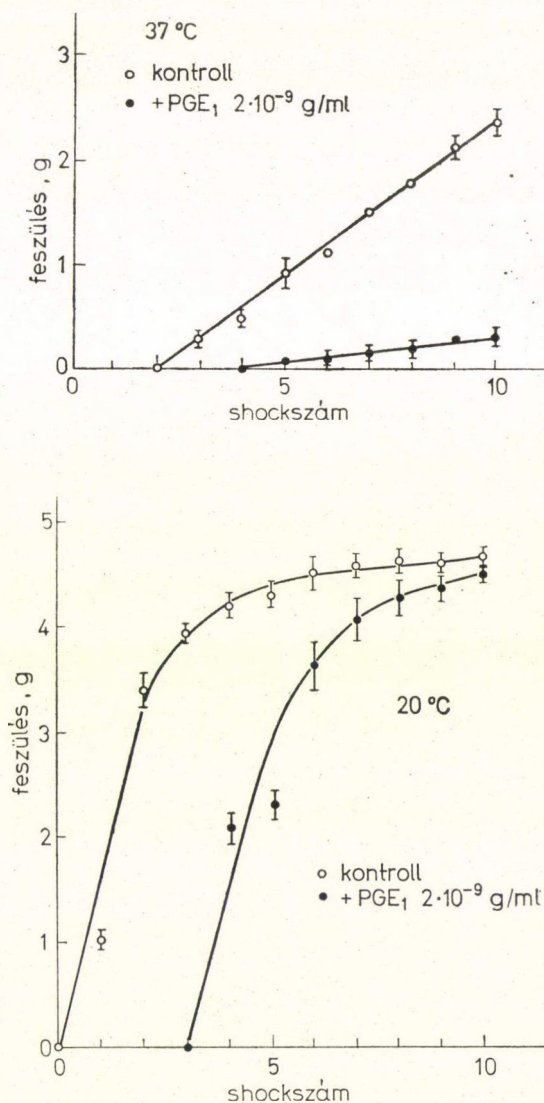
hogy az adrenerg alfa-gátló phentolamin, tolazolin illetve phenoxibenzamin 10^{-5} g/ml dózisban a kontrakciókat jelentősen lecsökkenti. A phentolamin és tolazolin az alkalmazott dózisban saját kontrakciót okozó hatással is rendelkezik.

A PGE₁ nem befolyásolja sem a 0,033 Hz-es ingerlés, sem pedig az exogén noradrenalin hatását (6. ábra).

Megbeszélés

Kísérleteink igazolják, hogy a nyúl jejunumban a PGE₁ gátolja a szimpatikus ingerlés effektusát. Az alkalmazott dózis kísérleti feltételeink mellett nem rendelkezett simaizom-izgató hatással. 3×10^{-8} g/ml PGE₁ preszinaptikusan gátolta a noradrenalin felszabadulását. Hasonló hatásról számolt be Hedqvist (1970) nyúl szívén, macskalépen és tengerimalac vas deferensen. Egyes PG-t szekretáló tumorok (Williams és mtsai, 1968) és menstruáció alatt mikor megnő a vérben a PG szint (Eglinton és mtsai, 1963) igen gyakran diarrhea lép fel. Guanethidin vagy reserpin előkezelés, illetve adrenerg alfa-receptor gátlók felfüggesztik a bélsatorna szimpatikus kontrollját, és másodlagosan megnő az acetilkolin felszabadulás (Paton és Vizi, 1969). Feltehetően a PG-k kétféle mechanizmussal fokozzák a gastrointestinalis motilitást, részben közvetlen simaizom-izgató hatásukkal — Bennett és Fleshler (1970) ezt az álláspontot képviseli —, részben pedig a bélsatorna szimpatikus kontrolljának csökkentésével.

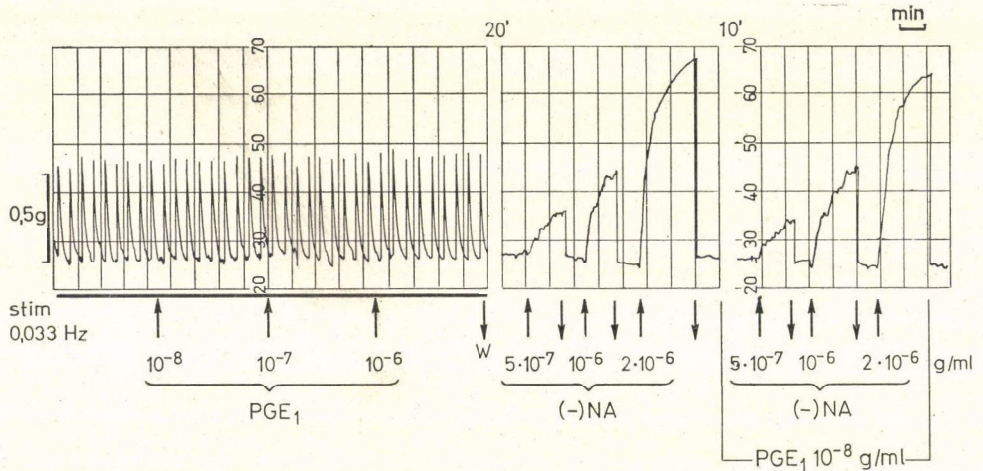
Kísérleteinkben a PGE₁ 10^{-8} g/ml-es dózisban a 10 Hz-es ingerlés hatását egészen 100 shockig gátolta a tengerimalac vas deferensen. A patkány vas deferensen a PGE₁ nem hatott. Hedqvist és von Euler (1972a) szerint a tengerimalac vas deferens jóval érzékenyebb PGE₁-re mint a patkányé. Nagyobb PGE₁ dózisokra (2×10^{-7} g/ml) azonban kifejezett gátlást találtak



5. ábra. A PGE₁ különböző hőmérsékleten kifejtett hatása a 10 Hz-es ingerelt tengerimalac vas deferens shockszám-hatás görbéjére. Hőmérséklet: (A) 37 °C; (B) 20 °C. A pontok 8 kísérlet átlagát jelzik. Feltüntettük a középértékek szórását, ha nem, azok kisebbek voltak a pontoknál

a patkány vas deferensen is. Mi ezen a készítményen semmilyen PGE_1 koncentráció és shockszám mellett nem tudtunk gátlást kimutatni.

20°C -on a téringerlés hatása megnő a tengerimalac vas deferensen (Della Bella és mtsai, 1965; Ambache és Zar, 1971). E hőmérsékleten a szerv PGE_1 iránti érzékenysége csökken, és a shockszám-hatás görbe hasonlóvá



6. ábra. A PGE_1 hatása az izolált macska pislogóhártyán. Az ábra bal oldalán a 0,033 Hz-es téringerlés hatása látható (szupramaximális feszültségű: 8 V/cm; impulzusszélesség: 1 msec). A PGE_1 emelkedő koncentrációkban nem befolyásolta az ingerlés effektusát. Az ábra jobb részén noradrenalin dózishatásgörbét tüntettünk fel. 10^{-8} g/ml PGE_1 10 perces inkubációs idő után nem befolyásolta a noradrenalin kontrakciót okozó hatását

válak a patkány vas deferenséhez. A tengerimalac vas deferens idegingerlésre PG-t szabadít fel (Swedin, 1971; Hedqvist és von Euler, 1972b). A PG szintézis gátlása mind macskalépen (Hedqvist és mtsai, 1971), mind nyúlshíven (Wennmalm, 1971) fokozza az idegingerlésre felszabaduló noradrenalin mennyiségét. PG szintézis gátlása után a tengerimalac vas deferensen is megnő az ingerlés hatása (Hedqvist és von Euler, 1972b). A tengerimalac vas deferensen az alacsony shockszámú alacsony frekvenciájú ingerlés csak csekély hatást eredményez. Ezt feltehetően az okozza, hogy az ingerlésre felszabaduló PG-k negatív feed-back mechanizmussal gátolják az ingerlés hatását. 20°C -on illetve patkány vas deferensen ez a szabályozás kiesik, mivel az előbbi esetben csökkent, míg az utóbbiban hiányzik a PG iránti érzékenység.

A szinguláris inger a macska pislogóhártyán in vivo kísérletekben jól regisztrálható kontrakciókat ad (Haefely és mtsai, 1964; Bowman és mtsai, 1964). In vitro körülmények között szintén ezt találtuk. Azért vizsgáltuk ilyen alacsony frekvencia mellett a PGE_1 hatást, mivel tengerimalac vas deferensen a gátlás shockszámfüggőnek mutatkozott. Míg Khairallah és mtsai (1967) in vivo kísérletekben azt találták, hogy a PGE_1 potenciózza az ingerlés

hatását, *in vitro* ez az anyag sem az ingerlés, sem az exogén noradrenalin hatását nem befolyásolja. Az eltérő *in vivo* eredményeket valószínűleg az anyag értágító hatása következtében létrejövő fokozott szöveti átáramlás magyarázza.

A tenegrimalac vas deferensen a PGE₁ okozta gátlás tehát shockszámfüggő, minél tartósabban ingerlünk egy megadott ingerlési frekvenciával, annál kisebb mértékű az adrenerg transzmisszó gátlása. Hasonló összefüggést mutattak ki az endogén (Vizi és Knoll, 1971) és exogén (Knoll és Vizi, 1971) noradrenalin, acetilkolin-felszabadulásra kifejtett gátlására is. A nyúlbélen azonban, bár a PGE₁ okozta gátlás függött az ingerlési frekvenciától, azaz a frekvencia növelésével megszűnt a gátlás, shockszámfüggést nem tudtunk kimutatni. Jelenleg még nyitott az a kérdés, hogy mi okozza ezt a különbséget. Lehetséges, hogy az eltérő ingerlési módokban rejlik a magyarázat (tér- illetve idegingerlés). Hiszen téringerléskor a noradrenalin mellett más anyagok is felszabadulhatnak.

Köszönetnyilvánítás: Köszönetet mondunk a Chinoin Gyógyszer és Vegyészeti Termékek Gyárának a rendelkezésünkre bocsájtott PGE₁-ért.

ÖSSZEFOGLALÁS

Vizsgáltuk néhány izolált szervkészítményen a PGE₁ szimpatikus transzmisszióra kifejtett gátló hatását. A téringerelt tengerimalac vas deferensen a PGE₁ (10^{-8} g/ml) okozta gátlás shockszámfüggő volt. A 10 Hz-es ingerlésnél a shockszám növelésével csökkent a gátlás. 100 shocknál a PGE₁ a kontrakciomagasságot nem csökkentette, de csökkent a kontrakció sebessége. 3×10^{-8} g/ml PGE₁ gátolta a nyúl jejunum szimpatikus transzmisszióját. A gátlás ezen a szerven frekvenciafüggő, azonban nem shockszámfüggő. A frekvencia emelésével csökkent, de a shockszám emelésével nem változott a PGE₁ okozta gátlás. 37° C-on a tengerimalac vas deferens érzékeny, a patkány vas deferens azonban érzéketlen, a PGE₁-re. 20° C-on a tengerimalac vas deferens PGE₁ iránti érzékenysége csökken, és a shockszám-hatás görbe hasonlóná válik a patkányéhoz. A görbe megváltozott alakját esetleg egy endogén gátló anyag pl. prosztaglandin csökkent felszabadulása és/vagy hatása okozhatja. A PGE₁ nem gátolta az izolált macska pislogóhártya elektromos ingerléssel vagy exogén noradrenalinval kiváltott kontrakcióit. Kísérleteinkben a (+)–PGE₁ a (–)–PGE₁-el azonos jellegű hatásokat fejtett ki, de az utóbbi mintegy kétszer hatékonyabbnak bizonyult.

IRODALOM

- Ambache, N. és Aboo Zar, M.: *J. Physiol.* **216**, 359 (1971).
Bennett, A. és Fleshler, B.: *Gastroenterology* **59**, 790 (1970).
Bowman, W. C., Callingham, B. A. és Cuthbert, A. W.: *Brit. J. Pharmacol.* **22**, 558 (1964).
Della Bella, D., Gandini, A. és Preti, M.: *J. Pharm. Pharmacol.* **17**, 265 (1965).
Eglinton, G., Raphael, R. A., Smith, G. N., Hall, W. J. és Pickles, V. A.: *Nature* **200**, 960 (1963).
Ferreira, S. H., Herman, A. G. és Vane, J. R.: *Brit. J. Pharmacol.* **44**, 328 (1972).
Finkleman, B.: *J. Physiol.* **70**, 145 (1930).
Hadházy, P., Illés, P. és Knoll, J.: *Europ. J. Pharmacol.* in press. (1973).
Hedqvist, P.: *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 345 (1970).
Hedqvist, P. és von Euler, U. S.: *Neuropharmacology* **11**, 117 (1972a).
Hedqvist, P. és von Euler, U. S.: *Nature New Biol.* **236**, 113 (1972b).
Hedqvist, P., Stjärne, L. és Wennmalm, A.: *Acta Physiol. Scand.* **79**, 139 (1970).
Hedqvist, P., Stjärne, L. és Wennmalm, A.: *Acta Physiol. Scand.* **83**, 430 (1971).
Horton, E. W. és Main, I. H. M.: *Brit. J. Pharmacol.* **24**, 470 (1965).
Khairallah, P. A., Page, I. H. és Türker, R. K.: *Arch. int. Pharmacodyn.* **169**, 328 (1967).
Knoll, J. és Vizi, E. S.: *Brit. J. Pharmacol.* **42**, 263 (1971).
Knoll, J., Somogyi, G. T., Illés, P. és Vizi, E. S.: *Naunyn Schmied. Arch. Pharmacol.* **274**, 198 (1972).
Paton, W. D. M. és Vizi, E. S.: *Brit. J. Pharmacol.* **35**, 10 (1969).
Ramwell, P. W., Shaw, J. E., Corey, E. J. és Andersen, N.: *Nature* **221**, 1251 (1969).
Starke, K.: *Naunyn Schmied. Arch. Pharmacol.* **274**, 18 (1972).
Swedin, G.: *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 369 (1971).
Thompson, J. W.: *J. Physiol.* **141**, 46 (1958).
Vizi, E. S. és Knoll, J.: *J. Pharm. Pharmacol.* **23**, 918 (1971).
Wennmalm, A.: *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 365 (1971).
Williams, E. S., Karim, S. M. M. és Sandler, M.: *Lancet* **1**, 22 (1968).