

„A HISS MECHANIZMUS FARMAKOLÓGIAI MODULÁCIÓJÁNAK VIZSGÁLATA”
CÍMŰ OTKA TÁMOGATÁS ZÁRÓJELENTÉSÉHEZ
TÉMAVEZETŐ: DR. PÓRSZÁSZ RÓBERT

BEVEZETÉS

Korábbi vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a plexus hepaticus capsaicin-érzékeny szenzoros rostjai részt vesznek egy frissen felfedezett inzulin érzékenyítő mechanizmusban, melyet HISS-nek, Hepatic Insulin Sensitizing Substance mechanizmusnak nevezünk. A HISS mechanizmusról Sadri és Lutt (1999) és saját munkacsoportunk vizsgálatai alapján kiderült, hogy a neurális NOS (nitrogén oxid szintáz) blokkolása e mechanizmuson keresztül jön létre és inzulin rezisztencia kialakulásához vezet, melyet nitroglicerinnel intraportális adásával fel lehet függeszteni (Pórszász és mtsai. 2002, 2003). Ismert az is, hogy az újszülöttkori szisztémás capsaicin kezelés a szenzoros neuronok pusztulásához és inzulin érzékenység növekedéséhez vezet, melynek hátterében a csökkent CGRP szint áll (Koopmans és mtsai. 1998). Jelenleg a világon három munkacsoport foglalkozik e mechanizmus vizsgálatával (Wayne Lutt, Kanada, Winnipeg; Paula Macedo, Portugália, Lisszabon és a debreceni Farmakológia Intézet). Ilyen előzmények vezettek az OTKA pályázat benyújtásához és néhány új megállapítást tudunk tenni e rendszer működésével kapcsolatban. Vizsgáltuk a nitroglicerinnel rövid és hosszán tartó alkalmazásának hatását az inzulin érzékenységre, kísérleteket végeztünk a köztudottan szenzoros neuropátiát kiváltó cisplattinnal, hogy megvizsgáljuk milyen szerepet játszik a HISS mechanizmus a cisplatin okozta inzulin rezisztencia kialakulásában.

ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

Idegvezetés sebesség mérés: Az állatok n. saphenus idegét kipreparáltuk, centrálisan átvágtuk és 2 pár platina elektródra fektettük. Az egyik pár elektród elektromos ingerlésre, míg a másik elvezetésre szolgált. A két elektród közti távolságot minden állatnál lemértük, ami átlagosan 20 mm-nek adódott. Memória oszcilloszkópon összetett akciós potenciálokat regisztráltuk, majd off-line számítógéppel értékeltünk és meghatároztuk az A δ és a C rostok vezetési sebességét. A C potenciálok időbeli késése jellemezte a cisplatin hatásra kialakuló szenzoros neuropátia mértékét.

Perineurális capsaicin deszenzibilizáció: Sebészileg feltártuk a plexus hepaticus anteriort és arra 2 %-os capsaicin oldattal átitatott kb. 3 mm széles Gelaspon darabot helyeztünk és öltéssel fixáltunk, majd a hasüreget zártuk. Három nap elteltével a szivacsot eltávolítottuk és a hasfalat összevarrtuk. Egy hét elteltével az állatokon inzulin érzékenység meghatározást végeztünk, hiperinzulinémiás, euglikémiás clamp módszerrel.

Szisztémás capsaicin deszenzibilizáció: Egymást követő napokon 10, 30 és 50 mg/kg dózisban capsaicint adtunk s.c. A további kísérletre egy hét múlva került sor.

Hiperinzulinémiás, euglikémiás glükóz clamp: Az állatok 24 órás éheztetése után humán inzulint (Novo Nordisk) 13 mU/kg dózisban infundáltunk 120 percen keresztül. Ez a plazma inzulin immunoreaktivitást körülbelül 100 μ U/ml-re állítja be, melyet néhány esetben utólag RIA-val ellenőriztünk. A glükóz infúziót úgy állítottuk be, hogy az állat normoglikémiás (5,5 mmol/l) legyen. Ezt minden 10-dik percben vércukor meghatározással ellenőriztük. A steady state állapot elérését követően kezdtük meg a kísérletet. Az inzulin érzékenység változását a glükóz infúziós sebesség változásával adtuk meg mg/kg/min mértékegységben.

Ischaemiás tolerancia vizsgálata éber nyúlón:

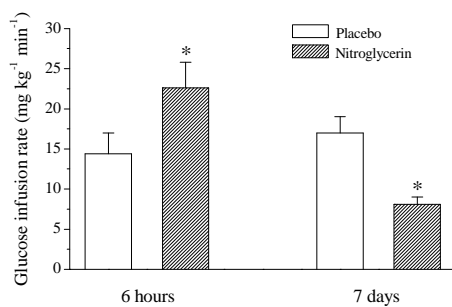
A szívizom iszkémiára gyakorolt hatásokat frekvenciaterheléssel kiváltott (500 ütés/perc 10 percig) tranzien, globális miokardium iszkémia okozta intrakavitális ST-szegment elevációra

(elektrofiziológiai paraméter, ill. bal kamrai végdiasztolés nyomás (LVEDP, hemodinamikai paraméter) emelkedésre gyakorolt hatások alapján jellemeztük.

FONTOSABB MEGÁLLAPÍTÁSOK

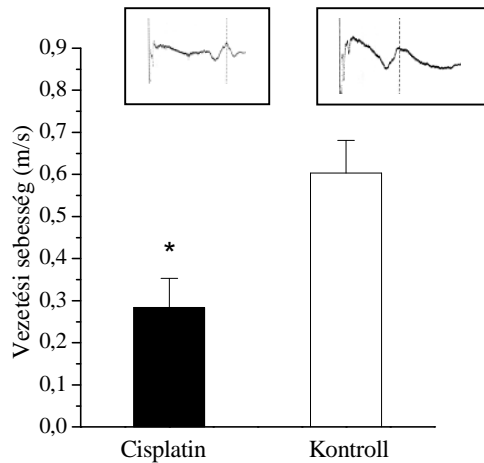
A pályázati időszakban folytatott kísérletek alapján kimondhatjuk, hogy az inzulin érzékenység szabályozásában létezik egy eddig farmakológiailag ki nem használt út, melyet (a bevezetésben tárgyaltaknak megfelelően) HISS mechanizmusnak nevezünk. Mivel a világban csak nagyon kevés kutató foglalkozik e kérdéssel ezt a megállapítást fontosnak tartjuk.

Nitroglicerín tapaszt nyulakon 6 órán keresztül alkalmazva jelentős inzulin érzékenység növekedés volt megfigyelhető (Bajza és mtsai. 2004), melyet hiperinzulinémiás, euglikémiás glükóz clamp módszerrel állapítottunk meg. A nitroglicerín kezelést 7 napon keresztül folyamatosan fenntartva inzulin érzékenység csökkenést tapasztaltunk. Így a haemodinamikai nitrát tolerancia kialakulásával párhuzamosan inzulin rezisztencia is kifejlődik, aminek jelentős klinikai vonzata lehet (1. ábra)



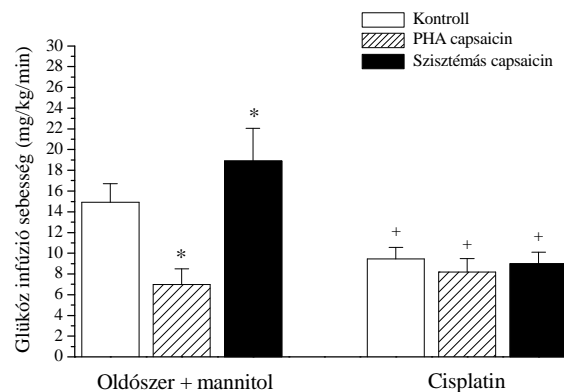
1. ábra: Transdermálisan adott nitroglicerín hatása az inzulin érzékenységre 6 órán át vagy 7 napon keresztül alkalmazva.

Idegvezetési sebesség változása cisplatin hatására: A 2. ábra mutatja, hogy az összetett akciós potenciálban a C rostok szignifikáns késést mutatnak a kontroll csoporthoz képest.



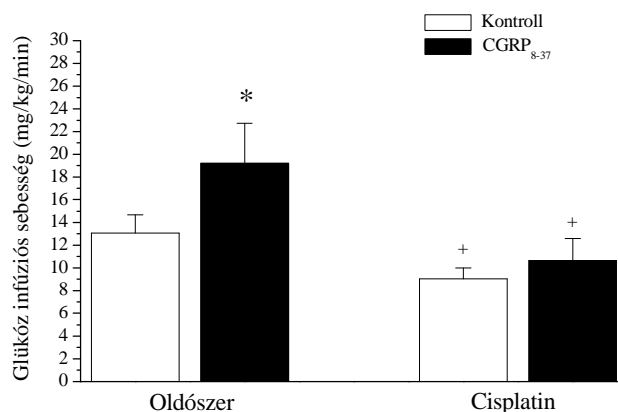
2. ábra: Vezetési sebesség csökkenés a C-rostokban cisplatin hatására. Csoportonként n=6. Átlag \pm S.D. * $p < 0,05$.

Inzulin érzékenységre gyakorolt hatások: Egészséges állatban a plexus hepaticus anterior capsaicinnel történt lokális pusztítását követően az inzulin érzékenység szignifikánsan csökkent, míg szisztémás capsaicin kezelés szignifikáns inzulin érzékenység növekedést eredményezett. A cisplatinnal előkezelt állatoknál már a kontroll csoport is szignifikáns inzulin rezisztenciát mutatott az egészséges állatokhoz képest, melyet sem a lokális, sem a szisztémás capsaicin kezelés érdemben nem befolyásolt (3. ábra).



3. ábra: Szisztémás és perineurális capsaicin kezelés hatása az inzulin érzékenységre cisplatin nélkül és annak jelenlétében. Csoportonként n=8. Átlag \pm S.D. * $p < 0,05$ vs kontroll; + $p < 0,05$ vs oldószer.

Az i.v. adott nem szelektív CGRP receptor antagonistá CGRP₈₋₃₇ (50 μ g/kg) szignifikánsan javította az inzulin érzékenységet egészséges állatokban, míg a cisplatinnal előkezelt állatok esetén változást nem okozott (4. ábra).



4. ábra: CGRP8-37 (50 μ g/kg i.v.) hatása az inzulin érzékenységre egészséges vagy cisplattinnal kezelt tengerimalacok esetén. Csoportonként n=8. Átlag \pm S.D. * $p < 0,05$ vs kontroll; + $p < 0,05$ vs oldószert.

Az intraportálisan adott L-NAME, capsaicin, atropin, acetilkolin hatása az inzulin érzékenységre: Az i.p.o. adott L-NAME csökkentette, míg capsaicin infúziója növelte az inzulin érzékenységet. Nem sikerült hatást kiváltani sem acetilkolinnal, sem atropinnal. Előzetes plexus hepaticus anterior érintő perineurális capsaicin kezelés mind az L-NAME, mind a capsaicin fent említett hatását megszüntette és inzulin rezisztencia fejlődött ki.

Kísérleteinkkel kimutattuk, hogy a plexus hepaticus anterior szenzoros rostjainak szelektív pusztításával inzulin rezisztencia jön létre. Szisztémás capsaicin kezelés azonban inzulin érzékenység növekedéshez vezet. Ennek hátterében valószínűsíthetően a testszerte lecsökkent CGRP szint állhat.

Atropinnal és acetilkolinnal nem sikerült befolyásolni a HISS mechanizmust, melyből arra következtetünk, hogy paraszimpatikus rostok a jelenség létrejöttében nem vesznek részt. A mechanizmus létrejöttében érző rostok játszanak szerepet, melyek nitrerg mechanizmusokat is involválhatnak. Ennek bizonyítéka, hogy L-NAME csökkentette, míg capsaicin növelte az inzulin érzékenységet. A szenzoros neuropátiát okozó cisplatin jelentős mértékű C-rost vezetési sebesség csökkenést hozott létre. A cisplatin ezen toxikus hatása inzulin rezisztencia kialakulásához vezet, melynek hátterében a HISS mechanizmus károsodása áll.

Kísérleteink eredményei egyes pontokon ellentmondanak a Lauth munkacsoport által megállapítottakkal, nevezetesen a HISS mechanizmusban szerepet játszó idegek, melyek a n. vagusban futnak véleményünk szerint szenzoros idegek és a mechanizmus egyik megjelenési formája a szenzoros neuronok effektor funkciójának, Szolcsányi professzor nomenklatúráját

használva szenzokrín funkciót tapasztalhatunk. Lutt és munkatársai azonban a paraszimpatikus rostok szerepét vélik bizonyítottak kísérleti eredményeik alapján.

HIVATKOZOTT IRODALOM:

Bajza A, Peitl B, Nemeth J, Porszasz R, Rablóczy G, Literati-Nagy P, Szilvassy J, Szilvassy Z. (2004). Development of insulin resistance by nitrate tolerance in conscious rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol.* 43, 471-476.

Koopmans, S.J., Leighton, B. & DeFronzo, R.A. (1998). Neonatal de-afferentation of capsaicin-sensitive sensory nerves increases in vivo insulin sensitivity in conscious adult rats. *Diabetologia*, 41, 813-820.

Pórszász, R., Legvári, G., Németh, J., Literáti, P.N., Szolcsányi, J. & Szilvássy, Z. (2002). The sensory nitregeric nature of the hepatic insulin sensitizing substance mechanism in conscious rabbits. *Eur. J. Pharmacol.*, 443, 211-212.

Pórszász, R., Legvári, G., Pataki, T., Szilvássy, J., Németh, J., Kovács, P., Paragh, G., Szolcsányi, J. & Szilvássy, Z. (2003). Hepatic insulin sensitizing substance: a novel "sensocrine" mechanism to increase insulin sensitivity in anaesthetized rats. *Br. J. Pharmacol.*, 139, 1171-1179.

Sadri, P. & Lutt, W.W. (1999). Blockade of hepatic nitric oxide synthase causes insulin resistance. *Am. J. Physiol.*, 277, G101-G108.

A PÁLYÁZATI IDŐSZAK ALATT MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Kongresszusi kivonatok:

- 1./ **Pórszász, R.**, Szilvássy, J., Pataki, T., Peitl, B., Szilvássy Z.: Neurogén inzulin rezisztencia tengerimalacok cisplatin indukálta neuropathiájában.
Magyar Diabetes Társaság XVII. kongresszusa. Tihany, 2004. április 22-25.
- 2./ Peitl B., **Pórszász R.**, Németh J., Kolonics A., Tory K., Szilvássy Z.: A HISS mechanizmus aktiválása neurális NOS induktorral.
Magyar Diabetes Társaság XVII. kongresszusa. Tihany, 2004. április 22-25.
- 3./ Szilvássy Z., Pankucsi Cs., **Pórszász R.**, Peitl B.: Alacsony dózisu isoszorbid mononitrát inzulin érzékenyítő hatása éber nyúlón.
Magyar Diabetes Társaság XVII. kongresszusa. Tihany, 2004. április 22-25.

Idézhető absztraktok:

- 1./ **Porszasz, R.**, Pataki, T., Szilvássy, J., Kark, T., Peitl, B., Szilvassy, Z.: The role of capsaicin-sensitive neurons in a novel mechanism of insulin sensitization.
Fundamental & Clin. Pharmacol. 18 Suppl. 1 (2004) 23–126. P15.24
- 2./ Bajza, Á., Peitl, B., **Pórszasz, R.**, Literáti-Nagy, P., Szilvássy, Z.: Interaction between nitrate tolerance and insulin sensitivity in conscious rabbits.
Fundamental & Clin. Pharmacol. 18 Suppl. 1 (2004) 23–126. P11.05
- 3./ Peitl, B., Tory, K., Kolonics, A., Döbrönte, **Pórszász, R.**, Szilvássy, Z.: New pharmacological approach of the treatment of type 2 diabetes. BGP-15, as a novel nNOS inductor.
Fundamental & Clin. Pharmacol. 18 Suppl. 1 (2004) 23–126. P07.09

Eredeti közlemények folyóiratban:

- 1./ Bajza, A., Peitl, B., Nemeth, J., **Porszasz, R.**, Rablóczy, G., Literati-Nagy, P., Szilvassy, J., Szilvassy, Z.: Development of insulin resistance by nitrate tolerance in conscious rabbits.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 43, 471-476, 2004. IF (2002):1.602
- 2./ Sari, R., Peitl, B., Kovacs, P., Lonovics, J., Palvolgyi, A., Hegyi, P., Nagy, I., Nemeth, J., Szilvassy Z., **Porszasz, R.**: Cyclic GMP-Mediated Activation of a Glibenclamide-Sensitive Mechanism in the Rabbit Sphincter of Oddi.
Digestive Diseases and Sciences, 49, 514-520, 2004. IF (2002): 1.438
- 3./ Peitl, B., Németh, J., Szolcsányi, J., Szilvássy, Z., **Pórszász, R.**: Sensory nitrergic meningeal vasodilatation and non-nitrergic plasma extravasation in anaesthetized rats.
European Journal of Pharmacology 197, 293-299, 2004. IF(2002):2.342
- 4./ Szilvassy, J., Sziklai, I., Sari, R., Nemeth, J., Peitl, B., **Porszasz, R.**, Lonovics, J., Szilvassy, Z.: Neurogenic insulin resistance in guinea-pigs with cisplatin-induced neuropathy. European Journal of Pharmacology 531, 217-225, 2006. IF(2002):2.342