

19 AZ ÖSZTRADIOL SZEREPE A TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL IONCSATORNÁK AKTIVÁCIÓJÁBAN TRIGEMINÁLIS GANGLIONSEJTEKEN ÉS IN VIVO ÁLLATMODELLEKBEN

Helyes Zs^{1,2,3}, Sággy É^{1,2}, Payrits M^{1,2}, Bíró-Sütő Tünde¹,
Krisztina Pohóczky^{1,2}, Kata Csekő^{1,2}, Kata Bölcskei^{1,2}, Dávid Ernszt^{2,4},
Klaudia Barabás^{2,5}, István Ábrahám^{2,5}, Szolcsányi J¹, Szőke É^{1,2,3}

Pécsi Tudományegyetem ¹ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet,
²Szentágotthai János Kutatóközpont, ⁴GYTK Gyógyszerészeti Biotechnológia
Tanszék, ⁵ÁOK Élettani Intézet;
³MTA-PTE Krónikus Fájdalom Kutatócsoport

A Transziens Receptor Potenciál (TRP) kation csatornák, mint a TRP Vanilloid 1 (TRPV1) fontos szerepet játszanak a fájdalom transzmissziójában. A TRPV1 termoszenzor molekula, melyet számos exogén (kapszaicin, reziniferatoxin (RTX)) és endogén kémiai ligand aktivál. Kapszaicin ismételt adása a receptor deszenzitizációját okozza, melyet az idegnövekedési faktor (NGF) a tirozin kináz A (TrkA) receptoron keresztül eltörölni képes. Klinikai és kísérletes vizsgálatok bizonyítják, hogy a nők nagyobb számban szenvednek krónikus fájdalommal járó betegségekben, mint a férfiak. Azonban az ösztrogén pronociceptív vagy antinociceptív hatásai ellentmondásosak az irodalomban. Célunk az ösztradiol hatásának vizsgálata a TRPV1 receptor aktivációjában trigeminális neuronokon és *in vivo* egér modellekben.

Mechanonociceptív küszöböt mértünk dinamikus plantáris eszteziométerrel valamint hőküszöböt emelkedő hőmérsékletű forró lap segítségével C57Bl/6 (vad) nőstény egerekben ösztroz és proösztroz fázisban, hímekben és ovariectomizált (OVX) nőstény egerekben, vagy TRPV1 génhiányos társaikban. Intracelluláris szabad kalciumszintet mértünk mikrofluorimetriával egér trigeminális érző neuronokon. 17- β -ösztradiol hatását vizsgáltuk a TRPV1 receptor expresszióra az érző neuronokon real-time PCR-al.

A mechanonociceptív küszöb és a hőküszöb is szignifikánsan alacsonyabb vad típusú proösztroz fázisban lévő egerekben (magas ösztrogén szintnél) mint ösztroz fázisban lévő társaikban vagy hímekben. TRPV1 génhiányos egerekben nem volt különbség a küszöbértékekben ösztroz és proösztroz között. 17- β -ösztradiol megnöveli a TRPV1 receptor expressziót az érző neuronokon. A kapszaicin hirtelen kalciumszint emelkedést okoz a neuronokban melyet deszenzitizáció követ. Egy éjszakás, de akár tíz perces 17- β -ösztradiol kezelés képes eltörölni a deszenzitizációt, hasonlóan mint az NGF. TrkA gátló AG879 használata után a deszenzitizáció visszatér. A 17- β -ösztradiol TRPV1-et szenzitizáló hatását *in vivo* is sikerült bizonyítani OVX és OVX+33 ng/g 17- β -ösztradiol visszapótoló állatokban. A mechanonociceptív küszöb jelentősen csökkent talpba adott reziniferatoxin után, mely szignifikánsan nagyobb volt az OVX+ 17- β -ösztradiol visszapótoló állatokban.

Összegezve tehát mind *in vitro* mind *in vivo* bizonyítottuk a 17- β -ösztradiol TRPV1-et stimuláló hatását, melyben a TrkA receptor szerepet játszik.

Támogatók: Richter Gedeon Tálcium Alapítvány és KTIA_NAP_13-2-2014-0022 MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport

20 AZ A-KETOGLUTARÁT-DEHIDROGENÁZ KOMPLEX DEFICIENCIÁK SZEREPE A SZABADGYÖK TERMELÉSBEN

Horváth Gergő¹, Ravasz Dóra², Kacsó Gergely², Sváb Gergely¹,
Chinopoulos Christos², Ádám Veronika¹, Tretter László¹

Semmelweis Egyetem, Orvosi Biokémiai Intézet, ¹MTA-SE Neurobiokémiai Kutatócsoport, ²MTA-SE Lendület Neurobiokémiai Munkacsoport

Az α -ketoglutarát-dehidrogenáz komplex (KGDHC) a citrát-kör irreverzibilis, sebességmeghatározó enzime. A metabolikus funkcion kívül fontos szerepet játszik a mitokondriális reaktív oxigén származékok (ROS) termelésben. Az KGDHC három alegységből (E_1 , E_2 , E_3) épül fel, melyek katalitikus aktivitása szerteágazóan vizsgált, ellenben az egyes alegységek szerepe a ROS képzésben kevésbé ismert. Kísérleteinkben a különböző alegységek ROS termelésben betöltött szerepét vizsgáltuk.

Kísérleteinket E_2 , E_3 , és $E_{2,3}$ részlegesen génkiütött KGDHC deficiens egereken végeztük. A mérésekhez vad típusú, E_2 , E_3 illetve $E_{2,3}$ heterozigóta KO egerek agyából izoláltunk mitokondriumokat. A mitokondriális H_2O_2 termelést Amplex UltraRed fluoreszcens festékkel mértük. A mitokondriális respirációt különböző légzési szubsztrátok mellett Clark-elektroddal detektáltuk.

Az oxigénfogyasztásból nyert eredményeink alapján az α -ketoglutaráttal a komplex deficiens mitokondriumok esetében szignifikánsan csökkent respirációt tapasztaltunk. A legnagyobb különbséget az ADP stimulált légzésben az $E_{2,3}$ deficiens (59,7% $\pm$ 4,4%) és vad típusú mitokondriumok (100% $\pm$ 5,5%) között mértük. Szukcinát és α -glicerofoszfát légzési szubsztrát esetében nem tapasztaltunk eltérést a génkiütött és kontroll állatok mitokondriumai között.

Az KGDHC deficiens egerekben csökkent mitokondriális H_2O_2 termelés mértünk α -ketoglutarát jelenlétében. A legnagyobb különbséget a ROS termelésben az E_3 (131 $\pm$ 4,9 pmol/min/mg) illetve $E_{2,3}$ (130 $\pm$ 6,1 pmol/min/mg) KO állatokban tapasztaltuk a kontrollhoz (164 $\pm$ 6 pmol/min/mg) képest. Szukcinát és α -glicerofoszfát szubsztrát esetében az E_3 deficiens mitokondriumban mértünk csökkent H_2O_2 keletkezést.

Az alegységek kiütése csökkentette az KGDHC aktivitását, ami csökkent ROS termeléssel párosult. A komplex E_3 alegysége nagyobb szerepet tölt be H_2O_2 termelésben, mint az E_2 .

Támogatók: OTKA (NK 81983), TÁMOP (4.2.2./B-09/1), MTA (MTA TKI 2013), Nemzeti Agykutató Program (KTIA_13_NAP-A-III/6)