

Az endothelium-függő vazodilatáció gátlása hozzájárul a szfingozin-1-foszfát vazokonstriktiót fokozó hatásához

Móré Dorottya SE ÁOK IV.
moredoro@gmail.com

Bevezetés: A szfingozin-1-foszfát (S1P) az S1P₁₋₅ G-protein kapcsolt receptorokon hatva fontos szerepet játszik különböző érrendszeri funkciókban, mint az érfejlődés és az érpermeabilitás szabályozása. Korábbi kísérleteinkben azt találtuk, hogy az S1P tartósan fokozza az érsimaizom depolarizációval kiváltott kontrakciós válaszait, amely hatást az S1P₂ receptor közvetíti. Jelen munkánkban e potenciózó mechanizmusnak a további részleteit vizsgáltuk.

Módszerek: Felnőtt hím egerekből izolált thoracalis aorta szegmentek tónusát mértük izometriás körülmények között miográf segítségével. Az első kísérletsorozatban kis dózisu (20 mM) K⁺-nal 10 percenként kontraháltuk az ereket, majd mikor a kontrakciók nagysága stabilizálódott, 20 percig inkubáltunk 10 µM S1P-vel (vagy vehikulával). Az S1P kimosását követő további 3 órán keresztül figyeltük a kontrakciók változását. Kísérleteinket elvégeztük felnőtt hím vad típusú (WT), Gα_{12/13}-deficiens (12/13-KO), illetve endothelialis-NO-szintáz-deficiens (eNOS-KO) egerek erein, valamint a Rho-kináz gátlása (1 µM Y-27632) mellett is. A második kísérletsorozatban 10 µM S1P-vel való inkubálás előtt, a 20 perces inkubálás végén, illetve a kimosást követő második és harmadik órában vizsgáltuk az erek acetilkolinra adott válaszát az eNOS-függő vazodilatáció vizsgálatára.

Eredmények: Korábbi eredményeinknek megfelelően a WT egerek erein az S1P-vel való inkubálás hatására mintegy 50%-kal fokozódott a K⁺-okozta vazokonstriktió, és ez a potenciózó hatás az S1P kimosása után 3 órával is fennmaradt. A 12/13-KO erekben, illetve Y-27632 kezelés hatására az S1P adása utáni első órában jelentősen lecsökkent, azonban ezt követően kialakult a potenciózódás. Ennek éppen az ellenkezőjét tapasztaltuk eNOS-KO állatokból származó ereken: az S1P-okozta kezdeti potenciózó hatás változatlan maradt, azonban az S1P beadása utáni 180. percre eltűnt. Az S1P az acetilkolin dózis-hatás görbéjét 20 perc inkubálás után nem, de a kimosás utáni második illetve harmadik órában szignifikánsan jobbra tolta.

Következtetések: Az S1P S1P₂ receptorok által közvetített módon potenciózza a depolarizáció hatására kialakuló vazokonstriktiót. Az S1P potenciózó hatása legalább 180 percig fennmarad és két független mechanizmus közvetíti: korai szakaszában a simaizom Gα_{12/13} – Rho-kináz jelátviteli útvonalán keresztül valósul meg, míg később az eNOS gátlása okozza.

Ruisanchez É., Dancs P., Móré D., Offermanns S., Benyó Z.: Sphingosine-1-phosphate permanently enhances the contractile responsiveness of vascular smooth muscle via the S1P₂ receptor – G_{12/13} – Rho-kinase signaling pathway. Sphingolipid Club 2013 Meeting, www.sphingolipidclub.com/component/content/archive.html?year=2013&month=6

Újdonság az eNOS-közvetített vazodilatációnak az S1P-inkubáció utáni romlása, mely eredményeink szerint döntő tényező a vazokonstriktor érválaszok késői potenciózódásában.

Témavezető(k): Dr. Benyó Zoltán egyetemi tanár, Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet, Dr. Ruisanchez Éva egyetemi tanársegéd, Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet

Az LPA- és a thromboxán-receptorok szerepe a lizofoszfatsav okozta vazokonstriktióban

Dancs Péter Tibor SE ÁOK V.,
Panta Cecília Rita SE ÁOK III.
peti.dancs@gmail.com, sokszem@gmail.com

Bevezetés. Korábbi kísérleteink során lizofoszfatsav (LPA) vazorelaxációs hatását és ennek jelátviteli mechanizmusait vizsgáltuk. Azt tapasztaltuk, hogy míg a vazorelaxáció jelenléte ép endotheliumhoz kötött, addig sérült endothel esetén az LPA vazokonstriktiót okoz. Jelen kísérleteinkben e vazokonstriktió mechanizmusát vizsgáltuk.

Anyagok és módszerek. Felnőtt hím C57Bl/6J (WT), endothelialis NO szintáz deficiens (eNOS-KO) és thromboxán-receptor knock-out (TP-KO) egerekből izolált thoracalis aorta szegmentek válaszait vizsgáltuk izometriás körülmények között miográfon. Az erek egy részében az endotheliumot mechanikus úton eltávolítottuk. Kísérleteinket 10 µM 1-oleoyl-LPA-val, valamint az LPA₁₋₃ receptor agonista VPC31143-mal (10 µM) végeztük. A jelátviteli út vizsgálatára kísérleteinket megismételtük az LPA₁/LPA₃ receptor antagonistá Ki16425 (10 µM) és a ciklooxygenáz (COX) gátló indomethacin (1 µM) jelenlétében. A kontrakciós válaszokat a 124 mM K⁺-nal kiváltott referencia-kontrakció százalékában (átlag±SEM) határoztuk meg és p<0,05 esetén tekintettünk egy különbséget szignifikánsnak.

Eredmények. Az LPA eNOS-KO erekben 13,1±1,8%-os (n=43) kontrakciót okozott. E hatás hasonló volt endothel-irtott WT erek esetében (12,1±3,1%, n=38). VPC31143 hatására eNOS-KO erekben 26,6±2,3%-os (n=33), de-endothelizált WT erekben pedig 20,2±3%-os (n=19) kontrakciót tapasztaltunk. A jelátviteli útvonalak gátlását a VPC31143-okozta kontrakcióra vizsgáltuk endothel-irtott WT erekben. A kontrakció gátlható volt Ki16425-tel (4,7±1,6%, n=6). Meglepő módon a kontrakciót szintén gátolta az indomethacin kezelés (5,1±1,8%, n=7) és hiányzott TP-KO egerek ereiben (2,3±1,3%, n=10).

Következtetések. Az LPA az endothel sérülése esetén – clentében az ép endothel mellett tapasztaltakkal – vazokonstriktiót okoz. E hatást az LPA₁ és/vagy LPA₃ receptor közvetíti. A folyamat további részeként COX-aktivációt és következményes thromboxán A₂ (TXA₂) felszabadulást feltételezünk, mely TP-receptoron hatva az erek kontrakcióját idézi elő. A folyamatnak kórélettani jelentősége az lehet, hogy endothel-sérüléskor az aktiválódó vérlemezkék által nagy mennyiségben termelt LPA az érsimaizomra hatva TXA₂-t szabadít fel, így elősegíti az érsérülés után létrejövő vazokonstriktiót, másrészt a TXA₂ serkenti a thrombus további propagációját, addig, amíg az ép endothellel fedett érszakszhoz nem ér.

Ruisanchez É., Dancs P., Kerék M. et al. (2014) Lysophosphatidic acid induces vasodilation mediated by LPA₁ receptors, phospholipase C, and endothelial nitric oxide synthase. FASEB J 28 (2) P:880-890.

A korábbi publikáció az LPA által ép endothelium mellett kiváltott vazorelaxáció jelenségét és jelátviteli folyamatait írta le, míg a jelen munka az endothelium-sérülést követően megfigyelhető vazokonstriktor hatás mechanizmusát vizsgálta.

Témavezető(k): Dr. Benyó Zoltán egyetemi tanár, Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet, Dr. Ruisanchez Éva egyetemi tanársegéd, Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet