

A szfingozin-1-foszfát vazokonstriktor hatásának vizsgálata hiperkalémiás körülmények között

Móré Dorottya SE ÁOK V.

Panta Cecília Rita SE ÁOK III.

moredoro@gmail.com, sokszem@gmail.com

Bevezetés: A szfingozin-1-foszfát (S1P) egy bioaktív lizofosfolipid, mely az S1P₁₋₅ G-protein kapcsolt receptorokon hatva szerepet játszik különböző érrendszeri funkciók, például az érfejlődés és az érpermeabilitás szabályozásában. Az értónusra kifejtett hatásait illetően nem egybehangzóak az irodalmi adatok. Kísérleteinkkel az S1P érsimaizomra kifejtett közvetlen hatását, és az ebben szereplő jelátviteli útvonalat vizsgáltuk.

Módszerek: Felnőtt hím egerekből izolált, endothelium-irtott mellkasi aortaszegmentek tónusát mértük izometriás körülmények között, miográf segítségével. Fiziológiás (4 mM), illetve a simaizom reaktivitását a sejtmembrán depolarizálása által fokozó K⁺-koncentrációjú (6, 8, 10, 20, 40, 80 mM) Krebs oldattal történő 10 perces inkubálás után megvizsgáltuk a 10 µM S1P hatására létrejövő értónus változást. Az S1P jelátvitelének vizsgálatakor vad típusú (WT) egerek mellett S1P₂- és S1P₃-receptor knock out (KO) egerekből, valamint a heterotrimer G-fehérjék α₁₂ és α₁₃ alegységeit nem kifejező Gα_{12/13}-KO állatokból preparált ereket is vizsgáltunk.

Eredmények: Az S1P fiziológiás extracelluláris K⁺-koncentráció mellett csak minimális hatást fejtett ki az értónusra. Kissé emelkedett K⁺-koncentráció (6–10 mM) mellett a K⁺-nak önmagában még nem volt hatása az értónusra, az S1P azonban jelentős vazokonstriktort okozott, ami a K⁺-koncentráció emelésével arányosan növekedett. Magasabb K⁺-koncentrációknál (20–80 mM) a K⁺-nak önmagában is volt konstriktor hatása, aminek a növekedésével az S1P hatása lecsökkent.

A jelátviteli utak vizsgálatakor 8 mM K⁺-mal kezeltünk elő, mely önmagában még nem okoz érösszehúzódást, és körélettani körülmények között előfordulhat a szervezetben. Az S1P vazokonstriktor hatása megszűnt S1P₂-KO és Gα_{12/13}-KO erekben, míg S1P₃-receptor hiányában megmaradt. WT egerekből származó ereken a Rho-kináz gátló Y-27632 (10 µM) lecsökkentette az S1P konstriktor hatását.

Következtetések: Az S1P jelentős tónusfokozó hatást vált ki az izolált egér aortában már közepesen magas K⁺-koncentráció esetén is. Ezen hatás hátterében az S1P₂-receptor, a Gα_{12/13} fehérje, valamint a Rho-kináz aktivációja áll. A jelenségnek szerepe lehet patológiás értónusfokozódás kialakításában olyan kórállapotokban, ahol szisztémás (hiperkalémia) vagy lokális folyamatok (pl. tumorszétetés, infarktusz) miatt az érsimaizom emelkedett K⁺-koncentrációnak van kitéve.

Támogatás: OTKA K-101775

Ebben a témában a munkacsoportnak nincs korábbi publikációja.

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

AmBisome által kiváltott, komplement által közvetített pseudoallergiás reakció (CARPA) vizsgálata in vivo patkány modellen

Órfi Erik SE GYTK V.

rickrster@gmail.com

A CARPA olyan hiperszenzitív reakció, melyet liposzómás, illetve más nanogyógyszerek alkalmazása válthat ki. A CARPA kialakulását a kardiopulmonális és hematológiai paraméterek megváltozása, valamint komplement aktiváció jellemzi. Ezek a válaszok gyakran igen súlyosak, ezzel korlátozva a fenti szerek klinikai alkalmazhatóságát.

A CARPA hatásait a laboratóriumunkban kifejlesztett in vivo patkány modellen teszteltük. Különböző időpontokban regisztráltuk a szisztémás artériás vérnyomás (SAP) és a szívfrekvencia (HR) változásait. Ezen kívül vérmintákat vettünk, melyekben vizsgáltuk a hematológiai paraméterek (fehérvérsejt ill. trombocita szám) alakulását, valamint tromboxán B2 (TXB2) plazma szinteket mértünk. A szérumban komplement (C) aktivitást C hemolitikus assay (CH50) segítségével határoztuk meg. A CARPA reakciót kiváltó anyagokat intravénásan adagoltuk. Pozitív kontrollként a komplement rendszert közvetlenül aktiváló zymosan, liposzómás nanogyógyszerként AmBisome bolus injekciókat adtunk.

Zymosan (10 mg/kg iv.) injekció hatására SAP a kiindulási 126 ± 15 Hgmm értékről (mean ± SD) szignifikánsan csökkent. A maximális csökkenést (64 %) a beadást követő 10. percben tapasztaltuk. A HR nem változott jelentősen. Zymosan hatására a vizsgált időszakban szignifikáns leukopéniát találtunk, mely a 30. percre a kiindulási értékre visszaállt, a trombocita szám csökkenése kisebb mértékű, de hasonló lefutású volt. A TXB2 szintje az 1-5. percben szignifikánsan, kb. 3-4-szeresére nőtt, majd a kísérlet végére az eredeti értékre tért vissza. A CH50 értéke folyamatosan, a 30. percre a kontroll 40 %-ára csökkent. AmBisome CARPA hatásait kétféle dózisban teszteltük, melyet a liposzóma foszfolipid (PL) tartalmára adtunk meg. AmBisome (2,2 mg PL/kg) minden vizsgált paraméter esetén a zymosanhhoz hasonló, de jóval kisebb hatásokat fejtett ki. Tízszer nagyobb dózissal (AmBisome 22 mg PL/kg) alkalmazása azonban a zymosanhhoz hasonló nagyságrendű változásokat eredményezett.

Eredményeinket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy: 1. patkány modellünk a CARPA tanulmányozására jól alkalmazható; 2. zymosan a humán reakciókhoz hasonló hemodinamikai és hematológiai változásokat vált ki; 3. AmBisome bár relatíve magas dózisban, de képes a CARPA folyamatainak beindítására; 4. CARPA tüneteinek létrejöttében a komplement aktiváció és a tromboxán szint emelkedés egyaránt szerepet játszik.

Dézi L. et al. Features of complement activation-related pseudoallergy to liposomes with different surface charge and PEGylation: Comparison of the porcine and rat responses. JCR 195, 2-10, 2014.

A fenti közleményben társszerző vagyok, a patkányon végzett munkákban aktívan közreműködtem. A patkánymodell kidolgozása és tesztelése jelentősen meghaladja a munkacsoport (vez: Szebeni J.) által jegyzett korábbi közleményekben foglaltakat, melyeket más (pl. malac) modelleken végeztek.

Témavezető(k): Dr. Dézi László egyetemi magántanár, Kórélettani Intézet, Nanomedicina Kutató és Oktató Központ