

Enhanced hydrogen sulphide mediated vasorelaxation in aged mice with type 2 diabetes

Dybvig Ane SE EM V.

Beliczai-Marosi Gabriella SE ÁOK V.

ane_dybvig@hotmail.com, gmarosi.tfg@gmail.com

Introduction. Cardiovascular disease (CVD) is the number one cause of death worldwide, and aging is the single largest risk factor for CVD. Diabetes is a highly prevalent disease as well as a known risk factor for developing CVD. The incidence rate of people developing diabetes type 2 is rising, and the average life expectancy in the developed world is increasing. The vascular changes associated with aging and diabetes are related to endothelial dysfunction and altered smooth muscle regulation. Hydrogen sulphide was shown to have many cardiovascular protective properties and it can induce vasorelaxation. The aim of our study was to investigate the vascular response to hydrogen sulphide in vessels of aged mice with and without diabetes type 2.

Method. The mice were of female C57BLKS/J background and Dock7m/Leprdb genetic modification. From each mouse 6 thoracic aorta segments of 3 mm each were isolated and mounted on the wires of the myograph. We studied the vascular responses to phenylephrine (10-8-10-5 M), acetylcholine (10-9-10-5 M), the hydrogen sulphide donor NaHS (10-1000 microM) and the nitric oxide (NO) donor sodium-nitroprusside (SNP; 10-10-10-5 M).

Results. In a wide range of concentrations vasorelaxation induced by acetylcholine and SNP was decreased in segments from diabetic animals (ACh 3×10^{-8} – 10^{-5} M, $p < 0.001$; SNP 10^{-9} – 3×10^{-8} M; $p < 0.001$ vs control, $n=4-6$) and the vasorelaxant response to NaHS was enhanced at 100 microM in the diabetic group ($36.5 \pm 20.4\%$ vs $73.0 \pm 11.8\%$; $p < 0.001$ vs control, $n=4-6$).

Conclusion. Diabetic endothelial dysfunction is thought to be related to decreased NO-release, however the decreased response to SNP suggests impaired NO-derived smooth muscle relaxant capacity in old diabetic vessels. Our observations indicate also that diabetic vessels are more sensitive to hydrogen sulphide mediated vasorelaxation. According to the literature, diabetic tissues have increased phosphodiesterase activity, which enzyme inhibited by hydrogen sulphide. Thus, the mechanism of action behind our results might be related to enhanced inhibitory effect of hydrogen sulphide on the phosphodiesterase activity thereby leading to greater relaxation in vessels derived from diabetic animals.

Support: OTKA K-112964, OTKA K-115607 and BO/00470/14 Bolyai Fellowship

Gender differences in the vasorelaxant effect of hydrogen sulphide in type 2 diabetes; Korányi Scientific Forum and TDK, 2016

The role of hydrogen sulfide in ENHANCED Sphingomyelinase induced vasorelaxation in db/db mice; 3rd European Conference on the Biology of Hydrogen Sulfide, Athens, (Greece), 3rd–6th May 2015

While the earlier presentations were focusing on data derived from male and female young animals the current work summarizes the results of old animals.

Témavezető(k): Levente Kiss egyetemi adjunktus, Élettani Intézet, Éva Ruisanchez egyetemi tanársegéd Department of Clinical Experimental Research

A TREK alcsaládba tartozó háttér káliumcsatornák heterodimerizációjának vizsgálata eltérő farmakológiai tulajdonságai alapján

Bozsaki Péter SE ÁOK IV.

bozsakipeti@gmail.com

A TREK-1 (TWIK-related K⁺ channel), TREK-2 és a TRAAK (TWIK-related arachidonic acid-activated K⁺ channel) a K2P háttér káliumcsatornák közé tartoznak. Jelenlétük szerepet töltenek be a sejtek nyugalmi potenciáljának és ingerlékenységének szabályozásában. Expressziós mintázatauk több szövetben is átfed, pl. a primer szomatoszenzoros neuronokban. Hasonlóan termo- és mechanoszenzitívek és az arachidonsav egyaránt aktiválja őket, azonban számos farmakológiai és regulációs tulajdonságukban eltérnek. Ezek az eltérések a csatornák elkülönítése szempontjából is lényegesek. A TREK-1-et gátolja egy endogén peptid, a spadin. A TREK-2 és a TRAAK gátlószere egy polikationos festék, a ruténium vörös. A TREK-1 és TREK-2 emellett a protein kináz A és C célpontja. A háttér káliumcsatornák általában homodimerként működnek, azonban nemrég leírtuk, hogy a TREK-1 és TREK-2 alegységek heterodimerként képeznek. Azóta ismertté vált, hogy a lehetséges kombinációk számát tovább növeli a TREK-1/TRAAK és TREK-2/TRAAK heterodimerizáció. Arra kerestük a választ, hogy vannak-e olyan farmakológiai módszerek, melyekkel azonosíthatók ezek a heterodimerizációk.

A csatornákat kódoló plazmidokat linearizáltuk, majd in vitro cRNS-t szintetizáltunk. A cRNS-t *Xenopus laevis* petesejtbe injektáltunk, az expresszált csatornák áramát két elektródos voltage clamp módszerrel mértük. A vizsgálatokhoz modelleztük a heterodimer csatornákat úgy, hogy két különböző alegységet egy fehérjeláncra fűztünk össze PCR technika segítségével. Ehhez az első alegységből a stop, a másodiktól pedig a start kodont hagytuk el.

Spadin érzékenységet a TREK-1-nél és a TREK-2 alegységet tartalmazó csatornáknál láttunk. A spadinra érzékeny csatornákat a ruténium vörösre adott válaszuk alapján tovább osztályoztuk: a TREK-1/TREK-2-t és a TREK-1/TRAAK-ot eltérő mértékben gátolta, a TREK-2-et viszont nem befolyásolta a polikationos festék. A spadinra nem reagáló csatornákat a pH érzékenységük alapján tudtuk elkülöníteni: a pH csökkentése a TREK-2-t aktiválta, a TRAAK-ot gátolta, a TREK-1/TRAAK-ot pedig nem befolyásolta.

Eredményeink alapján felállítottunk egy olyan farmakológiai protokollt, amivel a különböző TREK csatornák elkülöníthetők egymástól. Módszerünk segítségével a továbbiakban tervezzük a csatornák kimutatását natív sejtekben, valamint a heterodimerizáció receptor-függő szabályozásának vizsgálatát.

Lengyel M, Cziráj G, Enyedi P (2016). Formation of Functional Heterodimers by TREK-1 and TREK-2 Two-pore Domain Potassium Channel Subunits. *J Biol Chem* 291: 13649-13661.

A fenti közlemény a TREK-1 és TREK-2 alegységek heterodimerizációját írja le. A TREK-1/TRAAK és TREK-2/TRAAK heterodimer jellemzése, valamint az azonosításukra használható protokoll még nem készült eredmény.

Témavezető(k): Dr. Cziráj Gábor egyetemi docens, Élettani Intézet, Dr. Lengyel Miklós PhD hallgató Élettani Intézet