

EGYETEMI DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**„PURINERG” IDEGEK SZEREPE A BÉL
BEIDEGZÉSÉBEN**

Dr. Undi Sarolta

Gyógyszertudományok Doktori Iskola
Vezetője: Dr. Barthó Loránd, egyetemi tanár

Program: Vegetatív és szenzoros idegek zsigeri működése és
farmakológiája

Program- és témavezető: Dr. Barthó Loránd, egyetemi tanár

Pécsi Tudományegyetem,
Általános Orvostudományi Kar
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Pécs

2008

ÁLTALÁNOS BEVEZETÉS

A XX. század elején J.N. Langley ismerte fel, hogy a gyomor-bélrendszer ganglionjai, amelyeket milliós nagyságrendű idegsejt alkot, a központi idegrendszerrel független, integratív működésre képes idegi rendszert képeznek. Ma már elfogadott tény, hogy az enterális idegrendszer (enteric nervous system, ENS) a szimpatikus és paraszimpatikus idegrendszer mellett a vegetatív idegrendszer harmadik tagja. Az ENS számos idegi pályával és reflexívvel szabályozza a gasztrointesztinális traktus (GIT) motoros működését, a helyi véráramlást (vazomotor reflexek), a nyálkahártya transzportfolyamatait, valamint modulálja az immun- és endokrin-funkciókat. Az ENS intrinszik idegeinek számát tekintve a gerincvelő neuronállományához hasonlítható. Sok bizonyított és feltételezett neurotranszmitter van jelen az ENS-ben (pl. acetil-kolin, nitrogén-monoxid (NO), adenzin-5'-trifoszfát (ATP), vazoaktív intesztinális polipeptid (VIP), hipofízis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid (PACAP), kalcitonin gén-rokon peptid (CGRP), kolekisztokinin oktapeptid (CCK-8), szén-monoxid (CO), tachykininek, stb). Számos transzmitter a bél és a központi idegrendszer neuronjaiban egyaránt előfordul. Az ENS a központi idegrendszerrel függetlenül is képes a bélműködés vezérlésére, a bélhuzam teljes extrinszik idegellátásának kiesése során a funkciók meglepően kevésbé károsodnak (ez nem vonatkozik a gyomor-bélhuzam legproximálisabb és legdisztálisabb szakaszaira).

Az ENS intrinszik neuronjai a bél falban két fő, ganglionokat tartalmazó idegi plexust alkotnak: a plexus myentericus és submucosus. Ganglion nélküli ideghálózatok a GIT összes rétegét beidegzik, aminek köszönhetően egy összefüggő, komplex ideghálózat van jelen a tápcsatornában. Az *intrinszik primer afferens* (feszülésérzékeny) *neuronok* képezik az intrinszik enterális reflexívek első neuronjait. Szinapsziseket alkotnak interneuronokkal, motoneuronokkal, továbbá ingerelhetnek más intrinszik primer afferenseket is. Az enterális idegsejtek túlnyomó része leszálló vagy felszálló *interneuron*, mely a szenzoros és az effektor neuron közti, többnyire többneuronos kapcsolatot biztosítja. Az *effektorneuronok* végződhetnek a körkörös illetve hosszanti simaizomsejten (motoneuron), az erek falában lévő simaizomsejteken (vazomotor neuron), a mukozális mirigyeken (szekretomotor neuron), valamint a pacemaker sejteken. A motoneuronok lehetnek izgatók és gátlók (pl. simaizomkontrakció, ill. – elemnyedés). A „ko-transzmisszió” jelensége alapján az ENS-ben ingerület hatására a neuronok többségéből egyszerre többféle neurotranszmitter és modulátor is felszabadulhat.

Habár az ENS képes a központi idegrendszerrel függetlenül is működni, a GIT idegi szabályozásában külső (extrinszik) idegek is részt vesznek. Szimpatikus posztganglionáris noradrenerg neuronok idegzik be a sphinctereket, ahol α_1 receptorokon hatva kontrakciót okoznak, hozzájárulva ezen simaizomgyűrűk magas tónusához. A bél fal arterioláinak innervációját is szimpatikus posztganglionáris neuronok látják el, ahol a noradrenalin mellett az ATP mint kotranszmitter szabadul fel érösszehúzódat okozva.

A GIT beidegzésében extrinszik *afferensek* is részt vesznek. A gerincvelői szenzoros neuronok különlegessége, hogy a periférián, így a gyomor-bélrendszerben is transzmitterek szabadulnak fel belőlük és ezáltal „lokális efferens” funkciót betöltve szerepet játszanak a zsigeri szervek működésében. Ezek az érző neuronok ingerelhetők kapszaicinnal, a csípős paprika szenzoros izgató anyagával. A módosított Dale-elv alapján valószínűleg ugyanazon transzmitter-kombináció szabadul fel a neuronok perifériás és centrális idegvégződéseiből. Ezért a bél extrinszik afferens idegeinek nyulványáiból kiszabaduló transzmitterek azonosak a bélben és a gerincvelőben.

In vitro bélpreparátum intramuralis idegeinek elektromos téringlerlése a muszkarinreceptor antagonistá atropin és az adrenerg neuronblokkoló guanetidín jelenlétében nem-adrenerg, nem-kolinerg (NANC) válaszokat eredményez, amelyek izgató vagy gátló jellegűek lehetnek. A válaszokat létrehozó anyagok a NANC neurotranszmitterek. Az izgató motoneuronok legjelentősebb transzmittere a muszkarinreceptorokon ható *acetil-kolin*. A muszkarinreceptorok blokkolása után is marad a válaszokban további izgató komponens, amelyért főként *tachykininek* (P-anyag, neurokinin A) tehetők felelőssé. Intenzív kutatás folyik a neurotenszin, galanin, endothelinek, bombezin-szerű peptidek, „vasoactive intestinalis contractor”, kolekisztokinin transzmitter-jelöltek neuroeffektor szerepének bizonyítására vonatkozóan. A NANC relaxációért „nitroerg”, „purinerg” és „peptiderg” neuronokat tartanak felelősnek. Az enterális gátló neuronok legfontosabb transzmittere a NO, de bizonyítékok vannak még ATP, VIP, PACAP, CGRP, neuropeptid Y, pankreatikus polipeptid és CO transzmitter szerepére is. Bizonyos transzmitter-jelöltek mind gátló, mind izgató hatást ki tudnak fejteni (pl. endothelinek). Kísérletssorozatunkban a **bélhuzam „purinerg”** beidegzésének vizsgálatát, részletesebb feltérképezését tűztük ki célul.

Az ATP életműködésben betöltött szerepei közül jól ismert, hogy az élő sejtek intracelluláris energiaforrásként kiemelkedő szerepe van az anyagcsere-folyamatokban, továbbá az is régóta tudott, hogy nukleinsav-prekürzorként részt vesz a genetikai anyag felépítésében. Szent-Györgyi és Drury szív- és érrendszeri kísérleteikben írták le elsőként az addig kizárólag intracelluláris energiaforrásként ismert ATP extracelluláris hatásait. Az ATP-t felszabadító idegek „purinerg” elnevezése Burnstock nevéhez fűződik (Burnstock, 1972). Azóta számos közlemény igazolta, hogy az ATP, az adenzin és más purin nukleotidok, nukleozidok neurotranszmitterként, ko-transzmitterként illetve neuromodulátorként fontos szerepet játszanak a GIT működésének szabályozásában. Az ATP periférián betöltött funkciójának megismerése mellett kutatás folyik az ATP központi idegrendszeri hatásainak felderítésére is. Az ATP ko-transzmitter a vegetatív neuronokban, szerepet játszhat a nocicepcióban, visceralis fájdalom közvetítésében. Patológias viszonyok között és az életkor előrehaladtával nagyobb arányban vesznek részt „purinerg” idegek a szabályozó mechanizmusokban. Az ATP és rokon vegyületei purinoceptorokon (purinreceptorokon) keresztül fejtik ki hatásaikat. A purin-nukleotidokra szelektív P₂ purinoceptorok felosztása alapján a P_{2X} ligandvezérelt kationcsatorna receptorokat, valamint a P_{2Y} G-protein-kapcsolt receptorokat különböztetjük meg. A „purinerg” neurotranszmisszió vizsgálatára használják az ATP metabolikusan stabil analógjait is, pl. α,β -metilénATP-t (α,β -meATP), melyek azonban az ATP-től valamelyest eltérő receptorspektrummal rendelkeznek. Léteznek receptor-altípus szelektív agonisták is, pl. β,γ -metilénATP (a P_{2X}₁ receptorra), ADP β S (a P_{2Y}₁ receptorra).

A „purinerg” neurotranszmisszió azonosítására többféle eszköz áll rendelkezésre, amelyek közül hárommal foglalkozunk: 1. A metabolikusan stabil agonistákkal, pl. az α,β -meATP-vel kiváltott deszenzibilizáció. 2. Gátlás *antagonistákkal*. A „purinerg” idegek részvételének kimutatásához vagy elvetéséhez egy NANC válaszban nincs szükség receptor-altípus-specifikus antagonistákra, csak purinoceptor-, illetve P₂ purinoceptor-specifikus anyagokra. Valószínűleg a felszabaduló ATP is számos receptor-altípuson hat egyidőben, ha jelen vannak ezek a receptorok a célsejteken. 3. Gátlás *apaminnal*. A méhméregből izolált polipeptid gátló hatást fejt ki a kis-konduktanciájú (Ca²⁺-vezérelt) K⁺-csatornákra, melyek az ATP simaizomrelaxáló hatását nagyrészt közvetítik. Az utóbbi időben azonban kimutatták, hogy az ATP-n kívül számos más relaxáló anyag is apamin-érzékeny válaszokat képes kiváltani. Tehát

egy apamin-érzékeny NANC relaxációban ATP valószínűleg nem játszik szerepet, azonban egy apamin-érzékeny válasz nem feltétlenül „purinerg”.

Az ENS-ben az ATP-nek három fő szerepe ismert: 1. enterális motoneuronokból felszabadulva *gátló neurotranszmitterként* simaizom P_{2Y} receptorokon fejt ki hatást; 2. enterális interneuronok, továbbá interneuron és motoneuronok között *izgató ingerületátvivő anyag*; 3. *szenzoros mediátorként* intrinszik érzőidegvégződéseken fejt ki hatást. Ismert, hogy az ATP GI simaizomzaton izgató és gátló válaszok közvetítésében egyaránt szerepet játszik; az elektromos ingerléssel kiváltott apamin-érzékeny inhibitoros junkciós potenciál (IJP) és relaxáció fő mediátorának az ATP-t tartják. Az ENS-ben bizonyítottnak tekinthető az ATP és a NO ko-transzmitter szerepe. Smits és Lefebvre kimutatták, hogy ATP deszenzibilizáció csökkenti a NANC elernyedést patkány ileumon. Munkacsoportunk antagonisták alkalmazásával bizonyította, hogy ATP és NO együtt felelősek a NANC relaxációért tengerimalac coecum taenián illetve patkány ileum hosszanti izomzat-plexus myentericus preparátumon (Barthó és mtsai 1998; Benkó és mtsai, 2006).

Ma már számos élettani, kórélettani folyamatban bizonyítva van a purin, pirimidin jelátvivő molekulák szerepe. Kórformák során a purinoceptor expresszió plaszticitásának eredményeként a „purinerg” komponens aránya jelentősen megemelkedik a vegetatív kotranszmisszóban. A „purinerg” rendszerbe beavatkozó farmakológiai ágensek intenzív kutatás tárgyát képezik a világ kutatóintézeteiben. A „purinerg” jelátviteli mechanizmusra ható gyógyszerek jelenlegi célpontjait a teljesség igénye nélkül az alábbi betegségecsoportok jelentik: központi idegrendszeri betegségek (neurodegeneratív betegségek, epilepszia, stroke), gyulladásos kórfolyamatok (pl. gyulladásos bélbetegségek), urológiai kórképek, malignus betegségek, fájdalom, érzékszervi működések, immunológiai, kardiovaszkuláris kórképek (Burnstock, 2006, 2007). Szelektív agonisták, antagonisták, P₂ receptor expressziót befolyásoló szerek, ATP hidrolízis- és transzport gátlók kifejlesztése új perspektívákat jelenthet számos betegség gyógyításában.

CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásaink során végzett in vitro kísérleteink a laboratóriumi állatok továbbá az ember zsigeri szerveinek (elsősorban GIT) mozgásait szabályozó mechanizmusok feltérképezésére irányultak. Célunk volt a zsigeri válaszokban részt vevő szenzoros és egyéb eredetű nem-adrenerg, nem-kolinerg (NANC) neurotranszmitterek azonosítása, modulációjuk tanulmányozása. Kísérleteink során az ingerület-átvivő anyagok azonosításának kritériumai közül „a hatás azonosságát” előfeltételnek, „az antagonizmus azonosságát” pedig perdöntőnek tekintettük. Vizsgálatainkat kísérleti állatokból és humán operációs anyagból származó készítményeken végeztük. A humán szövetek tanulmányozására a PTE Sebészeti Klinikával történő kollaborációnk biztosított lehetőséget.

Kísérleteink alap kutatás jellegűek, hosszú távon azonban klinikai összefüggésekkel is rendelkezhetnek. Várható eredményeink hozzájárulhatnak a GIT élettani működésének jobb megértéséhez, valamint a motilitászavarok hátterében álló patomechanizmusok feltérképezéséhez és ezáltal új terápiás eljárások kifejlesztéséhez. A vegetatív idegrendszer jól ismert adrenerg, kolinerg transzmitter-rendszereit befolyásoló farmakonok jelentős részét teszik ki a jelenleg rendelkezésünkre álló terápiás eszköztárnak. A NANC rendszerek funkciójának mélyebb megismerése számos új gyógyszer kifejlesztéséhez járulhat hozzá. Mivel a „Dale-elv” alapján a perifériás szövetekben, zsigerekben történő transzmitter-azonosítás eredményei relevanciával

bírnak a gerincvelőben, illetve érző agyidegmagvakban lejátszódó folyamatok tekintetében is, ezáltal a NANC transzmitter rendszerek feltérképezése más területeken (gyulladás, nocicepció, fájdalomcsillapítás) hasznosítható eredményeket is szolgáltatathat.

Kísérleteinkben az alábbi témakörökkel foglalkoztunk részletesen:

1. • Közelebb kívántunk kerülni az ATP lehetséges ideg-idegi, illetve ideg-izom izgató neurotranszmitter szerepének kimutatásához tengerimalac-bélen. Ezért megvizsgáltuk az exogén ATP és α,β -meATP összetett motoros hatásait tengerimalac ileum hosszanti izomzatán.

- Kísérleteket végeztünk az ezen hatások háttérében álló mechanizmusok tisztázására.

- Megvizsgáltuk, vajon képes-e a P_2 purinoceptor antagonistá PPADS antagonizálni ezen motoros válaszokat.

- Kísérletet tettünk az α,β -meATP hatását közvetítő purinoceptorok altípusainak –legalább részbeni – tisztázására. Vizsgáltuk az α,β -meATP tachyphylaxia mértékét és kolinerg kontrakcióra kifejtett hatását tengerimalac vékonybélben.

2. • Emberi vékonybél körkörös izomzaton arra a kérdésre kerestük a választ, vajon a „purinerg” idegek szerepet játszanak-e a NANC gátló válaszban.

- Ennek kapcsán megvizsgáltuk a feltételezett $P2Y_1$ antagonistá MRS 2179 hatásait is humán vékonybél körkörös izom preparátumokon.

3. Tanulmányoztuk a VIP- és kapszaicin-tachyphylaxia hatását emberi szigtabél körkörösizom NANC válaszaiban annak eldöntésére, vajon VIP, illetve szenzoros neuropeptidok (és esetleg más szenzoros transzmitterek) szerepet játszanak-e ebben a válaszban.

KÍSÉRLETES MUNKA

I. Az ATP és α,β -metilén ATP hatásainak vizsgálata tengerimalac ileumon

Bevezetés, célkitűzések

Az enterális idegrendszerben a NANC gátló válaszok jelentős részét NO hozza létre. Emellett gyakran felvetődik a „purinerg” idegek közvetítő szerepe (ld. Burnstock, 1972, 1997). Az α,β -metilén ATP (α,β -meATP) az ATP-nek egy nagyobb metabolikus stabilitással rendelkező analógja. Agonista spektruma a különböző purinoceptorokon ugyan némiképp eltér az ATP-étől, mégis az α,β -meATP az egyik leggyakrabban használt szer a „purinerg” mechanizmusok vizsgálatára különféle preparátumokon, mivel amellet, hogy stimulálja a P_{2X} receptorok néhány altípusát, erőteljes tachyphylaxiát képes kiváltani ezeken a receptorokon. Kevesebb adat áll rendelkezésre purinoceptor antagonisták hatásáról a NANC és más válaszokra. Munkacsoportunk korábbi eredményei szerint a PPADS specifikus gátló hatással rendelkezik a P_2 purinoceptorokon keresztül kiváltott izgató vagy gátló válaszokra különféle tengerimalac gasztrointesztinális preparátumokon, ami az ATP vagy valamely rokon vegyület neurotranszmitter szerepét támasztja alá. Mivel az endogén ATP szerepéről változatos eredmények születtek tengerimalac vékonybélben végzett kísérletek során, ezért *jelen kísérletsorozatunk célja az exogén ATP összetett motoros hatásainak vizsgálata volt.* Úgy gondoljuk, hogy a fő kérdés nem az, hogy mely típusú

purinoceptorok mediálják az ATP hatásait, hanem az, hogy találjunk egy olyan módszert, ami lehetőleg az ATP összes hatását gátolja. Egy ilyen „széles spektrumú” antagonizmus segíthet annak a kérdésnek az eldöntésében, vajon részt vesznek-e „purinerg” idegek a különböző ideg-mediált válaszokban.

A jelen tanulmányban jellemeztük az exogén ATP összetett hatásait tengerimalac ileum hosszanti izomzatán, valamint *megpróbáltuk feltérképezni az ezen hatások hátterében álló mechanizmusokat. Megvizsgáltuk az α,β -meATP tachyphylaxia hatását a kolinerg bélkontrakciókra. A PPADS specifikussági vizsgálatát kiterjesztettük az anyag magas koncentrációjára (300 $\mu\text{mol/l}$), exogén acetyl-kolint vagy hisztamint használva spazmogénként. Továbbá kísérleteket végeztünk az α,β -meATP tachyphylaxia mértékének meghatározására, valamint az α,β -meATP izgató hatásának hátterében álló mechanizmusok tisztázására is tengerimalac ileumon. Azt is megvizsgáltuk, vajon képes-e a P_2 purinoceptor antagonistá PPADS antagonizálni ezen ATP analóg hatásait. Az α,β -meATP hatását közvetítő purinoceptorok altípusainak feltérképezésére tett kísérleteink során megvizsgáltuk a válasz érzékenységet a $P2X_{1,2,3}$ purinoceptor antagonistá NF 279-re és a $P2X_{5,7}$ antagonistá Brilliant blue G-re nézve, mely utóbbi anyagról ismert, hogy $P2X_2$ és humán $P2X_4$ receptorok iránti affinitása is van.*

Módszerek és anyagok

A kísérletekhez albinó tengerimalacokat használtunk. Az állatok leölése után a teljes vékonybél készítményeket szervfürdőben, 37 °C-os, oxigenizált Krebs-Henseleit oldatban függesztettük fel. A hosszanti irányú elmozdulásokat izotóniás jelátalakítóval és híderősítő segítségével regisztráltuk. Az idegeket elektromos téringerléssel (EFS; 5 Hz, 5 s) aktiváltuk. A kontrakciós válaszok nagyságát a maximális összehúzódás százalékában adtuk meg.

Eredmények

I. Az ATP motoros hatásai tengerimalac ileumon

Az ATP hatásait a nem-szelektív P_1 purinoceptor antagonistá teofillin jelenlétében vizsgáltuk. Alacsony koncentrációban (1-10 $\mu\text{mol/l}$) az ATP a spontán mozgások átmeneti gátlását, illetve kis mértékű relaxációt okozott. Magasabb koncentrációban (30 $\mu\text{mol/l}$ - 1 mmol/l) az ATP két fajta kontrakciót hozott létre: (a) 28/80 esetben gyors *fázikus kontrakciót* okozott. Ezen válaszok többségénél lassú kontrakció is létrejött. (b) Számos preparátumon a fázikus kontrakciót nem tudtuk kiváltani, de jelen volt egy *tónusos kontrakció*, mely a csúcserőket 10-30 másodperc alatt érte el. Ez a kontrakció (és valószínűleg a fent leírt válasz lassú fázisa) feltehetően megegyezik a Moody és Burnstock, illetve Watt által 1982-ben leírt válasszal. Az ATP relaxáló hatását atropinnal és guanetidinnel előkezelt, hisztaminnal előkontrahált preparátumokon vizsgáltuk. Az ATP minden preparátumon relaxáló hatást váltott ki. Az ATP küszöbkoncentrációja 0,3-0,5 $\mu\text{mol/l}$ volt és 10 $\mu\text{mol/l}$ ATP maximális hatást okozott. Ismételt alkalmazás során jelentős hatáscsökkenést tapasztaltunk a fázisos kontrakció, ill. az elernyedés esetében. Valószínűnek tartjuk, hogy azokban az esetekben, amikor a második beadás is hatásos volt (tónusos összehúzódás), inkább az ATP lebomlása, míg ellenkező esetben inkább ATP-tachyphylaxia lehet felelős az első beadás hatásának lecsengéséért.

II. Az ATP-okozta mozgásválaszok farmakológiai elemzése

1. Fázikus kontrakció

A 300-500 $\mu\text{mol/l}$ koncentrációjú ATP-vel kiváltott fázikus kontrakciót atropin és TTX teljesen gátolta, a ganglionbénítő hexametónium csökkentette, de kapszaicin tachyphylaxia nem befolyásolta. PPADS gátolta a fázikus kontrakciót. α,β -meATP tachyphylaxia -meglepő módon- nem befolyásolta a fázikus kontrakciót.

2. Tónusos kontrakció

Az ATP-vel kiváltott tónusos kontrakciót atropin, TTX, hexametónium vagy α,β -meATP tachyphylaxia nem gátolta, PPADS (30 $\mu\text{mol/l}$) teljesen kivédte, 3 $\mu\text{mol/l}$ PPADS pedig erősen gátolta. Az ATP hatására létrejövő tónusos kontrakciót ω -konotoxin GVIA (N-típusú Ca^{2+} -csatorna blokkoló) sem gátolta.

A kezdeti fázikus kontrakciót követő tónusos kontrakció ugyanolyan farmakológiai érzékenységet mutatott atropin, hexametónium, TTX, kapszaicin, PPADS és α,β -meATP előkezelésre, mint a primer tónusos kontrakció.

Az atropin vagy TTX jelenlétében ATP-vel (300-500 $\mu\text{mol/l}$) kiváltott kontrakció mindig tónusos karakterű volt. A választ PPADS erősen gátolta.

3. Az ATP hatására létrejövő relaxáció

Az ATP-vel kiváltott relaxációt TTX nem befolyásolta. Apamin (Ca^{2+} -függő K^{+} -csatorna blokkoló) teljes, irreverzibilis gátló hatást fejtett ki 1 $\mu\text{mol/l}$ - 100 $\mu\text{mol/l}$ koncentrációjú ATP hatására létrejövő relaxációra. PPADS gátolta a relaxációt. A PPADS hatása az ATP koncentráció emelésével áttörhetőnek bizonyult. Reactive blue 2 (10 $\mu\text{mol/l}$) gátló hatása hasonló jellegzetességeket mutatott. A nitrogén-monoxid szintáz gátló L-NOARG és ω -konotoxin GVIA együtt történő alkalmazása nem befolyásolta az ATP hatására létrejövő relaxációt. Specifikussági vizsgálatokban sem az apamin, sem a PPADS nem befolyásolta a hisztaminnal és acetyl-kolinnal kiváltott kontrakciót.

III. α,β -meATP hatására létrejött motoros hatások tengerimalac ileumon

Az α,β -meATP (1-30 $\mu\text{mol/l}$) koncentráció-függő *kontrakciót* okozott tengerimalac ileumon. Erős tachyphylaxiát figyeltünk meg. *Relaxáló hatást* atropinnal előkezelt, előkontrahált preparátumokon az α,β -meATP nem váltott ki az 1-30 $\mu\text{mol/l}$ koncentrációtartományban. Az α,β -meATP motoros hatását a Na^{+} -csatorna blokkoló TTX vagy a széles spektrumú muszkarinreceptor antagonistá atropin teljesen kivédte. Hexametónium nem befolyásolta az α,β -meATP kontrakciós hatását. Az α,β -meATP (3-30 $\mu\text{mol/l}$) kontrakciós hatását PPADS erősen gátolta. A P2X_{1-3} receptorokon ható purinoceptor antagonistá NF279 koncentráció-függő módon csökkentette az α,β -meATP kontrakciós hatását. A brilliant blue G viszont nem befolyásolta az α,β -meATP hatását.

IV. α,β -meATP-vel kiváltott tachyphylaxia vizsgálata tengerimalac ileumon

Kísérleteket végeztünk az α,β -meATP tachyphylaxia mértékének meghatározására. Azt találtuk, hogy még a legkisebb vizsgált koncentráció (1 $\mu\text{mol/l}$) is erősen gátolta az ugyanolyan koncentrációjú, vagy akár a 10 $\mu\text{mol/l}$ α,β -meATP-okozta összehúzódást. Az α,β -meATP tachyphylaxia (1-10 $\mu\text{mol/l}$) 20 perces kimosás után teljesen

reverzibilisnek bizonyult. Sem az α,β -meATP kontrakciós hatását, sem a tachyphylaxiát nem befolyásolta az adrenerg neuron blokkoló guanetidin, a széles spektrumú opioid receptor antagonistá naloxon, valamint a NOS gátló L-NOARG kombinációja.

V. α,β -meATP tachyphylaxia hatása az ideg-közvetítette ileum kontrakciókra

Az α,β -meATP (1-10 $\mu\text{mol/l}$, 20 percre beadva kimosás nélkül) mérsékelten gátolta az elektromos téringerléssel kiváltott (döntően kolinerg) választ. A maximális hatást (kb. 30 %-os gátlás) 3 $\mu\text{mol/l}$ α,β -meATP már kiváltotta. Magasabb koncentráció nem növelte a gátlást. Az α,β -meATP (10 $\mu\text{mol/l}$) gátló hatása nem változott naloxon, guanetidin és L-NOARG jelenlétében. A nikotin hatására létrejövő válaszokat az α,β -meATP tachyphylaxia nem befolyásolta.

Megbeszélés

Jelen kísérleteink alapján megállapítható, hogy ATP hatására legalább három különböző motoros válasz jön létre tengerimalac ileumon és egyik sem teljesen azonos az α,β -meATP által kiváltott reakcióval. A relaxációt létrehozó optimális koncentrációk alacsonyabbak, mint a kontrakciót létrehozók. Minden vizsgált válasz idővel eltűnik, amiben mind tachyphylaxia, mind az aktuális ATP koncentráció lecsökkenése szerepet játszik.

Az ATP-hatás farmakológiai befolyásolása

A *tónusos kontrakció* és valószínűleg a fázikus kontrakciót követő lassú kontrakció is megegyezik a Moody és Burnstock (1982) továbbá Watt (1982) által leírt kontrakcióval. Ez a megállapítás mindenekelőtt ezen válaszok atropin- és TTX-rezisztenciáján alapul, mely az ATP posztjunkcionális hatására utal.

Szemben a tónusos kontrakcióval, úgy tűnik, hogy a *gyors (fázikus) kontrakciót* teljes egészében a bélfal kolinerg neuronjai közvetítik. Az ATP-vel kiváltott gyors kontrakció csökkenése a ganglionblokkoló hexametonium adását követően arra utalhat, hogy a fázikus kontrakciót közvetítő purinoceptorok nemcsak az enterális kolinerg motoneuronokon találhatóak, hanem preszinaptikusan azokon a neuronokon is, amelyek közvetve vagy közvetlenül beidegzik a bél intrinszik kolinerg motoneuronjait.

Annak eldöntésére, hogy az ATP képes-e az idegvégződéseket izgatni (TTX rezisztens módon), megvizsgáltuk az N-típusú feszültségfüggő Ca^{2+} -csatorna gátló ω -conotoxin GVIA hatását. Sem az ATP indukálta primer tónusos kontrakciót, sem az ATP hatására létrejövő relaxációt nem befolyásolta az alkalmazott meglehetősen magas ω -conotoxin GVIA koncentráció. Sőt még a tetrodotoxin és ω -conotoxin GVIA kombinációja sem csökkentette ezeket az ATP-indukálta válaszokat. Mindebből úgy tűnik, hogy az ATP tónusos kontraháló valamint relaxáló hatásait simaizmon található receptorokon keresztül fejt ki.

Az ATP hatására létrejövő *relaxáció* rezisztens volt TTX-re és L-NOARG-ra, ami valószínűtlenné teszi, hogy „nitreg” idegekből vagy bármely forrásból származó nitrogén-monoxid szerepet játszana ebben a válaszban.

A myentericus neuronokon végzett elektrofiziológiai tanulmányok szerint az exogén ATP és a preszinaptikus idegek elektromos stimulációja a plexus myentericusban gyors excitatórikus potenciálokat vált ki (Barajas-Lopez és mtsai 1993, Galligan és Bertrand, 1994). Abban az esetben, ha az érintett purinoceptorok a plexus myentericus kolinerg izgató motoneuronjain helyezkednek el, az várható, hogy az ATP hatására létrejövő választ részben idegek közvetítik. Ileumon az ATP hatására létrejövő motoros válaszok

komplexitása megnehezíti a hatások vizsgálatát. A tiszta fázikus (kolinerg) kontrakció csak a preparátumok egy részén volt vizsgálható, valószínűleg a többi preparátumon a tónusos kontrakció vagy relaxáló hatás elfedte. Kísérleteink célja nem az volt, hogy meghatározzuk ileumon az ATP hatás közvetítésében szerepet játszó receptorok pontos típusait, mivel P_2 purinoceptor altípusokon ható specifikus antagonisták csak néhány altípusra nézve léteznek. Kennedy és Humphrey 1994-ben agonisták széles skáláját használva is nehéznek találta a tengerimalac ileum simaizomsejtjein és kolinerg neuronjain található receptorok pontos kategorizálását. Valószínű, hogy az ATP egy időben több purinoceptor típust és/vagy altípust aktivál.

Az ATP hatására létrejövő mindhárom motoros válasz gátolható volt PPADS-sel 30 $\mu\text{mol/l}$ -es vagy alacsonyabb koncentrációban. Ami az ATP indukálta relaxációt illeti, a PPADS (30 $\mu\text{mol/l}$) gátló hatása kompetitívnek látszik. A kontrakciós válaszokat tekintve koncentráció-hatás összefüggés nem volt megfigyelhető, mivel azok az ATP koncentrációk, amelyek ezeket a válaszokat eredményezték, eleve magasak voltak. Ebben az esetben ugyanakkor a PPADS koncentrációjának csökkentése gyengébb gátló hatáshoz vezetett, de még a 3 $\mu\text{mol/l}$ PPADS is több mint 50 %-os gátlást eredményezett. Irodalmi adatok arra utalnak, hogy a PPADS EC_{50} értékei mikromoláris tartományban vannak, de egyes receptortípusokon ennél magasabbak (hivatkozásokért ld. Benkó és mtsai, 2007). Mindezen eredmények birtokában megállapíthatjuk, hogy a PPADS biztonságosan használható a P_2 purinoceptor mediálta válaszok gátlására.

Jelen tanulmányunkban bizonyítékot szolgáltatunk arra, hogy nemcsak az α,β -meATP, hanem maga az ATP is képes izgatni a plexus myentericus kolinerg neuronjait PPADS-érzékeny módon. Ez összhangban van azon megfigyeléseinkkel, miszerint a PPADS (Barthó és mtsai, 1997) vagy az α,β -meATP tachyphylaxia (jelen kísérletek) mérsékelten gátolja az elektromos téringerléssel kiváltott kolinerg kontrakciókat, ami ATP felszabadulást valószínűsít az enterális kolinerg motoneuronok szomszédságában. Az ATP-indukált válaszok gátlása PPADS-sel szintén azt bizonyítja, hogy az ATP a hatásokat P_2 purinoceptorokon keresztül fejt ki, nem pedig P_1 receptorokon (az utóbbi valószínűsége csökkenthető teofillin használatával). A PPADS ismert ekto-nukleotidáz gátló hatása (Bültmann és mtsai, 1999) nem valószínű, hogy szerepet játszik az általunk kapott eredményekben, illetve ha igen, akkor gyengíti a PPADS antagonista hatását. Másrészt az ATP indukálta relaxáció szignifikáns gátlása reactive blue 2-vel valószínűsíti a P_{2Y} purinoceptorok részvételét ebben a választípusban. Ezek az eredmények szintén azt mutatják, hogy a PPADS valószínűleg kompetitív módon P_{2Y} purinoceptorokon is hat, amit már korai megfigyelések is leírtak erről szerről.

Az α,β -meATP hatásának farmakológiai befolyásolása

Néhány tanulmányt kivéve általánosan elfogadott tény az, hogy az α,β -meATP kolinerg úton mediált kontrakciót okoz tengerimalac ileumon (ld. többek között Kennedy és Humphrey, 1994).

Az α,β -meATP –legalábbis a jelen kísérletsorozatban vizsgált koncentrációtartományban – csak kontrakciót vált ki az ileum hosszanti izomzatán. A jelen eredmények alapján valószínűnek tűnik, hogy az ATP és α,β -meATP által kiváltott kolinerg izgató választ nem ugyanazon receptorok közvetítik, miután az α,β -meATP 10 $\mu\text{mol/l}$ koncentrációban nem befolyásolta az ATP hatására létrejövő fázikus kolinerg kontrakciót. Ellenben 10 $\mu\text{mol/l}$ vagy akár 1 $\mu\text{mol/l}$ α,β -meATP-vel történő előkezelés erősen csökkenti egy további α,β -meATP beadás hatását. Mi több, az ATP és α,β -meATP hatására létrejövő kolinerg kontrakciót különböző mértékben befolyásolja a ganglionblokkoló hexametónium (az ATP-t szignifikánsan gátolja, α,β -

meATP-re nincs hatással). α,β -meATP esetén a hexametónium gátló hatásának hiánya alapján megállapítható, hogy preganglionáris kolinerg rostok valószínűleg nem játszanak szerepet az α,β -meATP-okozta összehúzódásban. Ugyanakkor úgy találtuk, hogy a részt vevő receptorok nem érzékenyek meglehetősen magas brilliant blue G ($P2X_{5,7}$ receptor antagonist) koncentrációkra. Érzékenyek viszont a széles spektrumú P_2 purinoceptor antagonist PPADS-re, és mérsékelt érzékenységet mutatnak NF 279-re. Az utóbbi eredmény $P2X_1$, $P2X_2$ vagy $P2X_3$ receptorok részvételére utalhat.

A szenzoros stimuláns kapszaicin izgatja a bélfal primer afferens neuronjainak perifériás végződéseit/varikozításait és az általa a kapszaicin-érzékeny afferensekből felszabadított transzmitterek aktiválják a plexus myentericus kolinerg neuronjait (ld. Barthó és mtsai 2004). Magas kapszaicin koncentráció segítségével lehetőség van a kapszaicin-érzékeny afferensek funkciójának blokkolására. A kapszaicin előkezelés hatástalansága az ATP-indukálta fázikus kontrakcióra praktikusán kizárja a kapszaicin-érzékeny neuronok részvételét ebben a válaszban. Az α,β -meATP kontrakciós hatása szintén rezisztens kapszaicin tachyphylaxiára, mint azt már munkacsoportunk korábban leírta (Barthó és mtsai, 1999).

α,β -meATP tachyphylaxia hatása az elektromos idegingerléssel és nikotinnal kiváltott válaszokra

A nikotin által kiváltott kontrakciók rezisztenciája α,β -meATP tachyphylaxia iránt érdekes kettősséget vet fel az elektromos ingerlés és nikotin-kiváltotta kolinerg kontrakció között. Ez az eredmény ugyanakkor kizárja az α,β -meATP tachyphylaxia posztjunkcionális gátló hatását. Meg kell jegyezni, hogy amíg az elektromos téringerlés-indukálta kolinerg kontrakciót a PPADS mérsékeltén gátolja (Barthó és mtsai, 1997), ugyanakkor kolecisztoxinin oktapeptid vagy tachykinin NK_3 receptor agonista senktide hatására létrejött kolinerg kontrakciókat PPADS nem befolyásolja (Barthó és mtsai, 2000). Azok a mechanizmusok, amelyek a plexus myentericus kolinerg neuronjainak elektromos aktiválását érzékenyebbé teszik P_2 purinoceptor gátlással szemben, még magyarázatra szorulnak.

Következtetések

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy tengerimalac ileumon az ATP direkt simaizom összehúzó hatása mellett aktiválhat (részben preganglionáris) kolinerg neuronokat, és ennek hatásmechanizmusa különbözik az α,β -meATP által kiváltott kolinerg kontrakcióétól. Az ATP relaxáló hatást is kivált, mely direkt, valószínűleg $P2Y$ receptor mediált hatás a simaizmon. Az ATP minden motoros hatása gátolható a purinoceptor antagonist PPADS-sel. Az ATP hatására létrejövő kolinerg válasz és annak gátlása PPADS-sel alátámaszthatja a tengerimalac ileumon közölt, elektromos téringerléssel vagy nyálkahártya stimulációval kiváltott kolinerg kontrakció P_2 purinoceptorokkal történő részleges gátlását. Az α,β -meATP tengerimalac ileumon kontrakciót hoz létre a plexus myentericus kolinerg motoneuronjain található PPADS-érzékeny P_2 purinoceptorok stimulálásával. Az α,β -meATP-vel létrehozott tachyphylaxia szelektíven csökkenti a motoneuronok elektromos aktiválásával kiváltott kontrakciót, ami arra utal, hogy $P2X$ purinoceptorok részt vesznek a bél izgató neurotranszmissziójában.

II. „Purinergerg” idegek szerepe humán ileum nem-adrenerg, nem-kolinerg (NANC) relaxációjában

Bevezetés

Az emberi vékonybél funkcionális beidegzéséről kevesebb a rendelkezésre álló ismeretanyag, mint a kísérleti állatok, pl. tengerimalac esetében. Ma már bizonyos, hogy emberi bélrendszerben a nitrogén-monoxid (NO) neurotranszmitterként jelentős szerepet tölt be a NANC relaxációban (ld. többek közt Burleigh, 1992; Maggi és mtsai, 1991; Tam és Hillier, 1992). Azonban a „purinergerg” idegek részvételére a válaszban jelenleg még nincs funkcionális bizonyíték, bár egy apamin-érzékeny mechanizmust már közöltek (Boeckxstaens és mtsai, 1993). Újabban kiderült azonban, hogy az ATP mellett számos más relaxáló anyag hatása is (részben vagy teljesen) apamin-érzékeny. A jelen kísérletsorozatban azt a feltételezést vizsgáltuk, miszerint a P₂ purinoceptorok szerepet játszhatnak a NANC gátló válasz „nem-nitreg” komponensében humán ileumon. Ezen kérdés megválaszolására kísérleteinkben vizsgáltuk két P₂ purinoceptor antagonistát, a PPADS és a suramin hatásait az elektromos téringerléssel kiváltott NANC relaxációra az NO-szintáz bénító L-NOARG-gal előkezelt humán vékonybél körkörös irányú csík készítményeken *in vitro*.

Újabban a P2Y₁ receptorok specifikus gátlóját, az MRS 2179 jelű anyagot (Boyer és mtsai, 1996) használják egyebek közt a bélkészítmények NANC relaxációjának vizsgálatára. Humán vastagbélben az általunk PPADS + suramin kezeléssel gátolhatóan bizonyult „nem-nitreg” NANC elernyedést (Benkó és mtsai, 2007) ez a szer is gátolta (Gallego és mtsai, 2006). Lehet, hogy ez a P2Y₁ antagonisták alkalmasabb eszköz a „purinergerg” simaizomgátló mechanizmusok vizsgálatára, mint az eddigiek (a fentén kívül pl. a „reactive blue”).

Elfogadva a Gallego és mtsai által leírtakat, kísérleteinkben jellemeztük az MRS 2179 anyagot, elsősorban specifikusság szempontjából, majd megvizsgáltuk az antagonisták specifikus koncentrációinak hatását az általunk „purinergerg”-nek talált „nem-nitreg” NANC elernyedésre emberi vékonybél körkörös izomzatán.

Módszerek

Az ileum preparátumokat carcinoma miatt bélműtéten átesett betegek eltávolított marginális, intakt bélszakaszaiból készítettük. A kísérletek a műtét napján történtek. Körkörös irányú, kb. 2 x 20 mm méretű preparátumokat készítettünk, melyeket szervfürdőben, 37 °C-os, oxigenizált Krebs-Henseleit oldatban függesztettük fel. A mozgásokat izotóniásan regisztráltuk. Az idegeket elektromos téringerléssel (EFS) aktiváltuk. A NANC viszonyok fenntartására atropin és guanetidin a kísérlet folyamán végig jelen volt a fürdőben. A kísérletek többségében L-NOARG (100 µmol/l) szintén végig jelen volt a szervfürdőben, kivéve azokat az eseteket, amikor az NO szintézis gátlásának hatását vizsgáltuk. A NANC relaxációt TTX teljesen kivédte. A preparátumokat neurokinin A-val szubmaximálisan előkontraháltuk és EFS-t vagy valamilyen relaxáló anyagot (200 µmol/l ATP, 3-10 µmol/l izoprenalin) alkalmaztunk. A statisztikai összehasonlításokat Wilcoxon teszt segítségével végeztük.

Eredmények

Előkontrahált preparátumokon az elektromos ingerlés (1 ill. 10 Hz 20s-ig) NANC elernyedést okozott, amelyet az L-NOARG (100 µmol/l) szignifikánsan csökkentett, de teljesen nem védett ki. L-NOARG jelenlétében a P₂ purinoceptor antagonisták PPADS

(50 $\mu\text{mol/l}$) ill. suramin (100 $\mu\text{mol/l}$) szignifikánsan gátolta a NANC relaxációt mindkét frekvencián. A gátlás 1 Hz-en erősebb volt, mint 10 Hz esetén. A két antagonisták kombinációja 1 Hz-en jelentős (70 %) , míg 10 Hz-en 35 %-os gátlást okozott.

Az exogén ATP (200 $\mu\text{mol/l}$) kb. ugyanakkora relaxációt okozott, mint az elektromos téringelés. PPADS és suramin együttesen az exogén ATP hatását 70 %-kal gátolták.

A P_{2Y} purinoceptor antagonisták MRS 2179 gátló hatása humán ileum körkörös izomzaton kiváltott NANC relaxációra

NKA-val előkontrahált preparátumokon az MRS 2179 szignifikánsan gátolta az EFS-sel kiváltott „nem-nitreg” NANC relaxációt mind 1 Hz, mind pedig 10 Hz frekvencián. A 3 $\mu\text{mol/l}$ MRS 2179 kb. 50 %-os, még 10 $\mu\text{mol/l}$ MRS 2179 közel teljes gátlást idézett elő. Az apamin (3 $\mu\text{mol/l}$) több mint 50 %-kal csökkentette a NANC relaxációt mindkét frekvencián. Az exogén ATP-vel kiváltott elernyedést 3 $\mu\text{mol/l}$ MRS 2179 szignifikánsan csökkentette, míg 10 $\mu\text{mol/l}$ MRS 2179 teljesen gátolta. Az MRS 2179 (10 $\mu\text{mol/l}$) nem befolyásolta sem az izoprenalinnal kiváltott elernyedést, sem a neurokinin A-val kiváltott összehúzóást.

Megbeszélés

A jelen kísérletsorozatban elsőként szolgáltatunk bizonyítékot arra, hogy a P_2 purinoceptor-mediált „purinerg” mechanizmusok részt vesznek humán vékonybél NANC gátló válaszában. Mint azt két kutatócsoport korábban kimutatta, emberi vékonybél körkörös izom preparátumokon a NO mediálja a NANC válaszok egy részét (Maggi és mtsai, 1991; Murr és mtsai, 1999). Kísérleteinkben L-NOARG segítségével megerősítettük az NO NANC relaxációban való részvételét emberi vékonybél körkörös izomzatán.

A P_2 purinoceptor antagonisták PPADS (Lambrecht és mtsai, 1992) vagy suramin (Dunn és Blakeley, 1988) szignifikánsan gátolta az elektromos téringeléssel kiváltott NANC relaxáció „nem-nitreg” komponensét 1 Hz ill. 10 Hz frekvencián. A két anyag együtt az exogén ATP hatását is jelentősen (70%) gátolta. Mindebből arra következtettünk, hogy a „purinerg” mechanizmus mellett egy másik „nem-nitreg” transzmitter is szerepet játszhat a NANC relaxációban, vagy a kísérlet során használt purinoceptor antagonisták még ebben a meglehetősen magas koncentrációban sem voltak elegendőek a purinoceptorok teljes gátlásához. Azonban úgy gondoljuk, hogy ezen anyagok magasabb koncentrációban való használata nem specifikus hatásokat fejthet ki. Mindenesetre a jelen kísérletekben a PPADS és suramin kombinációja nem befolyásolta a neurokinin A-val kiváltott kontrakciót, valamint az izoprenalinnal kiváltott fél-maximális relaxációt.

Kísérleteink megerősítették, hogy az MRS 2179 antagonisták alkalmas eszköz lehet a humán GIT „purinerg” rendszereinek tanulmányozására. A kísérleteinkben használt 3-10 $\mu\text{mol/l}$ dózisú MRS 2179 hatékonyan gátolta a NANC relaxációt, valamint szignifikánsan csökkentette a „purinerg” transzmitter ATP elernyesztő hatását. Annak vizsgálata, vajon az MRS 2179 specifikusan csak a P_{2Y_1} receptorokat gátolja-e, nem képezte jelen kísérletsorozatunk tárgyát, irodalmi adatok azonban specifikusnak mutatják e szert a P_{2Y_1} receptorokra (ld. von Kügelgen és Wetter, 2000).

Kísérleteink alapján összefoglalóan megállapíthatjuk, hogy a P_{2Y} receptor antagonisták MRS 2179-re érzékeny „purinerg” mechanizmusok jelentős szerepet játszanak humán vékonybél körkörös izomzatának „nem-nitreg” NANC gátló válaszában in vitro.

III. Kapszaicin- ill. VIP-tachyphylaxia hatásai a humán szigmabél NANC gátló válaszaira

Bevezetés

A bélhuzam NANC elernyedésének közvetítésére három fő „jelölt” van: NO, az ATP vagy hasonló jellegű „purinerg” transzmitter és a VIP (ill. VIP/PACAP). Az NO-val és ATP-vel az előző fejezetek foglalkoztak. Úgy tartják, hogy a VIP szerepet játszik különféle gasztrointesztinális preparátumok NANC gátló válaszaiban (ld. Dockray, 1994; Lecci és mtsai, 2002; Said és Rattan, 2004). A paprika (*Capsicum annum*) csípős anyaga, a kapszaicin izgatja az érző idegvégződéseken elhelyezkedő „Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid 1” (TRPV1) ioncsatornához kötött receptort (Caterina és Julius, 2001). A zsigeri szervek kapszaicin-érzékeny idegvégződéseiből felszabaduló transzmitterek feltehetően felszabadulnak az érző neuron központi idegrendszeri végződéseiből is (gerincvelő hátsó szarv), ahol szerepet játszhatnak a nocicepcióban. A szenzoros neurotranszmitterek azonosításában tehát hasznos eszközt jelent a kapszaicin zsigeri hatásainak tanulmányozása (ld. Barthó és mtsai, 2004). Ugyanakkor a kapszaicin deszenzibilizáció széles körben használt eszköz az izolált szervi vizsgálatokban, mivel funkcionálisan károsítja az érintett idegvégződéseket. Különböző állatfajok GI preparátumai eltérően reagálnak kapszaicinre (ld. Barthó és mtsai, 2004). Humán bél simaizomzatot Maggi és mtsai kimutatták, hogy a kapszaicin gátló hatást vált ki (Maggi és mtsai, 1988, 1990,a,b). A kapszaicin-okozta elernyedés TTX-rezisztens. Ahhoz, hogy a szer ingerelje a szenzoros idegvégződéseket és belőlük biológiailag aktív anyagokat szabadítson fel, nem szükséges a feszültségfüggő gyors Na^+ -csatornák működése, így a válaszok többsége TTX-rezisztens (Maggi, 1995). Az 1990-es években immun-neutralizációs és neurokémiai kísérletek a VIP ill. valamely rokon peptid részvételét látszottak igazolni a kapszaicin hatásában. Ugyanakkor a CGRP – amely állati preparátumokban közvetíti a kapszaicin gátló hatását – emberben valószínűleg nem játszik szerepet (Maggi és mtsai, 1989, 1990a,b). Munkacsoportunk kimutatta, hogy humán szigmabélben a kapszaicin-okozta elernyedésért nagyrészt a nitrogén-monoxid a felelős (Barthó és mtsai, 2002). Később számos GI preparátumon (emberi vékonybél, appendix, egér colon) igazoltuk az NO kapszaicin-okozta elernyedésben betöltött szerepét (Benkó és mtsai, 2005).

Kísérleteinkben az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

1. Vizsgáltuk az exogén VIP relaxáló hatását humán szigmabélben, valamint megvizsgáltuk, vajon részt vesz-e endogén VIP a humán szigmabél NANC gátló válaszaiban. Utóbbi eldöntésére specifikus VIP antagonisták hiányában VIP tachyphylaxiát használtunk.
2. Emellett megpróbáltunk választ kapni arra a kérdésre, hogy emberi szigmabél körkörös izom NANC relaxációjában részt vesznek-e kapszaicin-érzékeny idegek.

Módszerek és anyagok

Az emberi szigmabél preparátumokat carcinoma miatt bélműtéten átesett páciensek eltávolított bélszakaszainak széli, ép részéből készítettük, a módszerek azonosak voltak a 2. fejezetben leírtakkal (humán ileum), az alábbi különbségekkel: kísérleteink egy részében a VIP (0,1 $\mu\text{mol/l}$) vagy a kapszaicin (0,3 $\mu\text{mol/l}$) relaxáló hatását guanetidin

(3 $\mu\text{mol/l}$) jelenlétében, acetyl-kolinnal (1 $\mu\text{mol/l}$) előkontrahált preparátumokon vizsgáltuk. A VIP tachyphylaxia létrehozására 1 $\mu\text{mol/l}$ VIP-et 1 órára a szervfürdőhöz adtunk, majd ezután alkalmaztuk a kapszaicint (0,3 $\mu\text{mol/l}$) ill. a korábban relaxáló VIP dózist (0,1 $\mu\text{mol/l}$). Kísérleteink más részében az idegeket elektromos téringertéssel aktiváltuk atropin (1 $\mu\text{mol/l}$) és guanetidin (3 $\mu\text{mol/l}$) jelenlétében a NANC viszonyok megteremtése végett. 1 óra inkubációs periódus után a preparátumokat hisztaminnal (5 $\mu\text{mol/l}$) kontraháltuk elő szubmaximálisan és EFS-t (1 ill. 10 Hz) vagy izoprenalint alkalmaztunk.

Eredmények

1. VIP tachyphylaxia hatása az EFS által kiváltott NANC relaxációra és a kapszaicin- okozta gátló válaszra emberi szigmabélen

A VIP (0,1 $\mu\text{mol/l}$) majdnem fél-maximális relaxáló hatása reprodukálható volt ($n=8$). A VIP nagy koncentrációja (1 $\mu\text{mol/l}$) gyakorlatilag maximális elernyedést okozott, amely azonban a hosszú inkubációs idő alatt megszűnt. Egy órás inkubálás után az acetyl-kolin kontraháló hatása megegyezett a VIP előttivel. A VIP tachyphylaxia (1 $\mu\text{mol/l}$ 60 percig) erősen gátolta a 0,1 $\mu\text{mol/l}$ VIP hatására létrejövő relaxációt. VIP (1 $\mu\text{mol/l}$) jelenlétében a válasz a kontrollnak csak $17,7 \pm 6,9$ %-a volt. A VIP (1 $\mu\text{mol/l}$ 60 percig) nem csökkentette, sőt kicsit növelte az izoprenalinnal kiváltott elernyedést. Hisztaminnal előkontrahált humán szigmabél preparátumon EFS (1 Hz ill. 10 Hz) NANC relaxációt hozott létre. A relaxációt TTX mindkét frekvencián kivédte. A VIP tachyphylaxia nem gátolta (valójában valamelyest növelte) a „nem-nitrerg” NANC relaxációt. VIP tachyphylaxia (1 $\mu\text{mol/l}$ 60 percig) nem befolyásolta a kapszaicin (0,3 $\mu\text{mol/l}$) relaxáló hatását, ami részben alátámasztja ezen eljárás specifikus voltát, részben pedig ellene szól annak, hogy a VIP jelentős szerepet játszana a szenzoros izgató kapszaicin hatásában.

2. Kapszaicin tachyphylaxia hatása az elektromos ingerléssel kiváltott NANC relaxációra emberi szigmabélen

Kapszaicin előkezelés (10 $\mu\text{mol/l}$ 10 percig, majd 40 perc kimosási periódus) nem csökkentette az 1 ill. 10 Hz frekvenciával kiváltott EFS hatására létrejövő NANC relaxációt. A NANC relaxációt tetrodotoxin (1 $\mu\text{mol/l}$) teljesen kivédte ($n=6$).

Megbeszélés

A VIP, illetve esetleg a PACAP részvételét a kétféle válaszban nem tudtuk antagonisták segítségével vizsgálni, mert a használt antagonisták nem gátolták az exogén VIP relaxáló hatását. Ebben az irányban további kísérletek szükségesek. Ezért VIP tachyphylaxiát használtunk, amely hatásosnak bizonyult exogén VIP ellen.

A VIP tachyphylaxia nem gátolta sem a kapszaicin, sem a „nem-nitrerg” EFS hatását. Ehelyett kisfokú növekedést tapasztaltunk, amelynek mechanizmusát még nem tudtuk kideríteni. Az mindenestre nagyon valószínűnek látszik, hogy endogén VIP mint elernyesztő ágens nem vesz részt a NANC relaxációban, illetve a kapszaicin elernyesztő hatásában. A VIP szerepére a NANC gátló válaszokban állatkísérletek szolgáltatottak eredményeket (Grider és mtsai, 1985). A kapszaicin- okozta gátló válaszban Maggi és mtsai (1989) immun-neutralizáció és release-mérés segítségével bizonyítékot találtak a

VIP szerepére, ugyanakkor a szenzoros neuropeptid CGRP szerepét nem tudták kimutatni a válaszban. Annak eldöntésére, hogy kapszaicin-érzékeny (valószínűleg szenzoros) idegek részt vesznek-e a NANC relaxációban, kapszaicin tachyphylaxiát használtunk a kapszaicin-érzékeny idegek funkcionális blokkolására. Kísérleteinkben a kapszaicin tachyphylaxia nem okozott gátlást a NANC relaxációban. A fenti eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy kapszaicin-érzékeny idegek valószínűleg nem vesznek részt az elektromos ingerléssel létrehozott NANC gátló válaszban emberi szigmabélen, így ezt a választ intrinszik idegek közvetítik.

A DOLGOZATBAN BEMUTATOTT ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

A neurotranszmitter-jelölt ATP-vel kapcsolatban:

- Megállapítottuk, hogy ATP hatására legalább *három különböző motoros válasz* jön létre tengerimalac ileumon. Az ATP tónusos kontraháló és relaxáló hatásait simaizmon található receptorokon keresztül fejt ki; az utóbbiban NO nem vesz részt.
- Bizonyítékot szolgáltatunk arra, hogy nemcsak az α,β -meATP, hanem a természetes transzmitterjelölt, az ATP is képes izgatni a plexus myentericus kolinerg neuronjait PPADS-érzékeny P_2 purinoceptorok stimulálásával. Valószínűsítettük, hogy az ATP és α,β -meATP által kiváltott kolinerg izgató választ különböző receptorok közvetítik.
- Az α,β -meATP-vel létrehozott tachyphylaxia szelektíven csökkenti a kolinerg motoneuronok elektromos aktiválásával kiváltott kontrakciót, ami arra utal, hogy P_{2X} purinoceptorok részt vesznek a bél izgató neurotranszmissziójában.
- Direkt bizonyítékot szolgáltatunk arra, hogy P_2 purinoceptor-mediált „purinerg” mechanizmusok részt vesznek humán vékonybél körkörös izomzatának „nitrerg” NANC gátló válaszában, tehát a „nitrerg” és „purinerg” idegek együttesen közvetítik az elektromos ingerlés okozta NANC gátló választ.
- Megállapítottuk, hogy a P_{2Y} purinoceptor antagonistá MRS 2179 alkalmas eszköz a humán vékonybél körkörös izomzat „purinerg” mechanizmusainak tanulmányozására.

A neurotranszmitter-jelölt VIP-pel kapcsolatban:

- Valószínűsítettük, hogy sem kapszaicin-érzékeny idegek, sem VIP nem vesz részt számottevő mértékben a humán szigmabél elektromos téringerléssel kiváltott NANC gátló válaszában. Nem találtunk bizonyítékot a VIP szerepére a szenzoros izgató kapszaicinnal kiváltott gátló válaszban, így a VIP szenzoros ingerületátvivő szerepével kapcsolatban sem.

IRODALOMJEGYZÉK

- Barajas-Lopez C, Barrientos M, Espinoza-Luna R, 1993. Suramin increases the efficacy of ATP to activate an inward current in myenteric neurons from guinea-pig ileum. *Eur. J. Pharmacol.* 250: 141-145.
- Barthó L, Benkó R, Lázár Zs, Illényi L, Horváth ÖP, 2002. Nitric oxide is involved in the relaxant effect of capsaicin in the human sigmoid colon circular muscle. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 366: 496-500.
- Barthó L, Benkó R, Patacchini R, Pethő G, Holzer-Petsche U, Holzer P, Lázár Z, Undi S, Illényi L, Antal A, Horváth ÖP, 2004. Effects of capsaicin on visceral smooth muscle: a valuable tool for sensory neurotransmitter identification. *Eur. J. Pharmacol.* 500: 143-157.
- Barthó L, Lázár Zs, Lénárd LJr, Benkó R, Tóth G, Penke B, Szolcsányi J, Maggi CA, 2000. Evidence for the involvement of ATP, but not of VIP/PACAP or nitric oxide, in the excitatory effect of capsaicin in the small intestine. *Eur. J. Pharmacol.* 392: 183-188.
- Barthó L, Lénárd LJr, Lázár Zs, Maggi CA, 1999. Connections between P₂ purinoceptors and capsaicin-sensitive afferents in the intestine and other tissues. *Eur. J. Pharmacol.* 375: 203-210.
- Barthó L, Lénárd LJr, Maggi CA, 1997. Evidence for the involvement of P₂ purinoceptors in the cholinergic contraction of the guinea-pig ileum. *Br. J. Pharmacol.* 121: 1507-1508.
- Barthó L, Lénárd LJr, Szigeti R, 1998. Nitric oxide and ATP co-mediate the NANC relaxant response in the guinea-pig taenia caeci. *Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol.* 358: 496-499.
- Benkó R, Lázár Z, Undi S, Illényi L, Antal A, Horváth ÖP, Rumbus Z, Wolf M, Maggi CA, Barthó L, 2005. Inhibition of nitric oxide synthesis blocks the inhibitory response to capsaicin in intestinal circular muscle preparations from different species. *Life Sci.* 76: 2773-2782.
- Benkó R, Undi S, Wolf M, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Horváth ÖP, Antal A, Magyar K, Tóvölgyi Z, Barthó L, 2007. P₂ purinoceptor antagonists inhibit the NANC relaxation of the human colon in vitro. *Neuroscience.* 147:146-152.
- Benkó R, Undi S, Wolf M, Magyar K, Tóvölgyi Z, Rumbus Z, Barthó L, 2006. P₂ purinoceptors account for the non-nitric oxide NANC relaxation in the rat ileum. *Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol.* 373: 319-324.
- Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Herman AG, Van Maercke YM, 1993. Involvement of nitric oxide in the inhibitory innervation of the human isolated colon. *Gastroenterology* 104:690-697.
- Boyer JL, Romero-Avilla T, Schachter JB, Harden TK, 1996. Identification of competitive antagonists of the P2Y₁ receptor. *Mol Pharmacol.* 50: 1323-9.
- Burleigh DE, 1992. N^G-nitro-L-arginine reduces nonadrenergic, noncholinergic relaxations of human gut. *Gastroenterology* 102:679-683.
- Burnstock G, 1972. Purinergic nerves. *Pharmacol. Rev.* 24: 509-581.
- Burnstock G, 1997. The past, present and future of purine nucleotides as signalling molecules. *Neuropharmacol.* 36: 1127-1139.
- Burnstock G, 2006. Pathophysiology and therapeutic potential of purinergic signalling. *Pharmacol. Rev.* 58: 58-86.
- Burnstock G, 2007. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission. *Physiol. Rev.* 87: 659-797.
- Bültmann R, Trendelenburg M, Tuluc F, Wittenburg H, Starke K, 1999. Concomitant blockade of P2X-receptors and ecto-nucleotidases by P2-receptor antagonists: functional consequences in rat vas deferens. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 359: 339-344.
- Caterina MJ, Julius D, 2001. The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. *Ann. Rev. Neurosci.* 24: 487-517.
- Dockray GJ, 1994. Physiology of enteric neuropeptides. In: *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. 3rd ed., ed. Johnson LR; Raven Press, New York, pp. 169-209.
- Dunn PM, Blakeley AG, 1988. Suramin: a reversible P₂ purinoceptor antagonist in the mouse vas deferens. *Br. J. Pharmacol.* 93:243-245.
- Gallego D, Hernandez P, Clavé P, Jimenez M, 2006. P2Y1 receptors mediate inhibitory purinergic neuromuscular transmission in the human colon. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 291(4): G584-594.
- Galligan JJ, Bertrand PP, 1994. ATP mediates fast synaptic potentials in enteric neurons. *J. Neurosci.* 14: 7563-7571.
- Grider JR, Cable MB, Bitar KN, Said, SI, Makhlof, G, 1985. Vasoactive intestinal peptide. Relaxant neurotransmitter in taenia coli of the guinea-pig. *Gastroenterology* 89: 36-42.
- Kennedy I, Humphrey PP, 1994. Evidence for the presence of two types of P₂ purinoceptor in the guinea-pig ileal longitudinal smooth muscle preparation. *Eur. J. Pharmacol.* 261: 273-280.

- Lambrecht G, Friebe T, Grimm U, Windscheif U, Bungardt E, Hildebrandt C, Bäumert HG, Spatz-Kümbel G, Mutschler E, 1992. PPADS, a novel functionally selective antagonist of P₂-purinoceptor mediated responses. *Eur. J. Pharmacol.* 217: 217-219.
- Lecci A, Santicioli P, Maggi CA, 2002. Pharmacology of transmission to gastrointestinal muscle. *Current Opinion in Pharmacology* 2: 630-641.
- Maggi CA, Patacchini R, Santicioli P, Giuliani S, Turini D, Barbanti G, Beneforti P, Misuri D, Meli A, 1988. Specific motor effects of capsaicin on human jejunum. *Eur. J. Pharmacol.* 149: 393-395.
- Maggi CA, 1995. Tachykinins and calcitonin gene-related peptide (CGRP) as co-transmitters released from peripheral endings of sensory nerves. *Prog. Neurobiol.* 45: 1-98.
- Maggi CA, Barbanti G, Turini D, Giuliani S, 1991. Effect of N^G-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) and N^G-nitro-L-arginine (L-NOARG) on non-adrenergic, non-cholinergic relaxation in the circular muscle of the human ileum. *Br. J. Pharmacol.* 103: 1970-1972.
- Maggi CA, Giuliani S, Santicioli P, Patacchini R, Said SI, Theodorsson E, Turini D, Barbanti G, Giachetti A, Meli A, 1990a. Direct evidence for the involvement of vasoactive intestinal polypeptide in the motor response of the human isolated ileum to capsaicin. *Eur. J. Pharmacol.* 185: 169-178.
- Maggi CA, Santicioli P, Del Bianco E, Geppetti P, Barbanti G, Turini D, Meli A, 1989. Release of VIP- but not CGRP-like immunoreactivity by capsaicin from the human isolated small intestine. *Neurosci. Lett.* 98: 317-320.
- Maggi CA, Theodorsson E, Santicioli P, Patacchini R, Barbanti G, Turini D, Renzi D, Giachetti A, 1990b. Motor response of the human isolated colon to capsaicin and its relationship to release of vasoactive intestinal polypeptide. *Neuroscience* 39: 833-841.
- Moody CJ, Burnstock G, 1982. Evidence for the presence of P₁-purinoceptors on cholinergic terminals in the guinea-pig ileum. *Eur. J. Pharmacol.* 77: 1-9.
- Murr MM, Balsiger BM, Farrugia G, Sarr MG, 1999. Role of nitric oxide, vasoactive intestinal polypeptide, and ATP in inhibitory neurotransmission in human jejunum. *J. Surg. Res.* 84: 8-12.
- Said SI, Rattan S, 2004. The multiple mediators of neurogenic smooth muscle relaxation. *Trends Endocrinol. Metabol.* 15: 189-191.
- Smits GJM, Lefebvre RA, 1996. ATP and nitric oxide: inhibitory NANC neurotransmitters in the longitudinal muscle-myenteric plexus preparation of the rat ileum. *Br. J. Pharmacol.* 118: 695-703.
- Tam FS, Hillier K, 1992. The role of nitric oxide in mediating non-adrenergic non-cholinergic relaxation in longitudinal muscle of human taenia coli. *Life Sci.* 51:1277-1284.
- von Kügelgen I, Wetter A, 2000. Molecular Pharmacology of P₂Y receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 362: 310-323.
- Watt AJ, 1982. Direct and indirect effects of adenosine 5'-triphosphate on guinea-pig ileum. *Br. J. Pharmacol.* 77: 725-730.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Az alábbi személyeknek szeretném megköszönni az útmutatását, támogatását, segítségét és türelmét, melyet a PhD-értekezéshez vezető úton nyújtottak számomra:

Prof. Barthó Loránd

Dr. Benkó Rita

Dr. Wolf Mátyás

Dr. Pethő Gábor

A Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet munkatársai

Édesanyám, Édesapám, családom

Pethő Istvánné†

A PHD ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

- Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Barthó L, 2005. Effects of acute administration of and tachyphylaxis to α,β -methylene ATP in the guinea-pig small intestine. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 97: 369-373. IF: 1,5
- Barthó L, **Undi S**, Benkó R, Wolf M, Lázár Zs, Lénárd L Jr, Maggi CA, 2006. Multiple motor effects of ATP and their inhibition by PPADS in the small intestine of the guinea-pig. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 98: 488-495. IF: 1,8
- Undi S**, Benkó R, Wolf M, Illényi L, Horváth ÖP, Antal A, Csontos Z, Vereczkei A, Barthó L, 2006. Purinergic nerves mediate the non-nitroergic relaxation of the human ileum in response to electrical field stimulation. *Brain Research Bulletin* 71: 242-244. IF: 1,7
- Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Horváth ÖP, Antal A, Magyar K, Tóvölgyi Z, Barthó L, 2007. P₂ purinoceptor antagonists inhibit the NANC relaxation of the human colon in vitro. *Neuroscience*. 147:146-152. IF: 3,5
- Undi S**, Benkó R, Wolf M, Illényi L, Vereczkei A, Cseke L, Kelemen D, Horvath ÖP, Barthó L. 2009. The NANC relaxation of the human ileal longitudinal and circular muscles is inhibited by MRS 2179, a P_{2Y} purinoceptor antagonist. *Life Sciences* 84: 871-875.

EGYÉB, AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

- Barthó L, Benkó R, Patacchini R, Pethő G, Holzer-Petsche U, Holzer P, Lázár Zs, **Undi S**, Illényi L, Antal A, Horváth ÖP, 2004. Effects of capsaicin on visceral smooth muscle: a valuable tool for sensory neurotransmitter identification. *Eur. J. Pharmacol.* 500: 143-157. Review IF: 2,4
- Benkó R, Lázár Zs, **Undi S**, Illényi L, Antal A, Horváth ÖP, Rumbus Z, Wolf M, Maggi CA, Barthó L, 2005. Inhibition of nitric oxide synthesis blocks the inhibitory response to capsaicin in intestinal circular muscle preparations from different species. *Life Sciences* 76: 2773-2782. IF: 2,5
- Barthó L, **Undi S**, Benkó R, Wolf M, 2005. Ideg-simaizom transzmitterek a gyomor-bélhuzamban: A motilitászavarok lehetséges háttere. *Praxis* 14 (12): 14-19.
- Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Magyar K, Tóvölgyi Z, Rumbus Z, Barthó L, 2006. P₂ purinoceptors account for the non-nitroergic NANC relaxation in the rat ileum. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 373: 319-324. IF: 2,8
- Barthó L, Benkó R, Holzer-Petsche U, Holzer P, **Undi S**, Wolf M, 2008. Role of extrinsic afferent neurone in gastrointestinal motility. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 12(S 1): 21-31 Review

Wolf M, Benkó R, **Undi S**, Dekany A, Illényi L, Papp A, Varga G, Zapf I, Barthó L, 2009. In vitro pharmacology of inosine, with special reference to possible interactions with capsaicin-sensitive mechanisms and inflammatory mediators. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 31(6): 359-366.

A PHD ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ ABSZTRAKTOK

Undi S, Benkó R, Wolf M, Magyar K, Barthó L. Effect of a guanylate cyclase inhibitor on smooth muscle responses due to electrical field stimulation (EFS) and on the peristaltic reflex. *Inflammopharmacology*, 2005, 13(5-6): 572-573.

Undi S, Benkó R, Wolf M, Lázár Zs, Lénárd L Jr., Maggi CA, Barthó L. Effects of ATP and alpha, beta-methylene ATP (ABMA) and their inhibition by PPADS in the non-stimulated and field-stimulated guinea-pig ileum. *Acta Pharmacologica Sinica* 2006, 27S 1:111.

Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Magyar K, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Horváth OP, Antal A, Barthó L. NO and ATP co-mediate the non-adrenergic, non-cholinergic (NANC) relaxation in the human colon and rat ileum. *Acta Pharmacologica Sinica* 2006, 27S 1:110-111.

Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Barthó L. Nitrergic-purinergetic interactions in the guinea-pig, rat, and human intestine. *Acta Physiologica Hungarica*, 2005, 92(3-4): 244-245.

Az értekezés témájához kapcsolódó kongresszusi szereplések

Benkó R, Lázár Zs, **Undi S**, Rumbus Z, Wolf M, Barthó L. A nitrogén-monoxid szerepe a kapszaicin hatásában különböző fajok bél körkörös izomzatán. *A Magyar Élettani Társaság (MÉT) kongresszusa, Debrecen, 2004. június 7-9.*

Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Barthó L. Nitrergic-purinergetic interakciók tengerimalac-, patkány- és humán izolált bélen. *A Magyar Élettani Társaság (MÉT) kongresszusa, Budapest, 2005. június 2-4.*

Barthó L, Benkó R, **Undi S**, Pethő G. Sensory neurotransmitters and modulators: the basis of analgesic research. *1st BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences, Siófok, Hungary, September 26-28, 2005.*

Undi S, Benkó R, Wolf M, Magyar K, Barthó L. A guanilát-cikláz gátló ODQ hatása az elektromos téringerléssel kiváltott simaizom-válaszokra és a perisztaltikus reflexre. *A Magyar Experimentális Farmakológia Tavasz Szimpóziuma, Budapest, 2005. 06.06-07.*

Wolf M, **Undi S**, Benkó R, Magyar K, Tóvölgyi Z, Barthó L. Egy guanilát-cikláz gátló vegyület hatása az elektromos téringerléssel kiváltott simaizom-válaszokra és a perisztaltikus reflexre. *A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXX. Vándorgyűlése, Szeged, 2006. június 7-9.*

Undi S, Wolf M, Benkó R, Illényi L, Cseke L, Kassai M, Vereczkei A, Horváth ÖP, Antal A, Barthó L. Purinergetic gátló válasz humán ileumon. *A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXX. Vándorgyűlése, Szeged, 2006. június 7-9.*

Undi S, Wolf M, Benkó R, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Antal A, Horváth ÖP, Barthó L. P₂ purinoceptor antagonisták gátló hatása human colon NANC relaxációjára *in vitro*. *A Magyar Experimentális Farmakológia Szimpóziuma, Pécs, 2006. június 3.*

Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Magyar K, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Horváth ÖP, Antal A, Barthó L. NO and ATP co-mediate the non-adrenergic, non-cholinergic (NANC) relaxation in the human colon and rat ileum. *15th World Congress of Pharmacology, IUPHAR, Kína, Peking, 2006. július 2-7.*

Undi S, Benkó R, Wolf M, Lázár Zs, Lénárd LJr, Maggi CA, Barthó L. Effects of ATP and alpha, beta-methylene ATP (ABMA) and their inhibition by PPADS in the non-stimulated and field-stimulated guinea-pig ileum. *15th World Congress of Pharmacology, IUPHAR, Kína, Peking, 2006. július 2-7.*

Undi S, Wolf M, Benkó R, Illényi L, Cseke L, Kassai M, Vereczkei A, Horváth ÖP, Antal A, Barthó L. Purinergic nerves mediate the non-nitrogenic relaxation of the human ileum in response to electrical field stimulation. *A Magyar Experimentális Farmakológia Tavasz Szimpóziuma, Budapest, 2007. június 1-2.*

Wolf M, **Undi S**, Benkó R, Barthó L. NANC inhibitory mechanisms of the guinea-pig and the rat sigmoid colon. *A Magyar Experimentális Farmakológia Tavasz Szimpóziuma, Budapest, 2007. június 1-2.*

Barthó L, Benkó R, **Undi S**, Wolf M. Effects of capsaicin on smooth muscles *in vitro*: a valuable tool for identifying sensory neurotransmitters. *A Magyar Experimentális Farmakológia Tavasz Szimpóziuma, Budapest, 2007. június 1-2.*

Undi S, Wolf M, Benkó R, Barthó L. A hidrogén-szulfid (H₂S) hatásai zsigeri simaizom preparátumokon. *A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXXI. Vándorgyűlése, Pécs, 2007. június 6-8.*

Wolf M, **Undi S**, Benkó R, Barthó L. Nem adrenerg, nem-kolinerg (NANC) válaszok mechanizmusainak vizsgálata tengerimalac- és patkány szigmbél preparátumokon. *A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXXI. Vándorgyűlése, Pécs, 2007. június 6-8.*

Benkó R, Wolf M, **Undi S**, Rapp H, Maggi CA, Barthó L. Is VIP involved in nerve-mediated relaxations of the human colonic circular muscle? *European Opioid Conference- European Neuropeptide Club, Ferrara, Italy, April 8-11, 2008.*

A jelölt egyéb publikációi:

A PhD-értekezéssel összefüggésben nem álló közlemények

Király Á, Csizmadia Cs, **Undi S**, Illés A, Nagy L. A gastrooesophagealis reflux betegség (GERD) diagnosztikája és gyógyszeres kezelése. *Granum, 2004. június, 5-9, különszám*

Király Á, **Undi S**, Illés A. A funkcionális obstipatio diagnosztikus és terápiás lehetőségei. *Granum, 2005. szeptember, 37-41.*

Király Á, Illés A, **Undi S**. A nem erozív reflux betegség. *Granum, 2005. szeptember, 31-35.*

Király Á, Illés A, **Undi S**, Varga G, Kalmár K, Horvath ÖP, 2005. Gastroesophageal reflux disease progressing to achalasia. *Disease of the Esophagus, 18(5):355-358.* IF:0,9

Király Á, Csizmadia Cs, Illés A, **Undi S**. A visceralis hyperaesthesia vizsgálata irritábilis bél szindrómában. *Orvosi Hetilap, 2006, 147 (9): 421-426.*