

## A glutamin és a nitrogén-monoxid szerepe a vastagbél elzáródást követő motilitás változásokban

Dr. Palásthy Zsolt Ph.D. disszertációjának összefoglalója



A hasi műtéteket követő posztoperatív időszakban gyakran észlelhető a belek motilitászavara - a beavatkozások okától, típusától függetlenül. A szövődmény kialakulásának háttérében lévő kórfolyamatok kevésbé ismertek, a paralytikus ileus sikeres kezelési lehetőségei ezért igen korlátozottak. A bélrendszer perisztaltikája komplex vegetatív idegrendszeri szabályozás alatt áll, mely döntően kolinerg ingerületátvitel révén valósul meg. Az utóbbi években azonban számos olyan közlemény látott napvilágot, melyek adatai alapján valószínűnek látszik, hogy a kolinerg szabályozást számottevően befolyásolhatja több más, kiegészítő mechanizmus is.

A fentiek tisztázása kísérletes modellek segítségével nem egyszerű. A kialakuló motilitás változásokban ugyanis fontos szerepük lehet a gyulladásos reakció alatt lokálisan felszabaduló mediátoroknak, melyek jelentősen befolyásolhatják az idegsejtek működését. A béltraktus gyulladásos állapotainak állatkísérletes modellezése alkalmas lehet a gyulladás szabályozó folyamatok megfigyelésére, többségük azonban - az alkalmazott kémiai stimulusok révén - befolyásolja a motilitást is, s így valójában nem alkalmasak arra, hogy a perisztaltika és a gyulladás kapcsolatát érdemben tanulmányozzuk. Bizonyított azonban, hogy a béllumen elzáródása nemcsak a perisztaltika megváltozásához, hanem a bélnyálkahártya permeabilitásának fokozódása révén számottevő gyulladásos reakcióhoz is vezet. Kísérleteinkben az akut vastagbél elzáródás modelljét alkalmaztuk, mely segítségével normál (élettani) és kóros (ileus) állapotokban egyaránt tanulmányozhattuk a belek motilitásának időbeli változásait.

Vizsgálataink fő célja az volt, hogy megvizsgáljuk a nitroerg- és glutaminerg szabályozás szerepét a vastagbél elzáródás következtében kialakuló motilitás változásokban. A nitrogén-monoxid (NO) szerepére számos adat utalt. A bélfal submucosus és myenterikus plexusaiban jelenlévő neuronális NO szintáz (NOS) a konstitutív NO nagy részét termeli, de a gyulladásos kaskád-folyamatok során induktív módon képzett többlet NO közvetlenül gátolja a bélfal simaizomzatának kontraktilitását. Ennek megfelelően kísérleteink első sorozatában összehasonlítottuk a szelektív és a nem-szelektív neuronális NOS gátlók hatását a kísérletes vastagbél elzáródás kapcsán kialakuló motilitás változásokban.

Másodsorban azt feltételeztük, hogy a glutamin – a központi idegrendszer fontos ingerlő neurotranszmittere – valószínűleg az enterális idegrendszerben (ENS) is jelátviteli szerepet kaphat. Számos publikáció utalt arra, hogy a glutamin által közvetített folyamatok befolyásolhatják az enterális idegrendszer kolinerg ingerület-átvitelét is. Az N-metil-D-aszpartát (NMDA) szenzitív glutamin receptorok jelentését igazolták az enterális kolinerg neuronokon, s emellett a megfelelő inger hatására glutamin felszabadulását mutatták ki. A központi idegrendszer excitotoxikus megbetegedéseiben az NMDA receptor egyik endogén antagonistájának, a kinurénsavnak, védő hatása van. Következésképp feltételeztük, hogy az enterális glutamin receptorok kinurénsavval történő gátlása befolyásolhatja a gastrointestinalis traktus perisztaltikáját is az ileust követően.

Kísérleteinket beltenyésztett keverék kutyákon végeztük, általános érzéstelenítés alatt. A haránt vastagbél középső harmadának elzáródását mechanikus okklúzióval hoztuk létre, majd ezt követően 7 órán keresztül folytattuk a megfigyeléseket. A flexura hepatica és a flexura lienalis területére nyúlásmérő bélyegeket varrtunk az orális és aboralis motilitás változások analízise céljából. A vastagbél motilitás indexét számítógépes adatrögzítéssel és feldolgozással, a rögzített motilitás görbe alatti terület időintegráljaként adtuk meg. Meghatároztuk a „giant migrating contraction”(GMC) amplitúdót és frekvenciát, míg a colon izomtónusát a motilitás görbe minimumpontjainak átlaga alapján adtuk meg. A konstitutív NOS (cNOS) és induktív NOS (iNOS) aktivitás meghatározása szöveti biopsziákból történt, a plazma nitrit/nitrát ( $\text{NO}_x$ ) szintjét a vena portae-ból nyert vérmintákból mértük. Az alapmegfigyeléseket követően az állatokat N-nitro-L-argininnal (NNA, nem szelektív NOS gátlószer), vagy 7-nitro-indazollal (7-NI, szelektív neuronális NOS gátlószer) kezeltük.

Kísérleteink második sorozatában célunk a vastagbél elzáródást követő következményes gyulladási reakciók és a motilitás változások együttes tanulmányozása, valamint a kinurénsav kezelés fentiekre vonatkozó hatásainak megfigyelése volt. A hemodinamika és a motilitás paramétereit monitoroztuk, a szöveti leukocita akkumulációra a myeloperoxidase (MPO) enzim aktivitás változásokból következtettünk.

Első kísérletsorozatunk eredményei azt igazolták, hogy az NO komplex szerepet játszik a vastagbél obstrukciót követő motilitás változásokban. A bélelzáródás után a colon motilitási indexe szignifikánsan növekedett, ezt a kialakuló gyulladási reakció jeleiként hyperdinamias keringési reakció, valamint emelkedett MPO aktivitás kísérte. Az álműtött csoportban a cNOS aktivitása szignifikánsan különbözött az orális és aboralis szövetmintákban (oralis: 102.9; vs aboralis: 62.1 fmol/mg protein/min). Az obstrukció a plazma  $\text{NO}_x$  szintjének emelkedését váltotta ki és fokozta a szöveti iNOS aktivitást is. Az NNA kezelés mérsékelte a plazma  $\text{NO}_x$

szintjének emelkedését és csökkentette a cNOS és iNOS aktivitást. A motilitási index az első órában mindkét bélszakaszon csökkent, majd ezt követően szignifikánsan megemelkedett. A 7-NI kezelés orálisan 40%-kal, aboralisan 70%-kal csökkentette a cNOS aktivitást és gátolta az obstrukció által kiváltott motilitás fokozódást.

Kísérleteink második sorozatában a kinurénsav kezelés szignifikánsan gátolta az obstrukció által indukált motilitási index növekedést, fokozta a vastagbél simaizomzatának tónusát és csökkentette a GMC-k amplitúdóját. Az NMDA glutamin receptor antagonistá kezelési hatását összehasonlítva a nem kezelt obstrukciós csoporttal, szignifikánsan mérsékelt vastagbél MPO aktivitást észleltünk. Ezek az eredmények azt igazolták, hogy a kinurénsav gátolja az obstrukció által kiváltott vastagbél motilitás változásokat, és egyben protektív, gyulladáscsökkentő hatású.

*Összességében* tehát elmondhatjuk, hogy eredményeink az NO kettős szerepét igazolták a heveny vastagbél obstrukciót követően kialakuló motilitás változások kórfolyamatában.

1. A neuronális eredetű NO olyan transzmitter, amely stimulálja a vastagbél perisztaltikát, mivel a nem-szelektív NOS gátlószer átmenetileg gátolta a motilitást, míg a szelektív neuronális NOS gátlószer hosszú hatású motilitás csökkenést okozott.

2. A nem specifikus NOS gátlószer szignifikáns és tartós motilitás növekedéshez vezetett.

3. Az akut vastagbél elzáródást kísérő szeptikus folyamatok velejárója a szignifikáns - de az orális és aborális bélszakaszokon eltérő - mennyiségben termelődő inductív eredetű NO jelenléte, mely az iNOS/nNOS arány jelentékenyen emelkedéséhez vezethet, ennélfogva mérsékelheti az elzáródás következtében kialakult motilitás fokozódást.

4. További eredményeink azt igazolják, hogy a glutamin receptorok serkentő jelleggel járulnak hozzá a vizsgált időszak motilitási összképéhez, mivel a nem-szelektív NMDA receptor antagonistá kezelési szignifikánsan csökkentette a motilitási indexet és a GMC-k amplitúdóját.

5. A kinurénsav gátolja az obstrukció által kiváltott vastagbél motilitás változásokat kísérő gyulladáshoz vezető reakciót.

Bár további vizsgálatok mindenképpen szükségesek kísérletei eredményeink humán alkalmazásához, eredményeink azt sugallják, hogy a megfelelő szelektivitású NOS izoenzim inhibitor kezelési, valamint az NMDA receptorok gátlása hasznos kiegészítő elem lehet a colon excitotoxikus, dysmotilitással és gyulladással járó kórállapotainak kezelésében.