

A GYOMORNYÁLKAHÁRTYA INTEGRITÁSBAN SZEREPET JÁTSZÓ CENTRÁLIS MECHANIZMUSOK ANALÍZISE

GYIRES KLÁRA, ZÁDORI ZOLTÁN

Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Budapest

ÖSSZEFOGLALÁS

A β -endorphin, deltorphin II, [D-Ala², Phe⁴, Gly⁵-ol]-enkephalin (DAGO), valamint endomorphin-1 és endomorphin-2 agykamrába (icv.) injiciálva gyomorvédő hatást indukálnak. Felvetődött, hogy az endogén opioidok centrális szerepet töltenek be a gyomornyálkahártya integritásának fenntartásában. Ezért vizsgáltuk az opioid rendszer szerepét az α 2-adrenoceptor-, nociceptin- és cannabinoid-receptorok által indukált gyomorvédelemben. Eredményeink szerint a nem szelektív opioid receptor antagonistá naloxon (27 nmol icv.) és a δ -opioid receptor antagonistá naltrindol (5 nmol icv.) felfüggesztette az α 2-adrenoceptor agonista clonidin (470 pmol icv.) és rilmenidin (45 pmol icv.), a nociceptin (1 nmol icv.) illetve a cannabinoid receptor agonista anandamid (110 nmol icv.) gasztroprotektív hatását. Ennek alapján felvetődött, hogy az opioid rendszer – a már ismert regulatorikus funkciói mellett – szereppel bír a gyomor mukozális integritásának fenntartásában is.

KULCSSZAVAK: gyomornyálkahártya védelem, opioidok, clonidin, rilmenidin, nociceptin, anandamid, patkány

ANALYSIS OF CENTRAL MECHANISMS INVOLVED IN GASTRIC MUCOSAL INTEGRITY

β -endorphin, deltorphin II, [D-Ala², Phe⁴, Gly⁵-ol]-enkephalin (DAGO) as well as endomorphin-1 and endomorphin-2 injected intracerebroventricularly (icv.) induced gastroprotective action. It has been raised that endogenous opioids may have a central role in maintaining gastric mucosal integrity. Therefore we aimed to study the role of endogenous opioid system in the gastroprotective action induced by activation of α 2-adrenoceptors, nociceptin- and cannabinoid-receptors. Our results suggest that the non-selective opioid receptor antagonist naloxone (27 nmol icv.) and the δ -opioid receptor antagonist naltrindole (5 nmol icv.) abolished the mucosal protective effect of α 2-adrenoceptor agonists clonidine (470 pmol icv.) and rilmenidine (45 pmol icv.), nociceptin (1 nmol icv.) and the cannabinoid receptor agonist anandamide (110 nmol icv.). Based on our findings it can be raised that opioid system besides its well known regulatory functions might be involved in maintenance of gastric mucosal integrity.

KEYWORDS: gastroprotection, opioid system, clonidine, rilmenidine, nociceptin, anandamide, rat

A gyomornyálkahártya integritása az agresszív és protektív tényezők egyensúlyának az eredménye. Az agresszív tényezők dominanciája, vagy a protektív faktorok csökkenése fekélyképződéshez vezethet. A fekély terápia a „nil acid- nil ulcer” elven alapul, hisz a terápia központjában a szekréció-gátló vegyületek – hisztamin H₂ receptor

blokkolók és proton pumpa gátlók – állnak (szükség esetén kombinálva a Helicobacter pylori eradikációjára használatos antibakteriális vegyületekkel). Azonban a fekély kifejlődhet normo-, sőt hiposzekréció esetén is. Továbbá a vérzéses szövődmények illetve a stressz fekély letalitása ma is igen magas, a szekréciógátló vegyületek alkalmazása ellenére is (Yacyshyn, Thomson, 2000; Van Leerdam és mtsai, 2003; Nagy és Juhász, 2003; Rácz, 2004). Így fontos feladat a védelemben szerepet játszó endogén faktorok további

RÖVIDÍTÉSEK:

icv.: intracerebroventricularis

DAGO: [D-Ala², Phe⁴, Gly⁵-ol]-enkephalin

elemzése és fokozásukra irányuló lehetőségek további kutatása. Számos mediátor/modulátorról (nitrogénmonoxid, H₂S, prostaglandinok, lipoxinok, polyaminok, calcitonin gene-related peptide, protease-aktivált receptorok, adrenomedullin) írták le, hogy szerepet játszhatnak a mukozális integritás fenntartásában és a mukozális védelemben (Coruzzi és mtsai, 2007).

A védelem fokozása kísérletesen lehetséges mind perifériás, mind centrális támadásponttal. A központi idegrendszer szerepe a gyomornyálkahártya integritásában már régen ismert, hisz számos megfigyelés igazolta, hogy a központi idegrendszerben kialakuló léziók, traumák a nyálkahártya károsodását eredményezik. Továbbá, ma is jelentős, nem megoldott kérdés az intenzív osztályokon fekvő súlyos állapotú betegeken kialakuló stressz fekély.

A központi idegrendszer nyálkahártya integritásában betöltött szerepének intenzív farmakológiai analízise a 90-es évek közepén kezdődött. Ekkor Tache és munkacsoportja (1994) igazolták, hogy a thyreotrop releasing hormon (TRH) ill. stabil analógja, az RX-77368 intraciszternálisan ill. a dorzális vagusmagba injiciálva gasztroprotektív hatást indukál kísérletes fekélyvel szemben. A hatás kialakulásához a vagus ideg integritása szükséges, u.i. vagotomia a hatást felfüggesztette. Ezt követően számos neuropeptidről, pl. adrenomedullin, amylin, neurotensin, peptide YY, opioid peptidek, igazolást nyert, hogy ugyancsak protektív hatást fejtenek ki a kísérletes fekélyvel szemben centrálisan injiciálva (Kaneko és mtsai, 1998; Guidobono és mtsai, 1998; Yang és mtsai, 1999; Gyires és Rónai, 2001). Gasztroprotektív hatás volt indukálható továbbá a centrális α 2-adrenoceptorok (Gyires és mtsai, 2000), nociceptin-, nocistatin- (Morini és mtsai, 2005; Zádori és mtsai 2007) és cannabinoid- (Shujaa és mtsai, 2007) receptorok aktiválásával.

A jelen munka célkitűzése az opioid rendszer mukozális védelemben betöltött szerepének analízise. Az már korábban igazolást nyert, hogy opioid peptidek gasztroprotektív hatást indukálnak mind perifériás (Gyires és mtsai 1997), mind centrális támadásponttal (Gyires és Rónai, 2001). A jelen vizsgálat sorozat célja az opioid receptor agonisták valamint nem opioid vegyületek (α 2-adrenoceptor stimulánsok, nociceptin, cannabinoidok) gasztroprotektív hatásában a centrális opioid komponens részvételének az analízise. Munkahi-

potézisünk szerint ugyanis az endogén opioid rendszer alapvető szereppel bír – egyéb szabályzó funkciói mellett – a gyomor-bél rendszer integritásának fenntartásában is.

MÓDSZEREK

Vegyületek

Anandamid, β -endorphin, clonidin, nociceptin/OFQ, naloxon, naltrindol, rilmenidin hemifumarat (Sigma Chemical Co, St. Louis, Mo, USA), [D-Ala²,Phe⁴,Gly⁵-ol-enkephalin (DAGO, szintetizálta Magyar A, Eötvös L. Tudományegyetem, Budapest), deltorphin II, endomorphin-1, endomorphin-2 (szintetizálta Tóth G, MTA Szegedi Biológiai Kutató Központ).

Alkohol-okozta gyomornyálkahártya károsodás – sav-independens fekély modell

A kísérleteket hím Wistar patkányokon (160-180 g) végeztük. 24 órás éhezést követően a patkányok 0,5 ml abszolút alkoholt kaptak orálisan. 60 perc múlva az állatokat túlaltattuk, gyomrukát eltávolítottuk és a nagygörbület mentén történő megnyitást követően a nyálkahártyán található makroszkópos léziókat értékeltük (Gyires, 1990).

A vegyületeket icv. injiciáltuk az alkohol beadását megelőzően 10 ill. 20 perccel.

Statisztikai módszerek

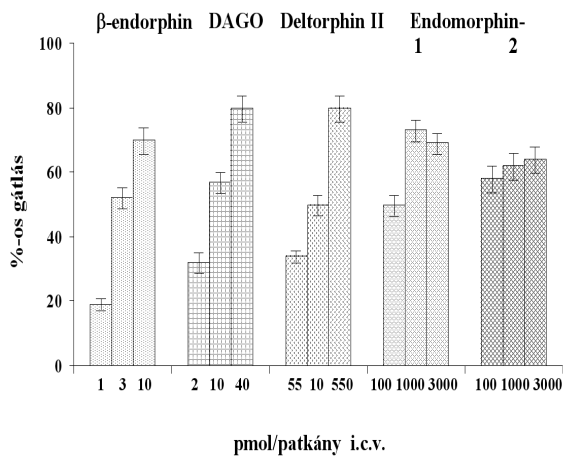
Az eredmények statisztikai analízise az ANOVA módszerrel és Newman-Keuls post hoc teszttel történt. A kísérleteket az EU ide vonatkozó irányelveinek (86/609/EK) betartásával a Semmelweis Egyetem, Budapest, Állatkísérletes Bizottságának engedélye alapján végeztük (eng.szám: 1810/003/2004).

EREDMÉNYEK

A DAGO, deltorphin II, β -endorphin, endomorphin-1 és endomorphin-2 gasztroprotektív hatása icv. adást követően alkoholos fekélymodellen.

Az 1. ábra az opioid peptidek dózis-függő gátló hatását mutatja be az alkoholos fekélymodellen icv. adás során. A hatáserősségi sorrend: β -endorphin>DAGO>deltorphin II \approx endomorphin-1 \approx endomorphin-2.

1. ábra. A β -endorphin, DAGO, deltorphin II, endomorphin-1 és endomorphin-2 gasztroprotektív hatása icv. adást követően alkoholos fekélymodellen patkányon

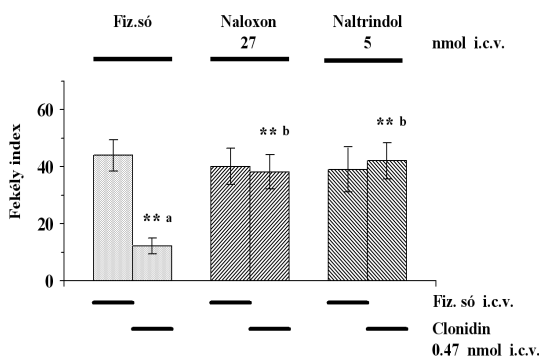


Az oszlopok a vegyületek %-ban kifejezett gátló hatását és ehhez az átlaghoz tartozó szórását (átlag \pm S.E.M.) jelölik (n=5).

A naloxon és naltrindol hatása a clonidin és rilmenidin gasztroprotektív hatására icv. adást követően

A 2. és 3. ábra demonstrálja a nem szelektív opioid receptor antagonistá naloxon és a δ -opioid receptor antagonistá naltrindol hatását az α -2-adrenoceptor agonista clonidin és rilmenidin gasztroprotektív hatására. A clonidin és rilmenidin 470 ill. 45 pmol/patkány icv. dózisokban jelentős gátlást fejtett ki az alkohol- okozta léziók kialakulására. A gasztroprotektív hatást mind a naloxon (27 nmol icv.), mind a naltrindol (5 nmol icv.) antagoizálta.

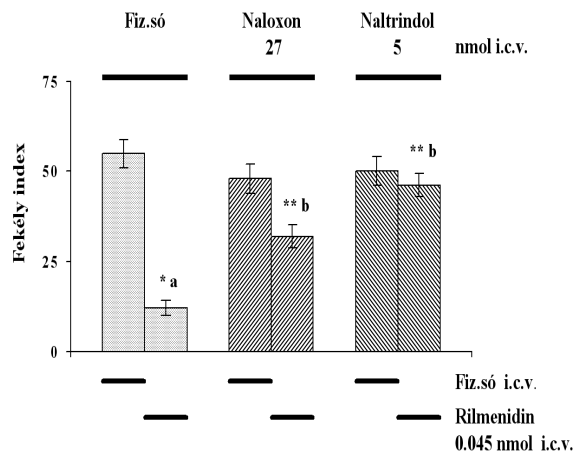
2. ábra. A naloxon (27 nmol icv.) és naltrindol (5 nmol icv.) hatása a clonidin (0.47 nmol icv.) gasztroprotektív hatására alkoholos fekélymodellen patkányon



Az oszlopok az egyes csoportokban mért fekély indexek átlagát és a középérték szórását (átlag \pm S.E.M.) jelölik. n=5; ** p<0.01

a: 1. oszlophoz viszonyítva, b: 2. oszlophoz viszonyítva

3. ábra. A naloxon (27 nmol icv.) és naltrindol (5 nmol icv.) hatása a rilmenidin (0.045 nmol icv.) gasztroprotektív hatására icv. adást követően alkoholos fekélymodellen patkányon



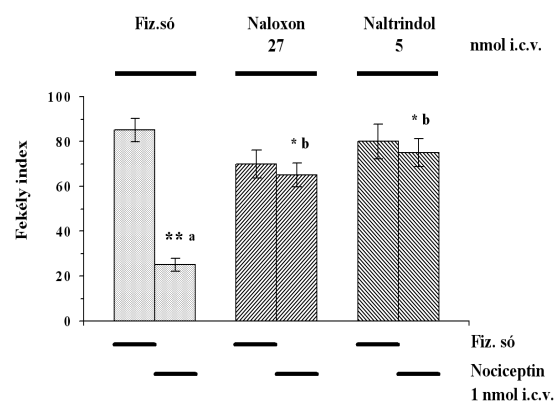
Az oszlopok az egyes csoportokban mért fekély indexek átlagát és a középérték szórását (átlag \pm S.E.M.) jelölik. n=5; * p<0.05, ** p<0.01

a: 1. oszlophoz viszonyítva, b: 2. oszlophoz viszonyítva.

A naloxon és naltrindol hatása a nociceptin/OFQ gasztroprotektív hatására icv. adást követően

A nociceptin 1 nmol/patkány dózisban gátló hatást fejtett ki az alkohol- okozta mukozális léziókra. A dózis kiválasztása korábbi kísérleteinken alapult. Ezt a védőhatást mind a naloxon (27 nmol icv.), mind a naltrindol (5 nmol icv.) felfüggesztette (4. ábra).

4. ábra. A naloxon (27 nmol icv.) és naltrindol (5 nmol icv.) hatása a nociceptin (1 nmol) gasztroprotektív hatására icv. adást követően alkoholos fekélymodellen patkányon



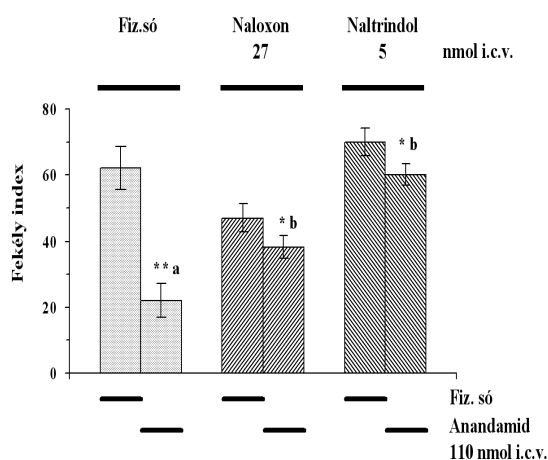
Az oszlopok az egyes csoportokban mért fekély indexek átlagát és a középérték szórását (átlag \pm S.E.M.) jelölik. n=5; * p<0.05, ** p<0.01

a: 1. oszlophoz viszonyítva, b: 2. oszlophoz viszonyítva

A naloxon és naltrindol hatása az anandamid gasztroprotektív hatására icv. adást követően

Az anandamid 110 nmol icv. dózisban szignifikáns mértékben gátolta az alkohol-indukálta mukozális léziókat. Az anandamid centrálisan indukált gasztroprotektív hatását az icv. injiciált naloxon (27 nmol) és naltrindol (5 nmol) felfüggesztette (5. ábra).

5. ábra. A naloxon (27 nmol icv.) és naltrindol (5 nmol icv.) hatása az anandamid (110 nmol) gasztroprotektív hatására icv. adást követően alkoholos fekélymodellen patkányon



Az oszlopok az egyes csoportokban mért fekély indexek átlagát és a középérték szórását (átlag±S.E.M.) jelölik.

n=5; * p<0.05; ** p<0.0;

a: 1. oszlophoz viszonyítva, b: 2. oszlophoz viszonyítva

MEGBESZÉLÉS

Az endogén opioid rendszer számos fiziológiai és patofiziológiai folyamatban (pl. a fájdalomérzés, stressz, vérnyomás szabályozás, étvágy, immunológiai folyamatok) szerepet játszik.

Kísérleti eredményeink szerint mind a perifériás, mind a centrális opioid receptorok aktiválása gasztroprotektív hatást indukál (Gyires és mtsai, 1997; Gyires és Rónai, 2001). Jelen vizsgálatsorozatban az opioid peptidek hatásának analizését kiterjesztettük a legújabban leírt opioid peptidek, a szelektív μ -opioid receptorokon ható endomorphinok (Zadina és mtsai, 1997) hatásának vizsgálatára. Eredményeink szerint az endomorphinok 100 pmol icv. dózisban 50%-nál nagyobb gasztroprotektív hatást fejtenek ki az alkohol-okoza léziókkal szemben.

Felvetődött a kérdés, hogy egyéb központi idegrendszeri támadásponttal ható gasztroprotektív hatású vegyületek esetében az opioid rendszer nem játszik-e szerepet a védőhatás mechanizmusában. Eredményeink alapján az α_2 -adrenoceptor stimuláns clonidin és rilmenidin, a nociceptin ill. az endogén cannabinoid, az anandamid gasztroprotektív hatást indukálnak centrális támadásponttal. Ezen vegyületek opioid rendszerrel való interakcióját az irodalmi adatok néhány hatás (pl. vérnyomás csökkenés, analgesia) vonatkozásában alátámasztják (Giersbergen és mtsai, 1989; Gintzler és mtsai, 1997; Pietras és mtsai, 2002; Tallett és mtsai, 2008). A mukozális védelemben ugyancsak sikerült igazolni ezt az interakciót, ui. eredményeink szerint mind az α_2 -adrenoceptor stimulánsok-, mind a nociceptin- és cannabinoid-indukálta mukozális védőhatást a nem szelektív opioid antagonistá naloxon és a δ -opioid receptor szelektív antagonistá naltrindol felfüggesztette. További megerősítést jelentett az α_2 -adrenoceptorok és opioid rendszer közötti összefüggésre, hogy a clonidin gasztroprotektív hatását a β -endorphin anti-szérum antagonizálta (Gyires és mtsai, 2000).

Összefoglalva, eredményeink bizonyították, hogy az α_2 -adrenoceptor stimulánsok, nociceptin és anandamid centrális mechanizmussal gyomorvédelmet indukálnak. A védőhatás mediálásában az endogén opioid rendszer szerepet játszik. Így felvethető, hogy az endogén opioidok a már ismert regulatorikus funkciójuk mellett részesei egy új szabályzó rendszernek, mely a gyomor mukozális integritásának fenntartásában bír jelentőség-gel.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetüket fejezik ki Szalai Istvánné, Peter Sámuel és Dr. Wachtl Istvánné asszisztenseknek a kísérletek kivitelezésében nyújtott kiváló munkájukért.

A munkát támogatta az ETT 529/2006 és az NKTH, Szentágothai Tudásközpont.

Levelezési cím:

Dr. Gyires Klára

Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet,

Semmelweis Egyetem,

Általános Orvostudományi Kar

1089 Budapest, Nagyvárad tér 4.

E-mail: gyirkla@pharma.sote.hu

IRODALOM

Coruzzi G, Venturi N, Spaggiari S (2007): Gastrointestinal safety of novel nonsteroidal antiinflammatory

drugs: selective COX-2 inhibitors and beyond. Acta Biomed 78: 96-110.

Gintzler AR, Adapa ID, Toll L, Medina VM, Wang L (1997): Modulation of enkephalin release by nociceptin (or-

phanin FQ). Eur J Pharmacol 325: 29-34.

Guidobono F, Pagani F, Ticozzi C, Netti C (1998): Investigation on the mechanisms involved in central pro-

- tective effect of amylin on gastric ulcers in rats. *Br J Pharmacol* 125: 23-28.
- Gyires K (1990): Morphine inhibits the ethanol-induced gastric damage in rats. *Arch. int Pharmacodyn Ther* 306: 170-181.
- Gyires K, Rónai AZ, Tóth G, Darula Zs, Fürst S (1997): Analysis of the role of opioid delta receptors in gastroprotection. *Life Sci* 60: 1337-1347.
- Gyires K, Rónai AZ, Müllner K, Fürst S (2000): Intracerebroventricular injection of clonidine releases beta-endorphin to induce mucosal protection in the rat. *Neuropharmacology* 39: 961-968.
- Gyires K, Rónai AZ (2001): Supraspinal delta- and mu-opioid receptors may mediate gastric mucosal protection. *J Pharm Exp Ther* 297: 1010-1015.
- Kaneko H, Mitsuma T, Nagai H, Mori S, Iyo T, Kusugami K, Tache Y (1998): Central action of adrenomedullin to prevent ethanol-induced gastric injury through vagal pathways in rats. *Am J Physiol* 274: 1783-1788.
- Morini G, De Caro G, Guerrini R, Massi M, Polidori C (2005): Nociceptin/orphanin FQ prevents ethanol-induced gastric lesions in the rat. *Regul. Pept.* 124: 203-207.
- Nagy Gy, Juhász L (2003): Jelentés a 2002. évi magyarországi gasztroenterológiai endoszkópos tevékenységről. *LAM* 13: 436-437.
- Pietras TA, Rowland NE (2002): Effect of opioid and cannabinoid receptor antagonism on orphanin FQ-induced hyperphagia in rats. *Eur J Pharmacol.* 442: 237-239.
- Rácz I (2004): A gastroduodenalis fekélyek akut vérzéseinek diagnosztikája és terápiája; a stresszfékély profilaxisa. *LAM* 14: 19-25.
- Shujaa N, Zádori ZS, Al-Khrasani M, Fürst S, Wenger T, Gyires K (2007): The role of cannabinoid CB1 receptor agonists in gastric mucosal protection in rats and mice. *BMC Pharmacology* 7 (Suppl 2): A47.
- Tache Y, Yoneda M, Kato K, Király Á, Sütő G, Kaneko H (1994): Intracisternal thyrotropin-releasing hormone-induced vagally mediated gastric protection against ethanol lesions: central and peripheral mechanism. *J Gastroenterol Hepatol* 9 Suppl. 1: 29-35.
- Tallett AJ, Blundell JE, Rodgers RJ (2008 megjelenés előtt): Endogenous opioids and cannabinoids: System interactions in the regulation of appetite, grooming and scratching. *Physiol Behav.*
- Van Giersbergen PL, Roording P, De Lang H, De Jong W (1989): Participation of opiate receptors located in the nucleus tractus solitarii in the hypotension induced by -metyldopa. *Brain Res* 498: 154-158.
- Van Leerdam ME, Vreeburg EM, Rauws EA, Geraedts AA, Tijssen JG, Reitsma JB, Tytgat GN (2003): Acute upper GI bleeding: did anything change? Time trend analysis of incidence and outcome of acute upper GI bleeding between 1993/1994 and 2000. *Am J Gastroenterol* 98: 1494-1499.
- Yang H, Kawakubo K, Tache Y (1999): Intracisternal PYY increases gastric mucosal resistance: role of cholinergic, CGRP and NO pathways. *Am J Physiol.* 277: 555-562.
- Yacyshyn BR, Thomson AB (2000): Critical review of acid suppression in nonvariceal, acute, upper gastrointestinal bleeding. *Dig Dis.* 18: 117-128.
- Zadina JE, Hackler L, Ge LJ, Kastin AJ (1997): A potent and selective endogenous agonist for the μ -opiate receptor. *Nature* 386: 499-502.
- Zádori ZS, Shujaa N, Tekes K, Gyires K (2007): Potential role of nociceptin and nocistatin in central regulation of gastric mucosal defense. *BMC Pharmacology* 7 (Suppl 2): A44.