

ZSUGA JUDIT DR.¹, PÓRSZÁSZ RÓBERT DR.¹, GESZTELYI RUDOLF DR.¹,
NÉMETH JÓZSEF DR.⁴, SZOLCSÁNYI JÁNOS DR.⁴, SZILVÁSSY ZOLTÁN DR.¹,
PARAGH GYÖRGY DR.³, KOVÁCS PÉTER DR.²

¹DE OEC Farmakológia és Farmakoterápiai Intézet, ²1.sz Belgyógyászati Klinika DE Klinikai Farmakológiai Tanszék, ³1.sz Belgyógyászati Klinika Anyagcsere-betegségek Tanszék, Debrecen,

⁴PTE Farmakológia és Farmakoterápiai Intézet, Pécs

A HEPATIKUS INZULIN SZENZITIZÁLÓ MECHANIZMUS SZENZOROS NITRERG JELLEGE ÉBER NYULAKON

A PLEXUS HEPATICUS ANTERIOR SZENZOROS ROSTJAINAK FUNKCIONÁLIS KÁROSODÁSA VAGY AZ INTRAPORTÁLISAN ADOTT NEURONÁLIS NITRÓGÉN MONOXID (NO) SZINTÁZT SZELEKTÍVEN GÁTLÓ – 7-NITRO INDAZOL (1 MG/KG) – HIPERINZULINÉMIÁS (100 mU/ML) EUGLIKÉMIÁS (5,5 mM) CLAMP MÓDSZERREL KIMUTATOTT INZULINREZISZTENCIÁT OKOZOTT KRÓNIKUSAN INSTRUMENTÁLT ÉBER NYULAKBAN. AZ INTRAPORTÁLISAN ADOTT NITROGLICERIN MINDKÉT ESETBEN HELYREÁLLÍTOTTA AZ INZULINÉRZÉKENYSÉGET. KÖVETKEZTETÉSÜNK SZERINT A SZENZOROS NEURONOKBÓL SZÁRMAZÓ NO JELENTŐS SZEREPET JÁTSZIK AZ INZULINÉRZÉKENYSÉG NEUROGÉN SZABÁLYOZÁSÁBAN.

KULCSSZAVAK: INZULINREZISZTENCIA, INZULINÉRZÉKENYSÉG, NITRÓGÉN MONOXID

SENSORY NITRIC ORIGIN OF HEPATIC INSULIN SENSITIZING MECHANISMS IN CONSCIOUS RABBITS. FUNCTIONAL DETERIORATION OF SENSORY FIBRES IN THE ANTERIOR HEPATIC PLEXUS OR INTRAPORTAL ADMINISTRATION OF 7-NITRO INDAZOLE (1 MG/KG), A SELECTIVE INHIBITOR OF NEURAL NITRIC OXIDE (NO) SYNTHASE, CAUSED INSULIN RESISTANCE AS DETERMINED BY HYPERINSULINAEMIC (100 mU/ML) EUGLYCAEMIC (5.5 mM) GLUCOSE CLAMPING IN CHRONICALLY INSTRUMENTED CONSCIOUS RABBITS. INTRAPORTAL NITROGLYCERIN RESTORED INSULIN SENSITIVITY IN EITHER CASE. WE CONCLUDED THAT NO OF SENSORY NEURAL ORIGIN PLAYS A MAJOR ROLE IN ENDOGENOUS NEUROGENIC INSULIN SENSITIZING MECHANISMS.

KEYWORDS: INSULIN RESISTANCE, INSULIN SENSITIVITY, NITRIC OXID

A plexus hepaticus anteriorban futó idegek poszt-prandiális aktiválása egy hormonszerű anyag felszabadulásához vezet, amit hepatikus inzulin szenzitizáló anyagnak (HISS) neveztek el (Lautt, 1999). A perifériás szövetek inzulinnal szembeni érzékenységét fokozza ez a mechanizmus (Sadri és Lautt, 1999). A HISS mechanizmus egyik szabályozója a májban termelődő nitrogén monoxid (NO), mivel NO szintáz-gátló intra-

portális adása inzulinrezisztenciát okoz, továbbá az intraportálisan beadott NO donorok visszaállítják az előzetesen NO szintáz gátlóval inzulinrezisztenssé tett állatok inzulin érzékenységét (Sadri és Lautt, 1999). Ezidáig azonban sem a HISS jellege, sem a mechanizmusban mediátor szerepet betöltő NO forrása nem került azonosításra. Mivel a plexus hepaticus anterior számos capsaicin szenzitív szenzoros rostot tartalmaz

(Erin és mtsai. 2000) – többek között nitrerg idegeket is (Shimamura és mtsai. 2000) –, a jelen vizsgálatunkban arra kerestünk választ, hogy a nitrerg szenzoros rostok szerepet játszanak-e a HISS mechanizmusban.

MÓDSZEREK

A jelen vizsgálatok megfelelnek az Európai Unió kísérleti állatok gondozására és alkalmazására vonatkozó

irányelveinek. Huszonnégy új-zélandi hím fehér nyulat (3-3,2 kg) a korábban leírtaknak megfelelően megoperáltunk (Szilvassy és mtsai. 1994).

A vena portae egyik ágába, a vena jugularis externa két fő ágába, valamint a bal oldali artéria carotisba polietilén katétert vezetünk be. A katéterek átjárhatóságát Na heparinos oldattal (100 IU/ml) való feltöltés biztosította. A capsaicinra érzékeny szenzoros rostok HISS mechanizmusban betöltött szerepének vizsgálata céljából hat állatban részleges hepatikus szenzoros funkcionális denerválást végeztünk; 3 napon keresztül 3 mm hosszú, 2%-os capsaicin oldattal impregnált „Gelaspon” szivacsokat helyeztünk a plexus hepaticus anterior rostjai köré.

Ez a kezelési séma a capsaicin érzékeny szenzoros rostok funkcionális károsodását okozza, amit regionális capsaicin deszenzitizációnak neveznek (Szolcsányi és mtsai. 1996). A kontroll állatok oldószerezrel impregnált szivacsokat kaptak. Hét nappal a műtéti beavatkozásokat követően a szövetek inzulinra adott hypoglykémias válaszában meghatározására hiperinzulinémiás euglykémias glükóz clamp vizsgálatot végeztünk az alábbiak szerint. Százhusz percen keresztül állandó sebességgel intravénásan inzult infundáltunk (13 mU/kg NOVO Nordisk, Koppenhága) ami az egyensúlyi állapotban 100 ± 5 mU/ml plazma immunreaktivitást eredményezett (lásd alább).

Az artériás kanülön keresztül 10 perces időközönként vett vérmintákon meghatároztuk a vércukor szintet. A vércukorszintet a második vénás kanülön keresztül változó sebességgel történő glükóz infúzió adásával állandó ($5,5 \pm 0,5$ mM) értéken tartottuk. A vércukor szint legalább 15 perces keresztüli stabilitását definiáltuk egyensúlyi állapotként.

Egyensúlyi állapotban 5 perces időközönként további vérmintákat vettünk a plazma inzulin immunreaktivitásának vizsgálatára. Az inzulinérzékenységet a glükózinfúzió sebességével jellemeztük (DeFronzo és mtsai. 1979).

A portális katéteren keresztül 7-nitro indazolt (1 mg/kg egyszeri dózis Sigma, St. Louis, MO) vagy nitroglicerint infundáltunk. A huszonnégy krónikusan instrumentált nyulból hat „naív”

maradt, hat az inzulinérzékenység meghatározása előtt 10 perccel intraportálisan 7-nitro indazolt kapott, haton részleges hepatikus denerválást végeztünk, és hat placebo szivacsokat kapott.

EREDMÉNYEK

Mind a perineurális capsaicin kezelés, mind az intraportális 7-nitro indazol adása szignifikánsan csökkentette az inzulinérzékenységet. Az intraportálisan adagolt nitroglicerint mindkét esetben helyreállította az inzulinérzékenységet (1. ábra). A placebo szivacsok hatástalanok voltak (nincs feltüntetve).

MEGBESZÉLÉS

A jelen vizsgálatban a legfőbb eredménye, hogy a HISS mechanizmus capsaicin érzékeny szenzoros rostokhoz kötött. Eredményeink felvetik továbbá, hogy a mechanizmusban szerepet játszó NO valószínűleg neurális eredetű.

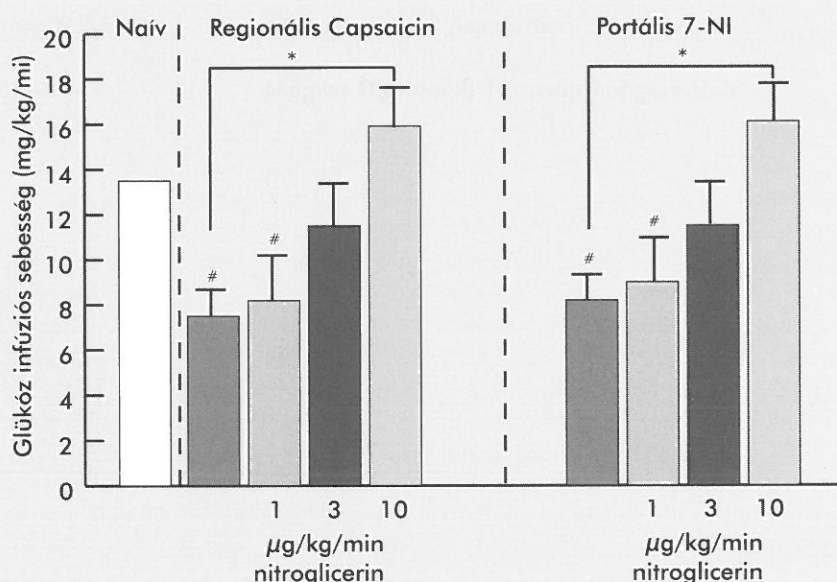
Mivel mind a perineurálisan capsaicin deszenzitizálás (Szolcsányi és mtsai. 1996), mind a kis dózisban intraportálisan adott szelektív neurális NO szintáz gátló hasonló mértékű inzulinrezisztenciát eredményezett illetve az

intraportálisan adott nitroglicerint hatására az inzulinérzékenység helyreállt, felmerül, hogy a szenzoros rostokból származó NO a HISS mechanizmus egy fontos triggere vagy mediátora. Sadri és Lautt (1999) a máj NO termelésének gátlását írta le hasonlóan alacsony dózisu nem-szelektív NO szintáz gátló adását követően. Figyelembe véve, hogy a szenzoros rostok effektor működése neuropeptid felszabaduláson alapul (Szolcsányi és mtsai. 1996) lehetséges, hogy a HISS azonos egy szenzoros neurotranszmitterrel, amelynek hormonszerű hatásai is lehetnek, és amelynek felszabadításában az NO kulcsfontosságú szerepet játszik. A közelmúltban Oroszi és mtsai. (1999) bizonyítékot szolgáltatottak egy ilyen eshetőségre, mivel kimutatták, hogy a szívben a szenzoros neuropeptidek, így a kalcitonin gén rokon peptid (CGRP) felszabadulását az NO szabályozza.

KÖVETKEZTETÉSEK

A jelen eredmények a szenzoros rostok újonnan felismert effektor funkciójára mutatunk rá. Továbbá, a neurális NO kulcsszerepe miatt felmerül, hogy az orálisan alkalmazott NO donorok jelentős innovatív potenciállal bírnak mint inzulinszenzitizálóként ható anti-diabetikumok.

1. ÁBRA 7-NITRO INDAZOL (1 MG/KG) ILLETVE A PLEXUS HEPATICUS ANTERIOR PERINEURÁLIS CAPSAICIN DESZENITIZÁCIÓJÁT KÖVETŐ INZULIN REZISZTENCIA ÉBER NYULAKON. NITROGLICERIN HATÁSÁRA AZ INZULIN ÉRZÉKENYSÉG VISSZAÁLLT. AZ EREDMÉNYEK CSOPORTONKÉNT HAT NYÚL ÉRTÉKEINEK ÁTLAGAI $\pm$ AZ ÁTLAG STANDARD HIBÁJA. # SZIGNIFIKÁNS ELTÉRÉS A „NAÍV” ÁLLATOKHOZ KÉPST $P < 0,05$ MELLETT, *: AZ ÁBRÁN FELTÜNTETETTEK SZERINT $P < 0,05$.



TÁMOGATÁS

A jelen kutatást az Oktatási Minisztérium (OTKA T030766, T034155 és T032002, ALK 00197/2002), a

Nemzeti Kutatás-Fejlesztési Program (NRDP 1/007/2001) és a Felsőoktatási Kutatás-Fejlesztési Program (FKFP 2000-2003) valamint a Magyar Ösztöndíj Bizottság (MÖB-DAAD 1627/

2002) támogatta. Köszönet illeti Koszorus Zsuzsát fáradhatatlan munkájáért.

Dr. Pórszász Róbert az MTA Bolyai János ösztöndíjasa.

IRODALOM

1. DeFronzo, R.A., Tobin, J.D., Andres, R.A., *Am. J. Physiol.* 1979. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. 237, E214-E223.
2. Erin, N., Ercan, F., Yegen, B.C., Arbak, S., Okar, I., Oktay, S., *Dig. Dis. Sci.* 2000. Role of capsaicin-sensitive nerves in gastric and hepatic injury induced by cold stress. 45, 1889-1899.
3. Lutt, W.W., 1999. The HISS story overview: a novel hepatic neurohumoral regulation of peripheral insulin sensitivity in health and diabetes. 77, 553-562.
4. Oroszi, G., Szilvassy, Z., Nemeth, J., Tasaki, A., Szolcsanyi, J., *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1999. Interplay between nitric oxide and CGRP by capsaicin in isolated guinea-pig heart. *Pharmacol. Res.* 40, 125-128.
5. Sadri, P., Lutt, W.W., *Am J Physiol.* 1999. Blockade of hepatic nitric oxide synthase causes insulin resistance. 277, G101-G108.
6. Shimamura, K., Yamamoto, K., Sekiguchi, F., Sunano, S., Kimura, S., Saito, H., *J. Smooth Muscle Res.* 2000. Transmural field stimulation-induced relaxation in the rat common hepatic artery. 36, 137-144.
7. Szilvassy, Z., Ferdinandy, P., Bor, P., Jakab, I., Lonovics, J., Koltai, M., *Am. J. Physiol.* 1994. Ventricular overdrive pacing-induced anti-ischemic effect: A conscious rabbit model of preconditioning. 266, H2033-H2041.
8. Szolcsanyi, J., 1996. Capsaicin-sensitive sensory nerve terminals with local and systemic efferent functions: facts and scopes of an unorthodox neuroregulatory mechanism. In: Kumazawa, T., Kruger, L., Mizumura, K. (Eds.), *Progress in Brain Research Vol 113*, Elsevier, Amsterdam, pp. 343-359.