

# A gyomornyálkahártya integritását és a gastrointesztinális motilitást szabályozó mechanizmusok analízise

Doktori értekezés

**Dr. Zádori Zoltán**

Semmelweis Egyetem  
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Gyires Klára, Ph.D., D.Sc

Hivatalos bírálók: Dr. Fehér Erzsébet, Ph.D., D.Sc  
Dr. Kovács Péter, az orvostudomány kandidátusa

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Tekes Kornélia, az orvostudomány kandidátusa

Szigorlati bizottság tagjai:  
Dr. Zelles Tibor, Ph.D  
Dr. Zsembery Ákos, Ph.D.

Budapest  
2009

# TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	7
1. BEVEZETÉS.....	9
1.1. Általános fogalmak.....	9
1.1.1. A fekélybetegség és komplikációi.....	9
1.1.2. A gyomornyálkahártya integritásának szabályozása.....	12
1.1.2.1. A nyálkahártya integritását fenntartó fontosabb lokális mediátorok.....	13
1.1.2.1.1. Prostaglandinok .....	13
1.1.2.1.2. Lipoxin A <sub>4</sub> és ATL (aspirin-triggered lipoxin) .....	14
1.1.2.1.3. Nitrogén-monoxid .....	15
1.1.2.1.4. H <sub>2</sub> S.....	15
1.1.2.1.5. Szenzoros neuropeptidok.....	16
1.1.2.2. A központi idegrendszer (KIR) szerepe a gyomorvédelemben.....	17
1.2. Az opioid rendszer.....	20
1.2.1. Az endomorfinek.....	24
1.2.1.1. Az endomorfinek felfedezése.....	24
1.2.1.2. Az endomorfinek általános jellemzői.....	25
1.2.1.3. Az endomorfinek gasztrointesztinális hatásai .....	26
1.3. A nociceptin és nocistatin.....	27
1.3.1. A nociceptin.....	27
1.3.1.1. A nociceptin és receptorának felfedezése.....	27
1.3.1.2. A nociceptin (N/OFQ) jellemzői és hatásai.....	28
1.3.1.3. A N/OFQ gasztrointesztinális hatásai.....	30
1.3.2. A nocistatin.....	31
1.3.2.1. A nocistatin (NST) jellemzői és hatásai .....	32
1.4. Az $\alpha_2$ -adrenoceptorok .....	33
1.4.1. $\alpha_2$ -adrenoceptor-mediált gasztrointesztinális hatások.....	36
1.4.2. Az imidazolin-hipotézis.....	38
1.5. Célkitűzések .....	38
1.5.1. Az endomorfinek.....	38
1.5.2. A nociceptin és nocistatin.....	39

1.5.3. Az $\alpha_2$ - és imidazolin receptorok.....	39
2. MÓDSZEREK ÉS ALKALMAZOTT VEGYÜLETEK .....	40
2.1. Kísérleti állatok .....	40
2.2. A vegyületek alkalmazásának módjai .....	40
2.2.1. Intracerebroventrikuláris (i.c.v.) adagolás.....	40
2.2.2. Intraciszternális (i.c.) adagolás .....	40
2.2.3. Intravénás (i.v.) adagolás.....	41
2.2.4. Orális (p. os) és intraperitoneális (i.p.) adagolás .....	41
2.3. Bilaterális cervikális vagotómia .....	41
2.4. Alkoholos fekély-modell .....	41
2.5. A gasztrointesztinális motilitás meghatározása.....	42
2.5.1. A gyomor motilitásának mérése in vivo.....	42
2.5.2. Tengeri malac vékonybél motilitásának mérése in vitro.....	44
2.6. Alkalmazott vegyületek.....	45
2.6.1. Az opioid rendszeren ható vegyületek.....	45
2.6.2. A nociceptin/nocistatin rendszeren ható vegyületek .....	45
2.6.3. Az $\alpha_2$ -adrenoceptorok illetve imidazolin receptorokon ható vegyületek.....	46
2.6.4. Egyéb vegyületek .....	46
2.6.5. A vegyületek oldása.....	46
2.7. Statisztikai analízis .....	46
3. EREDMÉNYEK.....	47
3.1. Az endomorfinek.....	47
3.1.1. Az endomorfinek gasztroprotektív hatásának vizsgálata .....	47
3.1.1.1. Az endomorfinek-1 és -2 gasztroprotektív hatása i.c.v. adagolás során ...	47
3.1.1.2. Az endomorfinek-1 és endomorfinek-2 antiszérumok hatása az endomorfinek gasztroprotektív hatására .....	48
3.1.1.3. A naloxon hatása az endomorfinek gasztroprotektív hatására .....	49
3.1.2. Az endogén endomorfinek rendszer szerepének vizsgálata .....	50
3.1.2.1. A diprotin A gasztroprotektív hatása.....	50
3.1.2.2. A naloxon hatása a diprotin A gasztroprotektív hatására.....	51
3.1.3. Az endomorfinek hatásának mediálásában szerepet játszó perifériás faktorok vizsgálata .....	52

3.1.3.1. A hexamethonium és atropin hatása az endomorfín-2 gasztroprotektív hatására .....	52
3.1.3.2. A propranolol hatása az endomorfín-2 gasztroprotektív hatására .....	53
3.1.3.3. Az N <sup>G</sup> -nitro-L-arginin hatása az endomorfín-2 gasztroprotektív hatására .....	54
3.1.3.4. A CGRP <sub>8-37</sub> hatása az endomorfín-2 gasztroprotektív hatására .....	54
3.1.3.5. Az indometacin hatása az endomorfín-2 gasztroprotektív hatására .....	55
3.2. A nociceptin és nocistatin.....	56
3.2.1. A nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatásának vizsgálata.....	56
3.2.1.1. A nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatása i.c.v. adagolás során .....	56
3.2.1.2. A J-113397 hatása nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására..	57
3.2.2. A nociceptin és nocistatin közötti interakció.....	58
3.2.3. Az opioid antagonisták hatása a nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására .....	60
3.2.3.1. A naloxon hatása nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására....	60
3.2.3.2. A β-funaltrexamin (β-FNA) hatása nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására .....	62
3.2.3.3. A naltrindol hatása nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására .	63
3.2.3.4. A norbinaltorphimin (norBNI) hatása nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására .....	64
3.2.4. A nociceptin és nocistatin hatásának mediálásában szerepet játszó perifériás faktorok vizsgálata.....	65
3.2.4.1. Vagotómia hatása a nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására	66
3.2.4.2. Az N <sup>G</sup> -nitro-L-arginin hatása a nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására .....	67
3.2.4.3. Az indometacin hatása a nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására .....	68
3.3. Az α <sub>2</sub> - és imidazolin receptorok.....	70
3.3.1. A clonidin és oxymetazolin gyomormotilitást gátló hatásának vizsgálata... 70	
3.3.1.1. A clonidin és oxymetazolin hatása a bazális motilitásra .....	70

3.3.1.2. A clonidin és oxymetazolin hatása önmagában és yohimbinnel kombinálva az inzulinnal stimulált motilitásra.....	71
3.3.1.3. A BRL 44408 hatása a clonidin és oxymetazolin motilitást gátló hatására .....	74
3.3.1.4. A prazosin hatása az oxymetazolin motilitást gátló hatására .....	77
3.3.1.5. A clonidin és oxymetazolin hatása a carbachollal stimulált motilitásra	78
3.3.2. Az imidazolin receptorok hatásának vizsgálata a gasztrointesztinális rendszer motilitására .....	81
3.3.2.1. A clonidin és rilmenidin motilitást gátló hatásának összehasonlítása tengeri malac ileumon .....	81
3.3.2.2. Az efaroxan hatása a clonidin motilitást gátló hatására tengeri malac ileumon .....	83
4. MEGBESZÉLÉS .....	86
4.1. Az endomorfinok .....	86
4.1.1. Az endomorfinok gasztroprotektív hatása .....	86
4.1.2. Az endogén endomorfin rendszer szerepe a mukozális védelemben .....	91
4.1.3. Az endomorfinok gasztroprotektív hatását mediáló faktorok .....	92
4.2. A nociceptin és nocistatin .....	95
4.2.1. A N/OFQ és NST gasztroprotektív hatása .....	95
4.2.2. A N/OFQ és NST közötti interakció .....	98
4.2.3. Az opioid rendszer szerepe a N/OFQ és NST által indukált centrális gyomorvédelemben .....	99
4.2.4. A N/OFQ és NST gasztroprotektív hatását mediáló faktorok .....	100
4.3. Az $\alpha_2$ - és imidazolin receptorok .....	102
4.3.1. A clonidin és oxymetazolin gyomormotilitást gátló hatásának összehasonlítása .....	102
4.3.2. Az imidazolin receptorok szerepe a gasztrointesztinális motilitás szabályozásában .....	106
5. KÖVETKEZTETÉSEK .....	110
6. ÖSSZEFOGLALÁS .....	112
7. SUMMARY .....	113
8. IRODALOMJEGYZÉK .....	114

9. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE .....	153
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....	157

## **RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE**

5-HT	szerotonin, 5-hidroxitriptamin
Ach	acetilkolin
ADHD	figyelemhiányos hiperaktív zavar (attention-deficit hyperactivity disorder)
ASIC	savérzékeny ioncsatorna (acid sensing ion channel)
ATL	aspirin-triggered lipoxin
bFGF	bázikus fibroblast növekedési faktor (basic fibroblast growth factor)
CBS	cystathionin $\beta$ -synthase
CCK	kolecisztokinin
cGMP	ciklikus guanozin monofoszfát
CGRP	calcitonin génhez kapcsolódó fehérje (calcitonin gene-related peptide)
CINOD	NO-donor COX-gátlók (COX-inhibiting nitric oxide-donor)
COX	ciklooxygenáz
CRF	corticotropin releasing factor
CTOP	D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Thr-Pen-Thr-NH <sub>2</sub>
CSE	cystathionin $\gamma$ -lyase
DAMGO	[D-Ala <sup>2</sup> , N-Me-Phe <sup>4</sup> , Gly <sup>5</sup> -ol]-Enkephalin
DAMME	[D-Ala <sup>2</sup> , N-Me-Phe <sup>4</sup> , Met(O) <sup>5</sup> -ol]-Enkephalin
DMV	dorzális motoros vágusmag
DPDPE	[D-Pen <sup>2,5</sup> ]-Enkephalin
DPP IV	dipeptidyl peptidase IV
DVC	dorzális vágus komplex (dorsal vagal complex)
ECL-sejtek	Enterochromaffin-like sejtek
EDRF	endothelin-derived relaxing factor
EFS	elektromos téringer (electric field stimulation)
EGF	epidermális növekedési faktor (epidermal growth factor)
FGID	funkcionális gasztrointesztinális zavar (functional gastroint. disorder)
GIT	gasztrointesztinális traktus (gastrointestinal tract)
GMBF	mukozális vérátáramlás (gastric mucosal blood flow)
HETE	hidroxi-eikozatetraénsav
i.c.	intraciszternális

i.c.v.	intracerebroventrikuláris
i.p.	intraperitoneális
IBS	imidazolin kötőhely (imidazoline binding site)
IP	intraluminális nyomás (intraluminal pressure)
KIR	központi idegrendszer
LH	laterális hypothalamus
L-NAME	N $\omega$ -nitro-L-arginine methyl ester
L-NNA	N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine
LOX	lipoxigenáz
MAO	monoamin oxidáz
NA	noradrenalin
NANC	nem-adrenerg, nem-kolinerg
NKA	neurokinin A
NO	nitrogén-monoxid
NOP	nociceptin peptid receptor
NSAID	nem szteroid gyulladásgátló (non-steroidal anti-inflammatory drug)
NTS	nucleus tractus solitarii
ORL	opioid receptor like
PAG	periaqueductalis szürkeállomány (periaqueductal grey)
PG	prostaglandin
PGI <sub>2</sub>	prosztaciklin
PPI	protonpompagátlók (proton pump inhibitors)
PPT	perisztaltikus küszöbnyomás (peristaltic pressure threshold)
PVN	paraventriculáris mag (paraventricular nucleus)
PYY	peptid YY
s.c.	szubkután
SP	P anyag (substance P)
SRMD	stressz-fekély szindróma (stress-related mucosal disease)
TGF- $\beta$	transzformáló növekedési faktor beta (transforming growth factor beta)
TXA <sub>2</sub>	tromboxán
VIP	vazoaktív intesztinális peptid
VMH	ventromediális hypothalamus



# **1. BEVEZETÉS**

## **1.1. Általános fogalmak**

### **1.1.1. A fekélybetegség és komplikációi**

A peptikus fekélyek kialakulásáért évtizedeken keresztül a fokozott savszekréciót tették felelőssé – a „nincs sav – nincs fekély” (nil acid - nil ulcer) alapelvnek köszönhetően pedig még napjainkban is a savszekréció gátlására való törekvés az elsődleges a fekély terápiájában: M<sub>1</sub>-receptor antagonisták, H<sub>2</sub>-receptor blokkolók valamint protonpumpagátlók (proton pump inhibitors, PPI) alkalmazása, sebészi „megoldásként” pedig a vagotómia.

A duodenális fekélyek és a prepiloricus csatorna fekélyei az esetek többségében valóban fokozott sósavtermeléssel járnak, a gyomorfekélyek esetében azonban más a helyzet: sokszor normo-, vagy éppen hipoaciditás áll fenn (Davenport 1965). Ezen betegeknél a savszekréciót csökkentő gyógyszerek terápiai hatása sem mindig kielégítő. Sajnos azon betegeknél, akikben a fekélyek kezelése nem jár maradéktalan sikerrel, előbb-utóbb komplikációk fellépésére kell számítanunk, melyek közül az egyik legfontosabb és legveszélyesebb az ún. felső gasztrointesztinális vérzés. A fekélyvérző betegek mortalitása meglehetősen magas (5-10%), és sajnos ez az arány az elmúlt 50 év során nem csökkent, annak ellenére, hogy mind a diagnosztikus, mind a sebészi és intenzív terápiai eszközök jelentős fejlődésen mentek keresztül (Gilbert 1990). A H<sub>2</sub>-blokkolók sem az újráverések gyakoriságát, sem a mortalitást nem csökkentik (Levine és mtsai 2002), és bár az újráverések gyakorisága PPI-kkel vagy H. pylori eradikációval csökkenthető (Leontiadis és mtsai 2007), a mortalitás csökkentésére vonatkozó adatok továbbra sem egyértelműek (Bardou és mtsai 2005, Leontiadis és mtsai 2004, Leontiadis és mtsai 2005).

Súlyos problémát jelentenek a nem szteroid gyulladásgátlók (non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAID) által okozott fekélyek is. Ezen vegyületek a leggyakrabban felírt (még hozzá vény nélkül kapható) gyógyszerek közé tartoznak szerte a világon és mellékhatásaik közül kiemelkedő jelentőségű a fekélyek kialakulása.

Egyszeri, 650 mg-os aszpirin bevétele követően 10 perccel a felszíni epithelsejtek 25%-án lehet mikroszkópos károsodást kimutatni (Baskin és mtsai 1976), krónikus NSAID alkalmazást követően pedig a betegek közel 40%-ában alakulnak ki endoszkóposan kimutatható fekélyes elváltozások (Stalnikowicz és Rachmilewitz 1993). Hatásuk egyrészt lokális (savas karakterük révén a gyomornedvben nem ionizáltak, a mukozális sejtekbe diffundálnak, majd ott rekedve azokat károsítják), másrészt a mukoza egyik legfontosabb protektív faktorának, a prosztaglandinoknak (PG) a szintjét csökkentik. A szintetikus PGE<sub>1</sub> analóg misoprostol kombinált adásával csökkenteni lehet ugyan a gasztrointesztinális károsodás gyakoriságát, azonban a relatíve súlyos mellékhatások (hasmenés, hasi fájdalom) jelentősen korlátozzák ezen vegyület alkalmazását (Silverstein és mtsai 1995). A NSAID-ok által okozott, tüneteket okozó fekélyek gyakoriságát pedig H<sub>2</sub>-blokkolók egyidejű alkalmazása nem befolyásolta és a PPI-k is csak enyhe csökkenést eredményeztek (Brown és mtsai 2006).

Éppen ezért komoly törekvések irányulnak olyan NSAID-ok kifejlesztésére, melyekkel a gasztrointesztinális nyálkahártya károsodás elkerülhető lenne. Bár az utóbbi években piacra került szelektív ciklooxygenáz-2-gátlók (COX-2-gátlók) valóban csökkent gasztrointesztinális kockázatot jelentenek (Bombardier és mtsai 2000), sajnos ugyanúgy gátolják a fekélyek gyógyulását, mint nem szelektív társaik (Ma és mtsai 2002). Emellett gátolják a gasztroprotektív lipoxin szintézisét (Wallace és mtsai 2005) és a PGI<sub>2</sub> - TXA<sub>2</sub> egyensúlyának az utóbbi javára történő eltolódása miatt fokozott kardiovaszkuláris kockázatot jelentenek, aminek következtében mind a rofecoxibot, mind a valdecoxibot ki kellett vonni a piacról. Újabb jelöltek a CINOD-ok (COX-inhibiting nitric oxide-donator, NO-donor COX-gátlók), a COX/LOX-gátlók (pl. licofelon) illetve a H<sub>2</sub>S-donor NSAID-ok, ezek esetleges elterjedéséhez azonban még évekre van szükség (összefoglalóért ld. Coruzzi és mtsai 2007).

Súlyos betegségben szenvedőknél régóta megfigyelt jelenség a fokozott gyakoriságú felső gasztrointesztinális vérzés, sokszor minden gasztrointesztinális kórelőzmény nélkül. Ez a jelenség az ún. stressz-fekély szindróma (SRMD, stress-related mucosal disease), mely rizikófaktorai közé tartozik pl. a gépi lélegeztetés vagy az alvadási zavarok. Ezen betegek 75-100%-ában mutatható ki endoszkóposan nyálkahártya károsodás (subepitheliális hemorrhágiák, eróziók) és kb. 20%-ukban tüneteket (hematemesis, meléna) okozó gasztrointesztinális vérzés (Laine és mtsai 2008), amely

(főleg a betegek súlyos állapotának köszönhetően) megdöbbentően magas mortalitási rátával párosul (akár az 50%-ot is megközelítheti!) (Cook és mtsai 1994). A klinikailag szignifikáns gasztrointesztinális vérzések gyakoriságát sem sucralfat, sem H<sub>2</sub>-blokkolók adása (mint stressz-fekély profilaxis) nem csökkentette, egyedül a PPI-k kapcsán számoltak be kedvező eredményekről (Faisy és mtsai 2003).

Az eddig elhangzottakból következik, hogy a gyomornyálkahártya védelem tanulmányozása továbbra is fontos részét képezi az alapkutatásnak. Az agresszív faktorok csökkentése terén a terápiás lehetőségeink ugyanis végesek (savszekréció gátlása, gyomorsav közömbösítése, H. pylori eradikáció), ráadásul a PPI-kkel kapcsolatban (amely szerek minimális mellékhatásaiknak és majdnem 100%-os savszekréció-gátló hatásuknak köszönhetően a fekélyek terápiájában elsődleges szerephez jutnak) egyre több tanulmány hívja fel a figyelmet a gyomor- és coloncarcinoma fokozott kialakulásának a veszélyére (Waldum és mtsai 2005).

Kedvező terápiás eredmények remélhetők azonban a mukozális védelmet fokozó gasztroprotektív szerektől, melyek védőhatásukat a savszekréció befolyásolásától függetlenül fejtik ki. Ilyen hatást először Robert és mtsai írtak le a 70-es évek végén, amikor is megfigyelték, hogy a prosztaglandinok gátolják a nekrotizáló anyagok okozta léziókat a savszekréciót gátló dózissal alacsonyabb dózistartományban (Robert és mtsai 1979). Ők a „citoprotekció” terminológiát használták, melyet utólag azonban többen is megkérdőjeleztek. Kimutatták ugyanis, hogy a védőhatás hisztológiailag nem teljes és csak a nyálkahártya mélyebb rétegeit érinti, a felületes rétegek károsodása megmarad (Lacy és Ito 1982). A citoprotekció elnevezés helyett ezért felvetődött a „gasztroprotekcio” terminológia alkalmazása, melyet dolgozatomban is használok.

A jelen dolgozat első fele két endogén rendszer, nevezetesen az endomorfinek illetve a nociceptin/nocistatin-rendszer gyomorvédelemben betöltött szerepét vizsgálja. Mielőtt azonban ezekre részletesen rátérnék, elengedhetetlen, hogy röviden ismertessem a nyálkahártya integritásának a fenntartásában résztvevő faktorokat, endogén vegyületeket és anatómiai struktúrákat.

### **1.1.2. A gyomornyálkahártya integritásának szabályozása**

A gyomor nyálkahártyáját folyamatosan erőteljes behatások érik, jelentős hőmérséklet, pH és ozmotikus változások mellett kell épségét megőriznie. A kezdeti hipotézissel szemben (amely szerint a mukozán átáramló alkalikus vér neutralizálja a gyomorsavat) a 20. század második felére kiderült, hogy számos faktor együttes hatása felelős a gyomor mukozá integritásának a fenntartásáért, a mukozális védelemért (összefoglalóként ld. Laine és mtsai 2008, Wallace és Granger 1996). Ha ezen protektív faktorok károsodnak és/vagy az agresszív faktorok túlsúlyba kerülnek, a nyálkahártya károsodik, eróziók és fekélyek fognak kialakulni.

Az első védelmi vonalat a lumenbe szekretált különböző faktorok képezik. Érdekes módon ilyen maga a gyomorsav is, mely ép nyálkahártya mellett fontos szerepet játszik a bakteriális kolonizáció megfékezésében, emellett pedig csökkenti a belekbe jutó antigének mennyiségét is. (Természetesen a mukozális epithelium károsodása esetén a gyomorsav már mint károsító faktor vesz részt a fekély patogenezisében.) A mucos-bikarbonát-fosfolipid barrier egyrészt megköti a baktériumokat, így azok nem képesek eljutni az epitheliumig, másrészt antioxidáns hatással rendelkezik. Az epitheliális sejtek által szekretált és a folytonos mucos-réteg által megkötött bikarbonát semlegesíti a gyomorsavat, ezáltal neutrális mikrokörnyezetet (pH ~ 7) biztosít a sejtek felszínén.

A következő védőfaktor maguk a mukozális epithelsejtek képezik. Ezek - a már említett mucos és  $\text{HCO}_3^-$  mellett - PG-okat, citoprotektív hősokk-fehérjéket (Nakamura és mtsai 1991), antimikrobiális polypeptideket (cathelicidineket, defenzineket) (Wehkamp és mtsai 2007) termelnek. Apikális membránjuk igen ellenálló a gyomorsavval szemben. Emellett az epithelium gyors megújulása (2-4 napos turnover), a gyors repair mechanizmus (Ito és mtsai 1984) (melyben számos növekedési faktornak - EGF, bFGF, TGF- $\beta$  - jut fontos szerep) és a sejtek közötti szoros kapcsolat mind hozzájárulnak a hatékony barrier funkcióhoz (Wallace és Granger 1996).

Ha a felszíni epithel károsodik, a gyomorsav visszadiffundál a szövetek közé. Ekkor a primer szenzoros afferensek savérzékeny ioncsatornák (ASIC, acid sensing ion channel) aktivációján keresztül CGRP-t (calcitonin gene-related peptide) szabadítanak fel. A CGRP részben közvetlenül, részben NO-n keresztül fokozza a mukozális vérátáramlást

(GMBF, gastric mucosal blood flow), mely hígítja és neutralizálja a szövetek közé diffundált káros anyagokat, tápanyagokkal és oxigénnel látja el az epitheliális sejteket, illetve serkenti a regeneráló folyamatokat. A NO mellett a mukoza által termelt PG-ok, valamint egy újonnan felfedezett endogén mediátor, a H<sub>2</sub>S is szerepet játszik a véráramlás fokozásában (Fiorucci és mtsai 2005).

A mukozális immunrendszer (hízósejtek és makrofágok) aktivációja kettős szerepet játszik ezen folyamatokban, hiszen a kialakult lokális gyulladásos folyamatok révén megakadályozza a károsító ágensek mélyebb szövetek közé történő penetrációját illetve szisztémás keringésbe jutásukat, ugyanakkor ez a gyulladásos reakció mukozális károsodáshoz vezethet.

### **1.1.2.1. A nyálkahártya integritását fenntartó fontosabb lokális mediátorok**

#### **1.1.2.1.1. Prostaglandinok**

A mukoza által folyamatosan termelt prosztaglandinok elengedhetetlenek a mukozális integritás fenntartása szempontjából. Szintézisük arachidonsavból történik COX enzimek hatására és a kezdeti hipotézissel szemben mind a COX-1, mind a COX-2 izoforma működésére szükség van a mukozális védelemhez (Wallace és mtsai 2000). Gyakorlatilag az összes fentebb említett protektív faktor termelődését/működését befolyásolják - fokozzák a bikarbonát- és mucus szekréciót, a mukozális vérátáramlást és a gyógyulási folyamatokat (Laine és mtsai 2008), csökkentik a savszekréciót (Robert és mtsai 1967) és a hízósejtekből való gyulladásos mediátorok felszabadulását (Hogaboam és mtsai 1993), valamint részt vesznek az ún. ischaemiás prekondicionálás során fellépő gyomorvédelemben (Pajdo és mtsai 2001). A NSAID-ok hatására a mukozális és plazma PG-szint jelentősen lecsökken, melynek következtében a gyomornyálkahártya károsodik (Rainsford és Willis 1982).

Amint korábban említettem, a prosztaglandinok citoprotektív hatásáról számolt be Robert és munkacsoportja 1979-ben, melynek alapjául az a megfigyelés szolgált, miszerint védőhatásukat alacsonyabb, a savszekréciót nem befolyásoló dózisban is kifejtik. Tarnawski és mtsai (1988) a citoprotektív hatást in vitro kísérleti körülmények között is megfigyelték, ami alapján valószínűsítették, hogy a PG-ok direkt a sejteken is

hatnak, egyéb neurális vagy humorális faktorok befolyásolása nélkül. Ezenfelül a PG-ok ún. adaptív citoprotekciót mediáló hatását is leírták, mely gyenge irritánsok (pl. 10-20%-os etanol, 2-4%-os NaCl) által kiváltott védőhatást jelent különböző nekrotizáló ágensekkel (pl. 100%-os etanol, 0.6 M HCl) szemben (Robert és mtsai 1983). Lacy és Ito (1982) azonban kimutatták, hogy a felületes mukozális rétegek károsodását a prosztaglandinok képtelenek kivédeni, vagyis helytelen a citoprotektív elnevezés. Más szerzők pedig az adaptív citoprotekciót a fokozott mukozális vérátáramlásnak (Svanes és mtsai 1991), vagy éppen a fokozott mucos szekréciónak tulajdonítják (Mutoh és mtsai 1995).

Több gasztroprotektív vegyület hatását prosztaglandinok mediálják, így pl. a TRH (Yoneda és Tache 1992), a CCK-8 (Konturek és mtsai 1995) vagy a ghrelin (Brzozowski és mtsai 2004) hatását, továbbá részt vesznek a gasztrin (Stroff és mtsai 1995), a bombezin (Mercer és mtsai 1998), a tachykininek (Evangelista és mtsai 1990) és az EGF (Konturek és mtsai 1992) által indukált gyomorvédelemben is.

#### **1.1.2.1.2. Lipoxin A<sub>4</sub> és ATL (aspirin-triggered lipoxin)**

A lipoxinok szintén arachidonsavból keletkeznek lipoxigenázok hatására. Gasztroprotektív szerepükre az ATL felfedezése kapcsán derült fény. Aszpirin hatására a COX-enzimek acetilálódnak, irreverzibilisen gátlódnak és ezáltal képtelenek arachidonsavból PG-okat szintetizálni. Az acetilált COX-2 azonban továbbra is képes 15-R-HETE (15-R-hidroxy-eikozatetraénsav) képzésére, melyből aztán 5-lipoxigenáz hatására 15-R-lipoxin A<sub>4</sub> (vagy másik nevén ATL) keletkezik (Claria és Serhan 1995). A Lipoxin A<sub>4</sub> (akárcsak a 15-epimer változata) rendkívül erőteljes gasztroprotektív vegyület. Gátolja a neutrophilek kemotaxisát, a kitapadását, a transzmigrációt és a szuperoxid-anion képzését (Colgan és mtsai 1993). Hatásának mediálásában részt vesz a NO, mivel a szintézisét gátló L-NAME-val történő előkezelés felfüggesztette a lipoxin védőhatását aszpirin-indukálta fekélyvel szemben (Wallace 2006). A lipoxinnak különösen fontos szerep juthat gyulladási folyamatok esetén, amikor a COX-2 expressziója fokozott. Ez lehet a magyarázata annak a megfigyelésnek is, hogy H. pylori fertőzött betegek ellenállóbbak a NSAID-ok által okozott nyálkahártya károsodással szemben (Stack és mtsai 2002).

### **1.1.2.1.3. Nitrogén-monoxid**

A NO (mely azonos az 1987-ig EDRF-ként - endothelin-derived relaxing factor - ismert vegyülettel) igen fontos szerepet játszik a mukozális vérátáramlás és ezáltal a nyálkahártya integritásának a fenntartásában. Hatását a szolubilis guanilát cikláz aktiválásával és a cGMP-szint emelésével fejt ki (Moncada és mtsai 1991).

Emellett - akárcsak a PG-ok - gátolja a hízósejtekből való gyulladáshoz vezető mediátorok felszabadulását (Masini és mtsai 1991), stimulálja a mucos szekréciót (Brown és mtsai 1993), elősegíti a már kialakult fekélyek gyógyulását (Konturek és mtsai 1993), részt vesz az ischaemiás prekondicionálás mediálásában (Pajdo és mtsai 2001) és az adaptív citoprotekcióhoz is hozzájárul, mivel 0.1 N NaOH védőhatását indometacin előkezelés csak az NO-szintáz gátló L-NNA együttes adásakor volt képes gátolni (Hatakeyama és mtsai 1993).

NO mediálja a szenzoros afferensekből felszabaduló CGRP-, valamint a centrális vágus-aktiváció által indukált GMBF fokozódást és gasztroprotektív hatást (Holzer és mtsai 1993, Tanaka és mtsai 1993). A PG-okhoz hasonlóan részt vesz többek között a gasztrin (Stroff és mtsai 1995), a CCK-8 (Stroff és mtsai 1994), a bombesin (Mercer és mtsai 1998), a tachykininok (Stroff és mtsai 1996), a PYY (Yang és mtsai 1999), az EGF (Brzozowski és mtsai 1997a), a TRH (Kato és mtsai 1994) vagy a ghrelin (Sibilia és mtsai 2003) gasztroprotektív hatásának a mediálásában.

Fontos azonban megjegyezni, hogy nagy dózisú SNAP (egy NO-donor vegyület) mukozális károsodást okozott, amely arra enged következtetni, hogy a NO nagy koncentrációban toxikus hatást fejt ki (Lopez-Belmonte és mtsai 1993). Ennek hátterében feltehetően a NO és szuperoxid anion reakciójából keletkező peroxinitrit állhat, melyből igen reaktív hidroxil gyök képződhet (Beckman és mtsai 1990).

### **1.1.2.1.4. H<sub>2</sub>S**

Az utóbbi években a NO mellett egy újabb kis molekulatömegű gázzal, a H<sub>2</sub>S-ről is kiderült, hogy fontos mediátor a szervezetünkben (ún. „gasotransmitter”). Szintéziséért 2 enzim, a CBS (cystathionin β-synthase) és a CSE (cystathionin γ-lyase) felelős, előbbi főleg a központi idegrendszerben, utóbbi pedig egyéb szervekben (pl. máj,

kardiovaszkuláris rendszer, simaizomsejtek) expresszáldik (összefoglalóért ld. Kimura 2002). Emellett nem kizárt, hogy H<sub>2</sub>S nem enzimátikus módon, a vörösvértestek által is jelentősebb mennyiségben keletkezik (Searcy és Lee 1998).

Egyéb hatásai mellett (központi idegrendszeri hatások, simaizomrelaxáció, gyulladásoo folyamatok mediálása, ileum és colon relaxációja) (Fiorucci és mtsai 2006) fontos szerepet játszik a mukozális integritás fenntartásában. A mukozális H<sub>2</sub>S szintéziséért főleg a CSE felelős. Vazodilatáló hatása révén a H<sub>2</sub>S fokozza a gyomor mukoza vérátáramlását, emellett feltehetően a NSAID-ok károsító hatásához a CSE expresszió gátlása és ezáltal a csökkent H<sub>2</sub>S képződés is hozzájárul (Fiorucci és mtsai 2005).

#### **1.1.2.1.5. Szenzoros neuropeptidek**

Az extrinsic és intrinsic szenzoros afferensek aktiválódása különböző károsító ágensek hatására szintén fontos részét képezi a gasztrointesztinális védelemnek. Az extrinsic afferensek eredésük szerint két csoportba sorolhatóak, egyrészt spinális afferensek (sejttestjei a hátsó gyöki ganglionokban találhatóak és a splanchnicus illetve mesentericus idegeken keresztül futnak a gyomorhoz), másrészt vagális afferensek (melyek sejttestjei a ggl. nodosában és jugularisban találhatóak). Az intrinsic afferensek a gasztrointesztinális traktus (GIT) falában található submucosus és myentericus plexusból erednek (összefoglalókért ld. Gyires 2005, Holzer 2002). Az extrinsic afferensek C- (nem mielinizált) idegrostjai capsaicinnel szelektíven aktiválhatóak, nagyobb dózisú capsaicin ezzel szemben az idegek degenerációját illetve tartós gátlását okozza (Holzer 1998). Az A $\delta$ - (vékony mielinhüvellyel rendelkező) rostok illetve az intrinsic afferensek ugyanakkor capsaicinre inszenzítívek.

Az afferens idegrostok körülölelik a mukozális artériákat és arteriolákat és aktivációjuk során neuropeptideket szabadítanak fel, mint pl. CGRP-t, tachykinineket (SP, NKA) és VIP-et (Kwok és McIntosh 1990, Maggi 1995). A felszabadult CGRP hatására erőteljes vazodilatáció következik be, a megnövekedett mukozális vérátáramlás pedig a nyálkahártyát védő hatású (ld. fentebb). A vazodilatációt az arteriolák endotheljéből felszabaduló NO mediálja (az endothel-sejteken található CGRP-1 receptorok aktivációja révén), azonban kimutatták, hogy nagyobb koncentrációban a CGRP direkt vazodilatáló hatású (Holzer és mtsai 1993, Holzer 1998). Emellett CGRP hatására



csökken a savszekréció (szintén CGRP-1 receptor által mediált hatás), ugyanis gátolja a gasztrin- és Ach-felszabadulását valamint serkenti a szomatosztatin szekréciót (Evangelista és mtsai 1992, Manela és mtsai 1995).

A CGRP mellett a tachykininek is protektív hatásúak, ugyanis szignifikánsan csökkentették az ethanol okozta nyálkahártya károsodás mértékét (Stroff és mtsai 1996). Bár a tachykininek erekre gyakorolt hatása az irodalom tükrében meglehetősen ellentmondásos, úgy tűnik, hogy az általuk okozott mukozális védelmet nem a vérátáramlás fokozódása okozza (Stroff és mtsai 1996).

Végezetül érdemes megemlíteni, hogy az extrinsic afferensek aktivációja is része az adaptív citoprotekciónak, mivel enyhe irritánsok vérátáramlást növelő hatását capsaicin előkezelés csökkentette (Matsumoto és mtsai 1992).

A fentiekben felsorolt mediátorok szorosan együttműködnek a mukozális integritás fenntartása érdekében. Például NO egyaránt fokozza a CSE expresszióját és a H<sub>2</sub>S képződését (Zhao és mtsai 2001) valamint a COX aktivitását (Salvemini és mtsai 1993). Ha az egyik protektív faktor szintje lecsökken, a nyálkahártya vulnerabilitása fokozódik, de ez általában még nem okoz mukozális károsodást. Ligumsky és mtsai (1983) megfigyelték, hogy a gyomor PG-szintjének 95%-os csökkenése sem vezetett önmagában nyálkahártya károsodáshoz és ugyancsak nem okozott léziókat a NO-szintézis felfüggesztése sem (Whittle és mtsai 1990). Ellenben ha a NO szintézisét capsaicinnal vagy indometacinnal előkezelt állatokon gátolták meg (vagyis előzetesen denerválták az extrinsic afferenseket illetve csökkentették a PG-ok szintjét), makroszkópos léziók alakultak ki (Whittle és mtsai 1990). Hasonlóan, ha a COX-1 vagy COX-2 enzimeket kísérletesen szelektíven legátoljuk, nem alakulnak ki fekélyek (Wallace és mtsai 2000), capsaicin vagy L-NAME előkezelést követően azonban már bármelyikük gátlása dózis-függő nyálkahártya károsodást eredményez (Ehrlich és mtsai 2004).

#### **1.1.2.2. A központi idegrendszer (KIR) szerepe a gyomorvédelemben**

A KIR szoros, kétirányú kapcsolatban áll a GIT falában található enterális idegrendszerrel (mely utóbbit a maga közel 100 millió neuronjával újabban egyfajta

„mini agynak” tekintenek). Az agy-GIT közötti interakciónak (az ún. agy-bél-tengelynek, brain-gut axis) a működési zavara szerepet játszik a funkcionális gasztrointesztinális zavarok (FGID) és feltehetően a gyulladásos bélbetegségek patogenezisében is (összefoglalóért ld. Bhatia és Tandon 2005, Mayer és mtsai 2006). Bár a gyomor mukoza védelme közvetlenül a fentiekben részletezett perifériás mediátorok révén valósul meg, a KIR számos ponton befolyásolja ezen faktorok működését. Már a 19. században megfigyelték, hogy KIR-i traumák, tumorok gyakran társulnak gasztrointesztinális vérzésekkel, fekélyekkel (Long és mtsai 1962), Harvey Cushing pedig a fekélyek kialakulását a fokozott vágusz aktivitás és a hiperaciditás következményének tulajdonította (Cushing 1932). A stressz-fekélyek kialakulásában különösen fontos szerepet játszik a KIR. Állatkísérletekben mind különböző antidepresszánsokról (pl. amytriptylin, imipramin), mind benzodiazepinekről (chlordiazepoxid, lorazepam) kimutatták, hogy védenek stressz-fekéllyel szemben (File és Pearce 1981, Hernandez és Xue 1989, Sen és mtsai 2002).

Emellett számos neuropeptidről bebizonyosodott, hogy centrális (i.c., i.c.v., vagy meghatározott magokba történő) adagolás során véd sav-függő és/vagy savelválasztástól független fekélyekkel szemben. (Ezen két fekély-modell alapvetően eltérő mechanizmusok vizsgálatára ad lehetőséget. Az előbbi esetében a fekélyek kialakulásának hátterében fokozott savszekréció áll, míg a sav-független fekélymodellek esetében a nyálkahártya károsodását nekrotizáló anyagokkal, mint pl. 100%-os alkohollal indukáljuk. Ez utóbbi modell alkalmazásakor egy adott vegyület védőhatása a mukozális védelem fokozását, vagyis gasztroprotektív hatást jelent.) Centrálisan injektált amylin, bombezin, neurotenzin vagy CRF egyaránt csökkentették a sav-szekréciót és gátolták a sav-függő stressz-fekély illetve aszpirin- és indometacin-indukálta fekélyek kialakulását. Ugyanakkor a PYY, adrenomedullin vagy kis dóziszú TRH az etanolos károsodással szemben bizonyultak védőhatásúnak, mely (ahogy az előbb említettem) egy savelválasztástól független fekély-modell (Gyires 2004).

A védelemben részt vevő különböző agyi struktúrák közül az egyik legfontosabb a hypothalamus, mely bidirekcionális kapcsolatban áll az autonóm központokkal és mind a paraszimpatikus, dorzális motoros váguszmagból (DMV) eredő, mind a szimpatikus, (thoracolumbalis intermediolaterális sejtoszlopból eredő) preganglionáris neuronok

működését befolyásolva jelentős szerepet játszik az agy-bél tengely szabályozásában (Palkovits 1999).

Ennek megfelelően számos irodalmi adat demonstrálja a hypothalamikus magok kiemelt szerepét a GIT különböző funkciói, és ezen belül a mukozális integritás regulációjában. Mind a nucleus paraventricularisról (PVN), mind a laterális és ventromediális hypothalamusról (LH és VMH) kimutatták, hogy befolyásolják a savszekréciót (Rogers és Hermann 1985, Tache és mtsai 1982, Weingarten és Powley 1980). A PVN elektromos stimulációja necrosisok és hemorrhagiák kialakulását indukálja a gyomorban és a duodenumban egyaránt (Ferguson és mtsai 1988), emellett fokozza a stressz-fekélyek kialakulását (Zhang és Zheng 1997). A LH ezzel szemben protektív hatású - stimulációja fokozza a mukozális vérátáramlást (Osumi és mtsai 1977), míg léziója órákon belül nyálkahártya károsodáshoz vezet (Grijalva és mtsai 1980), melynek hátterében több mechanizmust is feltételeznek, így például a nyálkahártya barrier funkciójának csökkenését, az epés béltartalom refluxát, az akut savszekréció-fokozódást vagy vágusz-mediált nagy amplitúdójú gyomorkontrakciók kialakulását (Berk és Finkelstein 1982, Garrick és mtsai 1993, Grijalva és mtsai 1980, Tache és mtsai 1982).

A hypothalamus mellett szintén nagyon fontos a nyúltvelőben található dorzális vágusz komplex (DVC). Ennek részét képezi a nucleus tractus solitarii (NTS), mely a zsigerekből érkező információk fő bemeneti kapuja. A gyomorból érkező vagális primer afferensek a NTS mediális és gelatinosus almagjaiba futnak, ahol glutamát felszabaduláson keresztül GABAerg neuronokat aktiválnak. Ezen neuronok tónosus gátló hatást fejtenek ki a DVC másik magjának, a DMV-nek a neuronjaira, melyek lassú frekvenciájú, spontán pacemaker aktivitással rendelkeznek. A DMV-ben erednek a vagális efferensek, melyek a vago-vagális reflex leszálló szárát képezve a gyomorhoz (és egyéb zsigerekhez) futva befolyásolják a motorikus és szekréciós funkciókat, valamint a mukozális védelmet (összefoglalóért ld. Travagli és mtsai 2006). A vágusznak a kiemelt szerepét támasztja alá a gyomorvédelemben, hogy atropinnal történő előkezelést vagy vagotomiát követően számos fentebb említett neuropeptid (TRH, PYY, amylin, adrenomedullin) hatása gátlódott (Guidobono és mtsai 1994, Kato és mtsai 1994, Kato és mtsai 1995, Yang és mtsai 1999). A vágusz által mediált mukozális védelemért a PG-ok és a NO felszabadulása a felelős (Singh 1980, Tanaka és

mtsai 1993), de közvetve - PG-ok, hisztamin és 5-HT felszabadulásán keresztül - a szenzoros afferensek aktivációja is (Yanagisawa és Tache 1990).

A vago-vagális reflexet egyéb KIR-i területekből jövő információk módosíthatják, hiszen a DVC számos maggal és struktúrával áll szoros összeköttetésben, pl. a nucleus ambiguus-sal, a formatio reticularissal, a medulláris noradrenerg neuronokkal és raphe magokkal (főleg a raphe obscurussal), az amygdalával illetve a fentebb említett hypothalamussal (Hayakawa és mtsai 1997, Rogers és mtsai 1999, Swanson és Kuypers 1980, Takahashi és mtsai 1979, Travagli és mtsai 1992). Ezen kiterjedt projekciós hálózat az alapja annak, hogy az említett magok közül többről is bebizonyosodott (így az amygdala centrális magjáról, a nucleus accumbensről, a locus coeruleusról vagy a raphe pallidusról), hogy szerepet játszik a KIR által indukált mukozális védelem kialakításában (Kaneko és mtsai 1995, Kauffman 1997, Monnikes és mtsai 1996, Ray és mtsai 1990).

Az eddigiekben a gyomornyálkahártya integritásának szabályozásában résztvevő fontosabb központi idegrendszeri struktúrákat illetve perifériás mediátorokat ismertettem. A következő fejezet az opioid rendszerrel foglalkozik, mely ugyancsak fontos szereppel bír a mukozális védelem kialakításában, doktori munkám szempontjából pedig kiemelt jelentőségű.

## **1.2. Az opioid rendszer**

Az endogén opioid rendszer szervezetünk egyik fontos szabályozó rendszere: részt vesz többek között a fájdalomérzet, a tanulási és memóriefolyamatok, az immunválasz, vagy a stresszre adott válaszreakció regulációjában (összefoglalóért ld Olson és mtsai 1998). Jelentős szerep jut ugyanakkor az opioidoknak a GI rendszer funkcióinak szabályozásában is. Ennek anatómiai alapjául szolgál, hogy mind opioid receptorok, mind endogén opioid peptidek megtalálhatók a GIT-ban. Főleg  $\mu$ - és  $\kappa$ -opioid receptorok fordulnak elő a plexus submucosus és myentericus neuronjain illetve a simaizomsejteken, de  $\delta$ -receptorokat is kimutattak a gyomor mukozában és submukozában. Az endogén opioidok közül enkephalinokat és dynorphinokat találunk az enterális neuronokban illetve a chromaffin sejtekben. Emellett opioid receptorok

találhatóak szerte a KIR-ben, így a GI rendszer szempontjából kiemelt jelentőségű hypothalamusban és DVC-ben is, mégpedig leginkább  $\mu$ - és  $\kappa$ -receptorok (Kromer 1988, Kromer 1990, Mansour és mtsai 1995, Nishimura és mtsai 1986). Az opioidok gasztrointesztinális hatásai magukban foglalják a motilitás gátlását, az elektrolit-, folyadéktranszport és szekréciós folyamatok szabályozását, illetve a mukozális integritás fenntartását (összefoglalóként ld. Bueno és Fioramonti 1988, Burks és mtsai 1988, Gyires 2004). Mivel három különböző opioid receptor létezik (a fentebb már említett  $\mu$ ,  $\delta$  és  $\kappa$ , melyek további szubtypusokra oszthatók fel) és az egyes receptorok különböző hatásokat közvetíthetnek, (pl. a  $\mu$ -receptorok felelősek az eufória és függőség kialakulásáért), az elmúlt évtizedek kutatásai során törekedtek a gasztrointesztinális hatásokat is egy-egy adott opioid receptor típushoz hozzárendelni. A motilitás gátlásában, a gyomorürülés és GI tranzit késleltetésében főleg a  $\mu$ - és  $\delta$ -receptorok vesznek részt, bár a  $\kappa$ -receptorok szerepét is leírták a kontrakciók gátlásában (Allescher és mtsai 2000a, Allescher és mtsai 2000b, Burks és mtsai 1988). A hatás egyrészt perifériás, másrészt centrális támadáspontú. Az aszcendáló, kolinerg illetve tachykininerg excitátoros neuronok transzmittereinek felszabadulása gátlódik, ezáltal mérséklődnek a kontrakciók és lassul a tranzit. Ugyanakkor a leszálló NANC (NOerg és VIPerg) neuronokon lévő  $\mu$ -receptorok a transzmitter felszabadulás gátlása révén csökkentik a relaxációt és a compliance-t (Sternini 2001). Centrálisan gátolják a NTS-ból eredő és a DMV kolinerg neuronjaihoz futó glutamáterg és az NANC-neuronokhoz futó GABAerg neuronokat (bár utóbbiak  $\mu$ -receptorai internalizáltak és csak meghatározott ingerekre - pl. CCK vagy TRH hatására - kerülnek a neuronok felszínére) (Browning és mtsai 2002, Browning és mtsai 2004).

Az opioidok savszekrécióra gyakorolt hatása az irodalom tükrében meglehetősen ellentmondásos, de az adatok többsége arra utal, hogy gátló hatást fejtenek ki, méghozzá centrális és perifériás  $\mu$ -receptorok aktivációján keresztül (Fox és Burks 1988, Improta és Broccardo 1994). A  $\delta$ - és  $\kappa$ -receptorok a savszekréció szabályozása szempontjából kisebb jelentőséggel bírnak (Fox és Burks 1988, Gyires és mtsai 2001, Improta és Broccardo 1994), bár érdemes megjegyezni, hogy  $\delta$ -agonisták védőhatásúnak bizonyultak indometacinos (sav-függő) fekély-modellben (ld. lentebb) és az  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonisták savszekréciót csökkentő hatását a  $\delta$ -opioid receptor antagonistá naltindol felfüggesztette (Gyires és mtsai 2001, Mullner és mtsai 2001).

Jelen dolgozat szempontjából az opioidok gasztroprotektív hatása különös fontossággal bír - ezen szerepüket mind sav-függő, mind sav-független fekélymodellekben vizsgálták, perifériás és centrális adagolás során egyaránt. Az irodalmi adatok arra utalnak, hogy mind a  $\mu$ -, mind a  $\delta$ -opioid receptorok szerepet játszanak az opioidok protektív hatásának mediálásában. Sav-dependens fekély-modellek (pl. indometacinos vagy stressz-fekély) esetén gyomorvédő hatást írtak le a morfinnál (i.p. és i.c.v. adagolás esetén) (Ferri és mtsai 1983, Glavin 1985),  $\beta$ -endorfinnál (i.c.) (Hernandez és mtsai 1983), akárcsak a szelektív  $\mu$ -agonista DAMGO (i.c.v) és különböző szelektív  $\delta$ -opioid receptor agonista peptidek (deltorphin II, DADLE és DPDPE i.c.v) esetében (Gyires és Ronai 2001, Scoto és Parenti 1993). Az opioidok ezenfelül sav-független fekély-modellekben is védőhatásúnak bizonyultak (azaz hatásukra fokozódott a mukozális védelem) és akárcsak az előbbi esetben, itt is a  $\mu$ - és  $\delta$ -receptorok kulcsfontosságúak. Ezen receptorok aktivációja DAMME-val (egy Met-enkephalin analóg vegyülettel) például szignifikánsan gátolta a nekrotizáló ágensek (alkohol, 0.6 N HCl) szövetkárosító hatását perifériás adagolás során (Speroni és mtsai 1996). Morfin és különböző  $\delta$ -agonisták (DADLE, DPDPE, deltorphin II) szintén védtek alkoholos fekély-modellen szubkután adagolást követően. Mivel az utóbbi peptidek nem képesek átjutni a vér-agy-gáton, a hatásukat valószínűleg perifériás  $\delta$ -receptorok közvetítették (Bhounsule és mtsai 1992, Gyires 1990). Ezen vegyületek azonban centrális (i.c.v. illetve i.c.) alkalmazás esetén is gátló hatást fejtettek ki az alkohol okozta mukozális léziókkal szemben, vagyis nemcsak a perifériás, hanem a centrális  $\delta$ -receptorok is szerepet játszanak ezen mechanizmusokban. Mivel a peptidek intraciszternálisan jobban hatottak, mint i.c.v. adagolást követően, a szerzők a hatás helyét az agytörzsben feltételezték. A centrális  $\delta$ -receptorok közül feltehetően a  $\delta_2$ -szubtípus szerepe fontosabb, ugyanis a szelektív  $\delta_2$ -agonista deltorphin II nagyobb hatáserősséggel gátolta az alkoholos fekélyek kialakulását, mint a  $\delta_1$ -szubtípus szelektív DPDPE (Gyires és Ronai 2001). Védőhatást fejtett ki a  $\beta$ -endorfin is centrális adagolás során (Gyires és mtsai 2000b). Egy későbbi kísérletsorozat alapján a szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy feltehetően a NTS-ban található endorfinerg neuronok játszanak szerepet a  $\beta$ -endorfin által mediált gyomorvédelemben, és nem a nucleus arcuatusból (az agy fő

$\beta$ -endorfin forrásából) a DVC-hez projiciáló endorfinerg neuronok (Ronai és mtsai 2001).

A fentiekből látható, hogy az opioidok mind centrálisan, mind perifériásan képesek a mukozális védelem fokozására, a centrális hatás mediálásában pedig - akárcsak számos egyéb vegyület esetében - fontos szerepet játszik a DVC és a n. vágusz. A vágusz szerepét támasztják alá azon megfigyelések is, melyek során a centrálisan adott opioidok védőhatását bilaterális vagotómia felfüggesztette (Gyires és Ronai 2001). Felmerült a kérdés, hogy melyek azok a perifériás védőfaktorok, melyek szerepet játszanak az opioidok által indukált gasztroprotekciónban. A PG-ok és a NO szerepe bizonyítást nyert (Ferri és mtsai 1988, Gyires 1994, Gyires és Ronai 2001), ezek mellett azonban egyéb mechanizmusok is szóba kerültek, így az ATP-függő  $K^+$ -csatornák nyílása (Bhounsule és mtsai 1992), a mukozális szulfhidriek fokozott képződése (Gyires 1990), a mucus-szekréció stimulációja (Ho és mtsai 1986) vagy a csökkent hisztamin-felszabadulás az ECL-sejtekből (Speroni és mtsai 1996).

Érdemes azonban megemlíteni, hogy a fentieknek ellentmondó irodalmi adatok is napvilágot láttak, egyes esetekben ugyanis az opioidok fokozták a nyálkahártya-károsodás mértékét. Így pl. morfin perifériásan egyaránt fokozta az alkoholos-, az indometacinos illetve a stressz-fekélyek súlyosságát (Esplugues és mtsai 1992, Gyires és mtsai 1985, Parmar és mtsai 1987, Till és mtsai 1988). Ezen ellentmondás feloldása azért különösen nehéz, mert az opioidok a fekélyeket súlyosbító hatást ugyanazon dózistartományban fejtették ki, mint a védőhatást. Esplugues és mtsai (1992) az opioidok ulcerogén hatását azzal magyarázták, hogy ezen gátló hatásokat kifejtő peptidek csökkentik a szenzoros végkészülékekből a gasztroprotektív neuropeptidek felszabadulását.

Összefoglalva a fentieket, az opioid receptorok közül a  $\mu$ - és a  $\delta$ -receptorok vesznek részt a mukozális védelem fokozásában és ennek megfelelően a klasszikus endogén opioidok közül mind az enkephalinok (melyek főleg  $\delta$ -receptorokat képesek aktiválni), mind a  $\beta$ -endorfin (mely  $\mu$ - és  $\delta$ -receptorokat egyaránt aktivál) protektív hatásúnak bizonyult különböző fekély-modellekben (Ferri és mtsai 1983, Ferri és mtsai 1988, Gyires és mtsai 2000b, Hernandez és mtsai 1983).

A  $\mu$ -receptorok gasztroprotekciónban betöltött fontos szerepe miatt kezdtem foglalkozni ezen receptorok endogén ligandjaival, az endomorfinnal. A következő fejezetekben az ezen peptidekkel kapcsolatos irodalmi adatokat tekintem át röviden.

### **1.2.1. Az endomorfink**

#### **1.2.1.1. Az endomorfink felfedezése**

Míg a  $\delta$ - és  $\kappa$ -receptorok endogén ligandjait, az enkephalinokat és dynorfinokat már a 70-es évek közepén/80-as évek elején leírták (Chavkin és mtsai 1982, Hughes és mtsai 1975), a  $\mu$ -opioid receptorok szelektív endogén ligandjának felfedezése 1997-ig váratott magára. (Bár korábban is találtak  $\mu$ -szelektív peptideket, így a casomorphint, hemorphint, Tyr-MIF-1-et illetve a Tyr-W-MIF-1-et, ezek affinitása jóval alacsonyabb, mint a YGGF N-terminális szekvenciával rendelkező endogén opioidoké.)

1997-ben Zadina és mtsai (1997) kutatásaik során a Tyr-W-MIF-1-et (Y-P-W-G-NH<sub>2</sub>) vették alapul, és mivel az első három aminosav kicserélése jelentősen csökkenti az opioid receptorokhoz való kötődést, csupán a negyediket cserélték ki a 20 lehetséges természetes aminosav egyikével. Az így szintetizált peptidek  $\mu$ -receptorokhoz való kötését vizsgálva találták meg a Tyr-Pro-Trp-Phe-NH<sub>2</sub>-t, mely gátolta az elektromosan indukált tengerimalac ileum kontrakciókat in vitro (mégpedig nagyobb hatáserősséggel, mint a  $\mu$ -szelektív szintetikus enkephalin-származék DAMGO), in vivo pedig hosszan tartó (az állatok felénél 1 óra után is fennálló) analgéziát okozott szupraspinális (i.c.v.) és spinális (i.t.) adagolás során egyaránt. A  $\mu$ -receptorok szerepét bizonyítja, hogy a szelektív  $\mu$ -opioid receptor antagonistá CTOP felfüggesztette a fenti hatásokat, míg a  $\kappa$ -opioid receptor antagonistá norbinaltorphimin nem befolyásolta.

A megsintetizált peptidet sikerült szarvasmarha agyból is kimutatni, azonban ekkor egy másik peptidet is találtak, mely csupán egyetlen aminosavban tért el az előzőtől (Tyr-Pro-Phe-Phe-NH<sub>2</sub>). Mivel mindkét endogén peptid igen szelektív a  $\mu$ -receptorokra (az első peptid esetében ez 4000x-es és 15000x-es, a másodiknál pedig 13000x-es és 7000x-es szelektivitást jelent a  $\delta$ - és  $\kappa$ -receptorokhoz viszonyítva), a morfin után endomorfinnak (endomorfín-1 és endomorfín-2) nevezték el őket. A két endomorfint még abban az évben sikerült humán agyból is kimutatni (Hackler és mtsai 1997).



### **1.2.1.2. Az endomorfinok általános jellemzői**

Az endomorfinok több dologban is különböznek a korábban leírt endogén opioid peptidektől. Az egyik legszembevetőbb különbség, hogy míg az enkephalinok, endorfinok és dynorfinok Y-G-G-F szekvenciával rendelkeznek N-terminálisan, az endomorfinok a Y-G helyett Y-P aminosavakat tartalmaznak. További sajátosságuk, hogy igen rövid peptidlánccal rendelkeznek (az endomorfinok tetrapeptidek, így a legrövidebb endogén opioidok), valamint C-terminálisan amidáltak.

Az endomorfinok, mint a  $\mu$ -receptorok endogén ligandjai, nagy szelektivitással és affinitással kötődnek receptoraikhoz. Szelektivitásuk még a DAMGO-ét is meghaladja (ld. fentebb), míg affinitásuk nagyjából megegyezik a DAMGO esetében mért értékkel (Zadina és mtsai 1997). A két endomorfin affinitása nagyjából azonos a  $\mu$ -receptorok iránt, bár a különböző munkacsoportok meglehetősen változatos  $K_i$  értékeket kaptak. (A különbségekért feltehetően az eltérő kísérleti körülmények tehetők felelőssé, mint pl. a hőmérsékleti eltérések, vagy a NaCl és GDP eltérő koncentrációi a puffer oldatban) (összefoglalóért ld. Horvath 2000). Hatékonyságuk ugyanakkor kb. 60-70%-a a DAMGO-énak (Alt és mtsai 1998, Harrison és mtsai 1998, Sim és mtsai 1998) és endomorfin-1 előkezelés a DAMGO hatását csökkentette (Sim és mtsai 1998), vagyis - érdekes módon - az endomorfinok a  $\mu$ -receptorok parciális agonistái (Hosohata és mtsai 1998, Sim és mtsai 1998).

Eloszlásuk a KIR-ben széleskörű, és mint endogén  $\mu$ -ligandoktól elvárható, jelentős átfedést mutat a  $\mu$ -receptorok lokalizációjával. Így bőségesen előfordulnak pl. a stria terminalisban, a nucleus accumbensben, vagy számos hypothalamikus magban (Martin-Schild és mtsai 1999). Disztribúciójuk hasonlít a klasszikus endogén opioidokééhoz, az endomorfin-2 eloszlása pedig leginkább a  $\beta$ -endorfinéval mutat hasonlóságot, ugyanis az enkephalinokkal és dynorfinokkal ellentétben nem mutatható ki a hippocampusban és a striatumban. A KIR-en kívül, a perifériás szövetekben ezidáig csupán a plazmában (Coventry és mtsai 2001) és az immunszövetekben (lép, thymus) (Jessop és mtsai 2000) mutattak ki endomorfinokat.

Prekursoruk egyelőre nem ismert, a lebontásukért felelős enzimeket azonban már azonosították. Az enzimatis degradáció első lépéséért egy membrán-kötött szerin-proteáz, a dipeptidyl peptidase IV (DPP IV, EC.3.4.14.5.) felelős, mely a peptidek N-

terminális végéről lehasítja a Tyr-Pro dipeptidet, a továbbiakban pedig a dipeptidek lebontását aminopeptidázok végzik (Sakurada és mtsai 2003, Shane és mtsai 1999). A DPP IV enzim gátlószerét, a diprotin A-t alkalmazva az endomorfínok szintjét megemelhetjük, ezt kísérleteim során is felhasználtam.

Az endomorfínok analgézias hatását az elmúlt évek során számos munkacsoport igazolta a legkülönbözőbb fájdalom-tesztekben mind centrális, mind perifériás adagolás során (Horvath 2000). Több eredmény is arra utal, hogy hatásosabbak spinális (i.t.), mint szupraspinális (i.c.v.) adagolás során (Sakurada és mtsai 1999, Zadina és mtsai 1997). Az endomorfínoknak (főleg az endomorfín-1-nek) több olyan tulajdonságára is fény derült, melyek alapján ideális analgetikumok lehetnek a közeljövőben. Bár gyulladássos fájdalmakban hatásuk gyengébb a morfín vagy a DAMGO analgetikus hatásánál, neuropátiás fájdalmakban (melyekben az opioidok hatása általában korlátozott) az endomorfínok jelentős analgetikus hatással rendelkeznek (Przewlocka és mtsai 1999). Emellett endomorfín-1-gyel sikerült analgéziát kiváltani anélkül, hogy a két leghátrányosabb opioid mellékhatás, a légzésdepresszió illetve a hozzá szokásért felelős reward hatás kialakult volna (Czapla és mtsai 2000, Wilson és mtsai 2000). (Ez utóbbi volt egyúttal az első bizonyíték arra, hogy centrálisan injiciált  $\mu$ -agonistával analgéziát lehet kiváltani reward nélkül.)

Az analgézian kívül az endomorfínok számos egyéb hatását is leírták, így többek között vérnyomás- és perctérfogat csökkenést (Champion és mtsai 1997), fokozott táplálékfelvételt és szorongásoldást (Asakawa és mtsai 1998), köhögéscsillapítást (Kamei és mtsai 2003) vagy éppen gátolt tanulási és memória funkciókat (Sandin és mtsai 2000, Ukai és mtsai 2001).

### **1.2.1.3. Az endomorfínok gasztrointesztinális hatásai**

Bár az utóbbi években számos közlemény foglalkozott az endomorfínok különböző hatásaival, a gasztrointesztinális hatások tekintetében jóval kevesebb adat áll rendelkezésünkre. Ez azért is meglepő, mivel - ahogy arról egy fentebbi fejezetben már szó volt - az opioidok és opioid receptorok (különösen a  $\mu$ -receptor) igen fontos szerepet játszanak a gasztrointesztinális rendszer funkcióinak szabályozásában. Az

endomorfinek reguláló szerepe ezen a téren tehát nem kérdéses, a részletes vizsgálatok azonban még hiányoznak.

Az egyetlen terület, ahol hatásukat leírták, a gasztrointesztinális motilitás szabályozása, azonban itt is főleg in vitro kísérletek eredményei állnak rendelkezésünkre. Mivel az endomorfinek gátolják az elektromosan indukált kontrakciókat és az Ach-felszabadulást tengerimalac ileumon és patkány gyomor preparátumon (McConalogue és mtsai 1999, Tonini és mtsai 1998, Yokotani és Osumi 1998, Zadina és mtsai 1997), az Ach által kiváltott kontrakciókat azonban nem befolyásolják (Tonini és mtsai 1998), motilitásgátló hatásukat valószínűsíthetően a plexus myentericus neuronjain lévő  $\mu$ -receptorok aktivációja és ezáltal az Ach-felszabadulás gátlása révén érik el. Az egyetlen in vivo kísérletsorozatot Goldberg és mtsai (1998) végezték el, akik kimutatták, hogy az endomorfinek i.c.v. gátolják a gasztrointesztinális tranzitot egérben.

### **1.3. A nociceptin és nocistatin**

Az opioid rendszer fontos szerepe a gyomorvédelemben egy másik endogén rendszerre, az opioidokkal rokon nociceptin/nocistatin rendszerre irányította a figyelmet. A következőkben ezen két peptid jellemzőit és hatásait foglalnám össze.

#### **1.3.1. A nociceptin**

##### **1.3.1.1. A nociceptin és receptorának felfedezése**

Miután a  $\mu$ -,  $\delta$ - és  $\kappa$ -opioid receptorokat klónozták illetve szekvenciájukat azonosították, számos munkacsoport állt neki további opioid receptorok keresésének. 1994-ben sikerült is azonosítani egy receptort, melynek szerkezete közel 60 %-os homológiát mutat az opioid receptorokkal, mégsem kötődnek hozzá az opioidok nagy affinitással. Ezen „opioid receptor szerű receptor” (opioid receptor-like, ORL-1) endogén ligand hiányában egy évig „árva” (orphan) volt, majd 1995-ben két laboratóriumnak is sikerült egymástól függetlenül azonosítani ligandját, egy heptadekapeptidet, melynek a nociceptin illetve orphanin FQ nevet adták (előbbi a peptid hiperalgéziás, pro-nociceptív hatására, míg utóbbi az árva receptorra illetve az N-

és C-terminálisan található Phe és Gln aminosavakra utal) (Meunier és mtsai 1995, Mollereau és mtsai 1994, Reinscheid és mtsai 1995). Az ORL-1-et pedig (lévén „árvasága” megszűnt) a későbbiekben átnevezték N/OFQ peptid (NOP) receptorrá.

### **1.3.1.2. A nociceptin (N/OFQ) jellemzői és hatásai**

Bár a NOP receptor szerkezete megközelítőleg azonos százalékban (~60 %) homológ a három különböző opioid receptor típus szerkezetével, a savas 2. exofaciális huroknak köszönhetően mégis leginkább a  $\kappa$ -receptorhoz hasonlít (Chen és mtsai 1994). Ezért aztán nem meglepő, hogy a N/OFQ is leginkább a dynorphin A-hoz hasonló struktúrával rendelkezik: mindkét peptidet 17 aminosav alkotja, melyekből 6 megegyezik. Ezenfelül a N/OFQ prekuzora, a preproN/OFQ is hasonlít az endogén opioidok prekuzoraihoz (mivel több endogén peptidet is tartalmaz, talán leginkább a proopiomelanokortinhoz), és feltételezik, hogy közös őstől származnak (Mollereau és mtsai 1996, Nothacker és mtsai 1996). Nem csak szerkezetbeli hasonlóságokat találunk a N/OFQ- és az opioid-rendszer között: központi idegrendszeri eloszlásuk is hasonló. NOP receptor protein és mRNS található többek között a cortexben, hippocampusban, nucleus accumbensben, amygdalában, thalamusban és hypothalamusban, a NTS-ban és a DMV-ben vagy a gerincvelő hátsó szarvában (Darland és mtsai 1998, Neal, Jr. és mtsai 1999a). A preproN/OFQ eloszlása az opioid prekuzorokkal összevetve a proenkephalinéhoz hasonlít leginkább, így megtalálható a laterális septumban, thalamusban, hypothalamusban, amygdalában, hippocampusban és számos agytörzsi magban, melyek közül megintcsak kiemelendő a NTS (Boom és mtsai 1999). Ezen struktúrákban magát a N/OFQ peptidet is kimutatták (Neal, Jr. és mtsai 1999b). Ugyanakkor N/OFQ-opioid ko-lokalizációt nem sikerült kimutatni, vagyis ezen peptidek különböző neuronokban találhatóak (Schulz és mtsai 1996).

A fentiek mutatják, hogy meglehetősen szoros kapcsolat van a N/OFQ és az opioid rendszer között, ennek ellenére a N/OFQ nem mutat nagy affinitást az opioid receptorokkal szemben, és (ahogy fentebb volt róla szó) a NOP receptor sem köti nagy affinitással az opioid peptideket. Ennek egyik fő oka nagy valószínűséggel a N/OFQ N-terminális szakaszában keresendő. Az opioidok N-terminálisan mindig Tyr-t tartalmaznak, melyet (az endomorfínok kivételével) két Gly és egy Phe követ. Ezek az

aminosavak alkotják a „message” részét a peptideknek, mely lényegében az opioid aktivitásért felelős (Nothacker és mtsai 1996).

A N/OFQ azonban N-terminálisan Phe-t tartalmaz, az pedig régóta ismert, hogy az opioidok Tyr-jának lecserélése Phe-ra megszünteti az opioid receptorokhoz való kötődést (Shimohigashi és mtsai 1996). (Csupán érdekességképpen jegyzem meg, hogy a N/OFQ Phe-jának Tyr-ra való cseréje - ahogy az várható - megnöveli a peptid opioid receptorok iránti affinitását, viszont a NOP receptor iránti affinitása is megmarad) (Butour és mtsai 1997, Reinscheid és mtsai 1996).

A N/OFQ-opioid kapcsolat megítélését cseppet sem könnyíti meg, ha a peptid hatásait vizsgáljuk. Az elsőként leírt hatása (melynek következtében a nevét is kapta) a nociceptív, hyperalgéziás hatása volt hot plate és tail flick teszten centrális adagolás során (Meunier és mtsai 1995, Reinscheid és mtsai 1995). Erről azonban Mogil és mtsai (1996a) kimutatták, hogy nem igazi hyperalgéziás hatás, csupán egy opioid-antagonizmusról van szó. Az i.c.v. kezelés ugyanis stressz az állatok számára, ami opioid-felszabadulást indukál, a N/OFQ pedig csupán ezt a stressz-indukálta analgézát (SIA) védte ki. A N/OFQ anti-opioid szerepét számos egyéb tanulmány is alátámasztja (Grisel és mtsai 1996, Mogil és mtsai 1996b, Tian és mtsai 1997a).

A N/OFQ azonban korántsem egy egyszerű „anti-opioid peptid”. Számos hatása ugyanis opioid-szerű, így pl. a tanulási folyamatokat és memóriát rontja (Sandin és mtsai 1997), hypotenziót és bradycardiát okoz (Giuliani és mtsai 1997), szorongást csökkent (Jenck és mtsai 1997) vagy éppen fokozza a táplálékfelvételt (Pomonis és mtsai 1996). Ezen hatások egyáltalán nem meglepőek, ha a N/OFQ- és opioid-rendszer közötti számos hasonlóságra (szerkezet, eredet, eloszlás, jelátviteli mechanizmusok) gondolunk. Szintén ebbe a csoportba sorolható a N/OFQ analgetikus hatása is spinális (i.t.) adagolás során (Tian és mtsai 1997a, Xu és mtsai 1996). Mivel egyes kísérletekben ezen analgézát naloxonnal vagy naltrexonnal antagonizálni lehetett, elképzelhető, hogy a N/OFQ opioid pályákat aktivál vagy endogén opioidokat szabadít fel (Jhamandas és mtsai 1998, King és mtsai 1997). A spinálisan injektált N/OFQ tehát éppen ellentétes hatású a szupraspinális N/OFQ-nel és nemcsak hogy nem antagonizálja az opioidok hatását, hanem éppenhogy potenciózza. Egyaránt fokozta a morfin- (Jhamandas és mtsai 1998, Tian és mtsai 1997a) és az endomorfín-1 analgetikus hatását

(Wang és mtsai 1999), valamint az opioidok által mediált elektroakupunktúra-indukálta analgéziát (Tian és mtsai 1997b).

Számos adat utal a N/OFQ szerepére az opioidokkal szembeni tolerancia és dependencia kialakulásában is. N/OFQ-ellenes antitestek centrális adagolása 50%-al csökkentette a krónikus morfin okozta toleranciát és hasonló eredményeket tapasztaltak preproN/OFQ KO-egerekben is (Tian és mtsai 1998, Ueda és mtsai 1997). Krónikus morfin kezelés hatására ugyanakkor fokozott N/OFQ immunreaktivitást mutattak ki a liquorban, PAG-ban és amygdalában (Yuan és mtsai 1999). Ezen eredmények alapján tehát a N/OFQ elősegíti az opioid-tolerancia kialakulását, és elképzelhető, hogy N/OFQ-antagonista alkalmazásával kivédhetnénk a csökkenő opioid hatást krónikus betegek esetében.

Amíg a N/OFQ az opioid-toleranciát fokozza, a dependenciát látszólag csökkenti. Erre utalnak legalábbis azok a tanulmányok, melyekben N/OFQ i.c.v. gátolta a morfin hely preferenciát okozó hatását (Murphy és mtsai 1999), valamint 7 napig adva fokozatosan csökkentette az állatok alkohol-bevitelét (Ciccocioppo és mtsai 1999) (mely utóbbi háttérben az endogén opioidok felszabadulásának gátlása állhat).

A fentiek mellett számos egyéb hatását is leírták a N/OFQ-nek az elmúlt évek során, így a csökkent lokomotoros aktivitást (Reinscheid és mtsai 1995), a neuroendokrin funkciók és immunfolyamatok regulációját (Devine és mtsai 2001, Du és mtsai 1998), illetve arachidonsav-felszabadulás indukálását CHO-sejtekben (Fukada és mtsai 1998). Végezetül meg kell említeni, hogy nem kizárt, hogy a N/OFQ hatásait nem csupán a NOP receptor aktivációján keresztül fejti ki. Erre utalnak Gavioli és mtsai (2008) megfigyelései, melyek szerint a N/OFQ szorongásoldó hatását a benzodiazepin antagonistá flumazenil antagonizálta.

### **1.3.1.3. A N/OFQ gasztrointesztinális hatásai**

Ha figyelembe vesszük, hogy az opioidok milyen fontos szabályozó szerepet játszanak a különböző gasztrointesztinális funkciók szabályozásában, illetve hogy a N/OFQ és az opioidok milyen sajátos kapcsolatban állnak egymással, felmerül a kérdés, hogy mi a helyzet a N/OFQ gasztrointesztinális hatásaival? Elmondható-e róla, hogy ugyanolyan

sokrétű funkcióval bír ezen a téren, mint az opioidok? És ha igen, opioid-szerű, vagy éppen opioid-antagonista hatásokkal bír?

Az opioid receptorokhoz hasonlóan a NOP receptort is sikerült kimutatni patkány és sertés bélpreparátumon (Osinski és mtsai 1999b, Wang és mtsai 1994), ezenfelül N/OFQ-immunreaktív rostokat azonosítottak a patkány vastagbél plexus myentericusában (Yazdani és mtsai 1999). Ugyanakkor, ahogy fentebb leírtam, a hypothalamusban és a dorzális vágusz központban is kimutatható a N/OFQ és receptora. Mind perifériás, mind centrális eloszlása azt sugallja tehát, hogy a N/OFQ-rendszer jelentős befolyással bír a gasztrointesztinális rendszer funkcióira, az elmúlt évek kísérletei pedig bebizonyították, hogy akárcsak az opioidok, a N/OFQ is befolyásolja a savszekréciót, a gyomor-bélrendszer motorikus funkcióit illetve részt vesz a mukozális integritás szabályozásában. Hatásai opioid-szerűek, így pl. a gyomorürülést és gasztrointesztinális tranzitot csökkenti centrális adagolás során (Broccardo és mtsai 2004, Broccardo és mtsai 2007, Osinski és mtsai 1999a), gátolja az EFS-indukálta kontrakciókat és Ach-felszabadulást a gyomorban és vékonybélben (Yazdani és mtsai 1999), valamint protektív hatást fejt ki stressz-fekéllyel (Grandi és mtsai 2007) és alkoholos fekéllyel szemben mind perifériás (i.p.), mind centrális (i.c.v.) alkalmazás során (Morini és mtsai 2005, Polidori és mtsai 2005). A savszekrécióra gyakorolt hatása - akárcsak az opioidok esetében - némileg ellentmondásos; Ishihara és mtsai (2002) azt tapasztalták, hogy centrális adagolás során kisebb dózisokban (0.5-5 nmol/állat) fokozta a savszekréciót. Broccardo és mtsai (2004) ezen dózisokban nem tapasztaltak változást a savszekrécióban, nagyobb dózisok alkalmazása esetén (10 nmol/állat) ezzel szemben savszekréciót csökkentő hatásról számoltak be, melyet naloxon előkezelés gátolt. Kimutták továbbá, hogy perifériás (i.p.) adagolást követően a N/OFQ fokozta a savszekréciót (Broccardo és mtsai 2007).

### **1.3.2. A nocistatin**

A N/OFQ prekurzorának, a preproN/OFQ-nak szerkezetét vizsgálva több kutatócsoport is arra a következtetésre jutott, hogy a N/OFQ-en kívül nagy valószínűséggel egyéb biológiailag aktív peptideket is tartalmazhat. Több olyan Lys-Arg aminosav párat tartalmaz ugyanis, amelyek potenciális hasítási pontok a konvertázok számára. Florin és

mtsai (1997) a N/OFQ-tól C-terminálisan elhelyezkedő heptadekapeptiddal (melyet NocII-nek neveztek el) végeztek kísérletek, míg Okuda-Ashitaka és munkacsoportja (1998) mind a négy lehetséges peptidet megszintetizálták, amely a N/OFQ mellett kihasadhat a prekursorból. Ezen peptidek közül az eredetileg bPNP-3-mal jelölt vegyület, bár önmagában nem befolyásolta a fájdalomérzetet, szignifikánsan gátolta a N/OFQ allodiniát és hyperalgeziát okozó hatását, míg az ellene kialakított antitestekkel történő előkezelés fokozta a N/OFQ hatását. A peptidet, mely a nocistatin nevet kapta, sikerült mind szarvasmarha agyból (Okuda-Ashitaka és mtsai 1998), mind humán agyból és liquorból izolálni (Lee és mtsai 1999).

### **1.3.2.1. A nocistatin (NST) jellemzői és hatásai**

Amíg a N/OFQ szerkezete erősen konzervált a különböző fajok között (ugyanaz a 17 aminosav alkotja emberben, szarvasmarhában, patkányban és egérben), addig a NST emberben 30, szarvasmarhában 17, patkányban és egérben pedig 35 és 41 aminosavból áll, megfelelően. A látszólagosan jelentős fajok közötti eltérés azonban csalóka, ugyanis a különbségért egy 6 aminosavból álló szekvencia különböző mértékű ismétlődése a felelős (egérben háromszor, patkányban kétszer és emberben egyszer), míg a többi aminosav nagyjából megegyezik (Okuda-Ashitaka és Ito 2000).

Az irodalmi adatok zöme a NST antagonistá hatásáról számol be a különböző N/OFQ-hatásokkal szemben. Ezek alapján gátolta a N/OFQ-indukálta hyperalgeziát és allodiniát (Liu és mtsai 2006, Okuda-Ashitaka és mtsai 1998, Scoto és mtsai 2005), a N/OFQ anti-opioid hatását (Scoto és mtsai 2005, Zhao és mtsai 1999), a N/OFQ által fokozott táplálékfelvételt (Olszewski és mtsai 2000) vagy a gátolt memória- és tanulási folyamatokat (Hiramatsu és Inoue 1999a). Elsőre furcsának tűnhet, hogy egy peptid gátolja egy másik, ugyanazon prekursorból származó peptid hatását, az eset azonban nem egyedülálló, elég ha csak a ghrelin és az obestatin kapcsolatára gondolunk. Mindkét peptid ugyanazon prekursorból ered, de különböző receptoron keresztül ellentétes hatást fejtenek ki - egyikük fokozza, másikuk csökkenti a táplálékfelvételt (Zhang és mtsai 2005). A NST sem kötődik a NOP receptorhoz, vagyis funkcionális antagonizmusról van szó (Okuda-Ashitaka és mtsai 1998). Hatását feltehetően egy saját, eddig ismeretlen receptoron keresztül fejt ki, melyet azon megfigyelések is



alátámasztanak, miszerint a NST nagy affinitással és telíthető módon kötődik az agy és gerincvelő membránhoz (Okuda-Ashitaka és mtsai 1998). Annak ellenére azonban, hogy a NST felfedezése óta 10 év telt el, a receptoráról igen keveset tudunk. Nagy valószínűséggel (akárcsak a NOP receptor és az opioid receptorok), a NST receptora is G-protein ( $G_{i/o}$ ) kapcsolt (Fantin és mtsai 2007, Inoue és mtsai 2003).

Számos kutatócsoport számolt be azonban olyan esetekről, amikor a N/OFQ hatása független volt a NST-től. Így például NST előkezelés nem befolyásolta a N/OFQ kardiovaszkuláris hatásait (Habler és mtsai 1999, Shirasaka és mtsai 1999), sem a savszekréciót fokozó hatását (Ishihara és mtsai 2002). Sőt, Xu és mtsai (1999) azt tapasztalták, hogy bár a nagy dózisu N/OFQ flexor reflexet gátló hatását NST antagonizálta, a kis dózisu N/OFQ facilitáló hatását potenciózta. Ezen irodalmi adatokból is kitűnik, hogy a NST jóval több (akár teljesen más?), mint a N/OFQ funkcionális antagonistája.

Emellett szólnak az utóbbi évek azon irodalmi adatai is, melyek a NST saját, agonista hatásairól számolnak be, ezzel megdöntve a peptidről alkotott eredeti elképzeléseinket. Így pl. gátolta a GABAerg és glicinerg neurotranszmissziót a gerincvelő hátsószarvában (Zeilhofer és mtsai 2000) vagy a  $K^+$ -indukálta [ $^3H$ ]5-HT felszabadulást egér és patkány kortikális szinaptoszómákból (Fantin és mtsai 2007). Szintén saját hatásként értelmezhető a scopolamin adását követő memóriaromlás javítása (Hiramatsu és Inoue 1999b) illetve a táplálék-megvonást követő fokozott táplálékfelvétel gátlása is (Olszewski és mtsai 2000), bár ezen esetekben nem zárhatjuk ki azt sem, hogy a NST az endogén N/OFQ esetleges tónusos hatásait gátolta.

A N/OFQ-val ellentétben a NST esetleges gasztrointesztinális hatásairól szinte semmilyen irodalmi adat nem áll rendelkezésünkre. Az egyetlen közlemény Ishihara és munkatársaitól (2002) származik, akik a centrálisan injektált N/OFQ savszekréciót csökkentő hatását próbálták NST-tal antagonizálni, sikertelenül. Emellett a NST önmagában sem befolyásolta a savszekréciót.

#### **1.4. Az $\alpha_2$ -adrenoceptorok**

A doktori értekezésem utolsó nagy témaköre - az eddigiekkel ellentétben - nem a gasztroprotekción, hanem a gasztrointesztinális motilitás befolyásolásával foglalkozik.

A bevezetés elején összefoglaltam a fekélybetegség és gasztrointesztinális vérzések megoldatlan problémáit, ezek mellett azonban egy másik gasztroenterológiai kórkép csoport, a funkcionális gasztrointesztinális zavarok (FGID, mint pl. a funkcionális dyspepsia vagy irritábilis bél szindróma) terápiája is komoly nehézséget jelent. Ezen betegségek etiológiája egyelőre ismeretlen, feltehetően az agy-bél tengely működésének zavara állhat a tünetek (motilitási zavarok és viscerális hyperszenzitivitás) hátterében. Prevalenciájuk igen jelentős, gyógyszeres kezelésük pedig sajnos jelenleg sem megoldott. Egyik lehetőség a prokinetikus szerek alkalmazása ( $D_2$ -receptor antagonisták,  $5HT_3$ -receptor antagonisták,  $5HT_4$ -receptor agonisták, motilin receptor agonisták), melyek a gasztrointesztinális perisztaltika fokozásával, a gyomor ürülésének serkentésével segíthetnek a betegeken. Sajnos ezen szerek nagy részéről a klinikai vizsgálatok kimutatták, hogy a betegek panaszait alig csökkentik jobban a placebónál, némelyik pedig súlyos mellékhatásokat okoz (pl. a cisaprid HERG  $K^+$ -csatornákat gátló hatása következtében arrhythmiákat) (összefoglalóként ld. Karamanolis és Tack 2006, Tack 2008). Másik lehetőség a gyomor fundusának relaxációját előidéző szerek alkalmazása, melyek a gyomor étkezést követő akkomodációját javítják, ezáltal csökkentik a postprandiális teltségérzést. Ezen szerek közé tartoznak az  $\alpha_2$ -receptor agonisták, melyek a fenti hatás mellett csökkentik a viscerális érzékelést és diszkomfort érzést is (Tack és mtsai 2004).

Az  $\alpha_2$ -adrenoceptorok szerepe a gasztrointesztinális rendszer működésének szabályozásában régóta ismert. Az első farmakológiai bizonyíték 1969-ből származik, amikor Paton és Vizi (1969) tengerimalac ileumon kimutatták, hogy noradrenalin (NA) képes presynaptikus  $\alpha_2$ -receptorokon keresztül gátolni az Ach felszabadulását. Nem sokkal később Del Tacca és mtsai (1970) hasonló hatásról számoltak be humán vastagbél taenián, az ezt követő években pedig számos közlemény született, mely a perifériás pre- és posztszinaptikus  $\alpha_2$ -receptorok szerepét vizsgálta a motilitás, gyomorürülés, savszekréció, folyadék- és elektrolit-transzport vagy éppen a mukozális védelem szabályozásában (Blandizzi 2007). Ezenfelül hamarosan az is nyilvánvalóvá vált, hogy a perifériás  $\alpha_2$ -adrenoceptorok mellett a centrális receptorok is részt vesznek a gasztrointesztinális folyamatok szabályozásában (Cheng és mtsai 1981, Fargeas és mtsai 1986).

Már a 80-as évek kezdetén feltételezték, hogy az  $\alpha_2$ -receptorok nem egy egységes receptor populációt képeznek, azóta pedig farmakológiai módszerekkel és molekuláris klónozással három szubtypust sikerült elkülöníteni, nevezetesen az  $\alpha_{2A}$ -,  $\alpha_{2B}$ - és  $\alpha_{2C}$ -szubtypusokat (összefoglalóként ld. Bylund és mtsai 1994, Calzada és De Artinano 2001). Érdeemes megjegyezni, hogy kezdetben egy negyedik  $\alpha_{2D}$ -szubtypust is megkülönböztettek, melyet patkány szubmaxilláris mirigyből izoláltak, a jelenlegi konszenzus szerint azonban ez nem egy tényleges újabb szubtypus, csupán a más fajokban megtalálható  $\alpha_{2A}$ -receptornak a patkánybeli megfelelője.

Számos különbség található a három  $\alpha_2$ -szubtypus között, nem csupán a lokalizációjukat tekintve (így pl a centrális és perifériás neuronokon egyaránt kimutatható mindhárom szubtypus, de a trombocitákban és pancreas  $\beta$ -sejtekben vagy intesztinális epitheliumban csak  $\alpha_{2A}$ -szubtypus található), de a deszenzitizációjuk is eltérő (az  $\alpha_{2A}$ - és  $\alpha_{2B}$ -receptorok gyorsan deszenzitizálódnak, ellenben az  $\alpha_{2C}$  deszenzitizációja lassú), akárcsak a down-regulációjuk ( $\alpha_{2A}$  és  $\alpha_{2B}$  esetében jelentősebb), vagy a subcelluláris lokalizációjuk (az  $\alpha_{2A}$  és  $\alpha_{2B}$  a bazolaterális membránon foglal helyet, az  $\alpha_{2C}$ -receptoroknak azonban közel a fele intracelluláris elhelyezkedésű) (Saunders és Limbird 1999).

Mivel meglehetősen kevés, nagy szelektivitással bíró szubtypus agonista és antagonisták áll rendelkezésünkre, a különböző  $\alpha_2$ -szubtypusok funkcióinak feltérképezése máig sem teljes. A 90-es évek közepén azonban sikerült stabil  $\alpha_2$ -KO egértörzseket létrehozni, mely új lendületet adott a kutatásoknak (Altman és mtsai 1999, Link és mtsai 1995, Link és mtsai 1996).

Ma már tudjuk, hogy az  $\alpha_2$ -receptorok által mediált hatások többségét az  $\alpha_{2A}$ -receptorok mediálják, így a NA- és Ach-felszabadulás gátlását a szimpatikus és paraszimpatikus végkészülékekből, az inzulin-felszabadulás gátlását, valamint az  $\alpha_2$ -agonisták neuroprotektív, analgetikus, szedatív, antiepileptogén és hypothermizáló hatását (összefoglalóként ld. Calzada és De Artinano 2001, Hein 2006, Knaus és mtsai 2007b). Az  $\alpha_2$ -agonisták adását követő hypotonia ugyancsak centrális  $\alpha_{2A}$ -receptorok aktivációján keresztül valósul meg, ellenben a nagyobb dózisok adását követő vérnyomásemelő hatást már perifériás  $\alpha_{2B}$ -receptorok közvetítik (Altman és mtsai 1999, Link és mtsai 1996). Érdekes módon az  $\alpha_{2B}$ -receptorok szerepe ez alapján felmerült az

essentiális hypertonia patogenezisében is (Makaritsis és mtsai 1999). Az  $\alpha_{2B}$ - és  $\alpha_{2C}$ -receptorok azonban egyes fentebb említett hatásokhoz hozzájárulhatnak, hiszen ezen szubtypusok aktivációja is képes például transzmitter-felszabadulás gátlást vagy analgetikus hatást eredményezni (Brede és mtsai 2003, Fairbanks és mtsai 2002). A  $N_2O$  analgetikus hatásáért például  $\alpha_{2B}$ -receptorok aktivációja a felelős (Sawamura és mtsai 2000).

Az  $\alpha_{2C}$ -receptoroknak főleg az idegrendszeri működések szabályozásában van szerepe. Kimutatták, hogy gátolja a szenzoros információk feldolgozását valamint befolyásolja a viselkedési és memória-folyamatokat (Scheinin és mtsai 2001), ezenfelül pedig feltehetően szerepe lehet különböző pszichiátriai megbetegedések, így a skizofrénia, figyelemhiányos hiperaktív zavar (ADHD) vagy poszttraumás stressz zavar patogenezisében (Sallinen és mtsai 1998). A periférián ezen szubtypus mediálja az adrenalin felszabadulás gátlását a mellékvesevelőből (Brede és mtsai 2003) illetve a vénák kontrakcióját (Gavin és mtsai 1997).

#### **1.4.1. $\alpha_2$ -adrenoceptor-mediált gasztrointesztinális hatások**

Az  $\alpha_2$ -agonisták mind perifériás támadásponttal (a kolinerg neuronokból való Ach-felszabadulás gátlása révén), mind centrálisan gátolják a gasztrointesztinális rendszer motorikus tevékenységét. Hatásukra csökken a gyomorürülés (Asai és mtsai 1997a, Cooper és McRitchie 1985, Fulop és mtsai 2005), gátlódnak a gyomorkontrakciók (Fulop és mtsai 2005, James és mtsai 2004b), lassul a gasztrointesztinális tranzit (Asai és mtsai 1997a, Hsu 1982, Tanila és mtsai 1993) és gátlódik a vastagbél motilitása (Umezawa és mtsai 2003). A motilitás és gyomorürülés gátlásában (akárcsak a legtöbb  $\alpha_2$ -indukálta hatás esetében) az  $\alpha_{2A}$ -szubtypus játszik szerepet (Colucci és mtsai 1998, Fulop és mtsai 2005, Liu és Coupar 1997a). Érdeemes azonban megemlíteni, hogy számos olyan közlemény látott napvilágot, melyek eredményei némileg ellentmondanak az eddig elhangzottaknak. A legtöbb kérdés talán a gyomorürülés vonatkozásában merül fel, melyet az  $\alpha_2$ -agonisták sok esetben gyengén, vagy egyáltalán nem befolyásoltak (Asai és mtsai 1997b, Baxter és mtsai 1987, Hsu 1982, Ruwart és mtsai 1980, Tanila és mtsai 1993). Rosa-e-Silva és mtsai (1995) ráadásul azt tapasztalták, hogy clonidin hatására fokozódott a gyomorürülés diabeteses gastroparesisben. Szintén érdekes az a

megfigyelés, hogy bár az  $\alpha_{2A}$ -agonista oxymetazolin gátolta a gyomor motilitását, hatását a nem szelektív  $\alpha_2$ -antagonista yohimbin csak részben volt képes antagonizálni, így az oxymetazolin hatásában egyéb mechanizmusok is felvetődnek (Fulop és mtsai 2005).

Mivel ezen mechanizmusok feltérképezése a későbbiekben új, hatékonyabb fundust relaxáló gyógyszerek kifejlesztéséhez nyújthat segítséget, kísérleteim egyik csoportjában az oxymetazolin hatásait vizsgáltam.

A motilitás szabályozásához hasonlóan a gyomorsav szekrécióját is  $\alpha_{2A}$ -receptorok regulálják - perifériás és centrális aktivációjuk egyaránt csökkenti a savszekréciót (Blandizzi és mtsai 1995, Cheng és mtsai 1981, Kunchandy és mtsai 1985, Mullner és mtsai 2001). A centrális  $\alpha_2$ -agonisták ezen hatásában azonban - ellentétben a motilitást gátló hatásukkal - az endogén opioid rendszer is szerepet játszik, ugyanis a clonidin és oxymetazolin által indukált savszekréció-csökkenést naloxon és naltrindol egyaránt felfüggesztette (Mullner és mtsai 2001).

Az  $\alpha_2$ -agonisták egyaránt gasztroprotektívnak bizonyultak sav-dependens (indometacinos, cold-restraint) illetve sav-független (alkoholos) fekélymodellekben mind perifériás, mind centrális alkalmazás során (al Bekairi és mtsai 1993, Fulop és mtsai 2005, Gyires és mtsai 2000a, Yelken és mtsai 1999). Amíg azonban a motilitás vagy a savszekréció szabályozásában az  $\alpha_{2A}$ -szubtypus vesz részt, a gyomorvédő hatásért feltehetően az  $\alpha_{2B}$ -szubtypus felelős. A kísérletek során ugyanis az  $\alpha_{2A}$ -szubtypus szelektív oxymetazolin nem volt képes az alkohol nyálkahártya-károsító hatását felfüggeszteni, ellenben a nem szelektív  $\alpha_2$ -agonista clonidin védőhatását a szelektív  $\alpha_{2B}$ -antagonista prazosin és ARC-239 egyaránt gátolták (Fulop és mtsai 2005, Gyires és mtsai 2000a). A legújabb irodalmi adatok arra utalnak, hogy a hatást centrális  $\alpha_{2B}$ -receptorok mediálják, a csekély KIR-i penetrációjú  $\alpha_{2B}$ -szelektív agonista ST91 ugyanis perifériás (per os és szubkután) alkalmazás során nem fejtett ki védőhatást, csupán i.c.v. adagolást követően (Gyires és mtsai 2007). Érdeemes továbbá megemlíteni, hogy - akárcsak a savszekréció szabályozásánál - az  $\alpha_2$ -mediálta gyomorvédelemben is részt vesz az endogén opioid rendszer (Fulop és mtsai 2005, Gyires és mtsai 2000a).

### **1.4.2. Az imidazolin-hipotézis**

A hipotézist, miszerint az  $\alpha_2$ -agonisták centrális szimpatoinhibitoros hatásaikat nem adrenoceptorok, hanem imidazolin receptorok aktivációján keresztül fejtik ki, Bousquet és mtsai vetették fel 1984-ben. Alapját az a megfigyelés képezte, hogy az imidazolin-gyűrűvel rendelkező clonidin és rokon vegyületei az  $\alpha_2$ -receptorok mellett ún. imidazolin kötőhelyekhez (IBS, imidazoline binding sites) is kötődnek. A hipotézis rendkívül csábító, hiszen ha igaz, hogy a vegyületek vérnyomáscsökkentő hatásáért más receptorok felelnek, mint a szedációért és szájszárazságért (nevezetesen előbbiért az  $I_1$  receptorok, az utóbbiakért pedig az  $\alpha_2$ -receptorok), akkor csak idő kérdése az előbb említett mellékhatásoktól mentes vérnyomáscsökkentők kifejlesztése. Sajnos az elmúlt közel 25 évben legalább annyi kísérleti eredmény került közlésre ezen hipotézissel szemben, mint amennyi alátámasztja őt (összefoglalóért ld. Szabo 2002). Az egyik legkomolyabb ellenérv Knaus és munkacsoportjának (2007a) a megfigyelése, akik  $\alpha_{2ABC}$ -KO-egereken vizsgálták a clonidin, moxonidin és rilmenidin hatását, és azt tapasztalták, hogy egyik vegyület sem képes hypotonia kiváltására ezen állatokban (vagyis a hatást  $\alpha_2$ -receptorok és nem imidazolin receptorok mediálják).

Az imidazolin receptorok szerepe az  $\alpha_2$ -agonisták egyéb, így pl. gasztrointesztinális hatásaival kapcsolatban is felmerült (Colucci és mtsai 1998, Liu és Coupar 1997b), a kutatást azonban nehezíti, hogy az imidazolin receptorok agonistái és antagonistái nagy affinitással kötődnek az  $\alpha_2$ -receptorokhoz is (Szabo 2002).

## **1.5. Célkitűzések**

Doktori munkám során a következő kérdésekre kerestem a választ:

### **1.5.1. Az endomorfinek**

1.5.1.1. A többi  $\mu$ -opioid receptor agonistákhoz hasonlóan az endomorfinek is rendelkeznek-e gasztroprotektív hatással?

1.5.1.2. Az endogén endomorfín rendszer szerepet játszik-e a mukozális védelem kialakításában?

1.5.1.3. Mely protektív faktorok mediálják az endomorfínok hatását?

### **1.5.2. A nociceptin és nocistatin**

1.5.2.1. A N/OFQ mellett a NST is képes-e gasztroprotekciónak indukálására, és ha igen, ezt a N/OFQ-tól függetlenül teszi-e?

1.5.2.2. Milyen jellegű kapcsolat van a két peptid között ebben a kísérletes modellben?

1.5.2.3. Szerepet játszanak-e az opioid receptorok illetve az endogén opioid rendszer a N/OFQ és NST gasztroprotektív hatásában?

1.5.2.4. Mely perifériás protektív faktorok vesznek részt a N/OFQ- és NST-indukálta gyomorvédelemben?

### **1.5.3. Az $\alpha_2$ - és imidazolin receptorok**

1.5.3.1. A preszinaptikus  $\alpha_{2A}$ -receptorok aktivációján kívül egyéb mechanizmusok is szerepet játszanak-e az oxymetazolin gyomormotilitást gátló hatásában?

1.5.3.2. Szerepet játszanak-e az imidazolin receptorok a gasztrointesztinális motilitás szabályozásában?

## **2. MÓDSZEREK ÉS ALKALMAZOTT VEGYÜLETEK**

### **2.1. Kísérleti állatok**

Az alkoholos fekély kísérletekhez és a gyomor motilitás in vivo méréséhez hím Wistar patkányokat használtam (előbbiekhöz 140-170, utóbbiakhoz 250-350 gramm súlyúakat), az in vitro motilitás kísérletekhez pedig 350-450 gramm súlyú tengeri malacok (TRIK törzs, hímek és nőtények vegyesen) kerültek felhasználásra. Az állatok tartása légkondicionált ( $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), 12 órás megvilágítású állatszobákban történt. Az in vivo kísérleteket megelőzően az állatokat 24 órán keresztül éhezttük, folyadékot azonban szabadon fogyaszthattak. A koprofágia elkerülése céljából az állatokat drótháló alapú ketrecekben tartottuk. A kísérletek a Semmelweis Egyetem Etikai Bizottsága által felállított etikai irányelveknek megfelelően történtek, melyek a Helsinki Deklaráción alapulnak (EC Directive 86/609/EEC). A gyomrok illetve vékonybelek eltávolítása előtt, valamint az in vivo motilitás kísérletek után az állatok leölése humánusan és a szakmai irányelveknek megfelelően történt.

### **2.2. A vegyületek alkalmazásának módjai**

#### **2.2.1. Intracerebroventrikuláris (i.c.v.) adagolás**

A vegyületek i.c.v. injekcióját éber állatokon végeztük Noble és mtsai (1967) leírása alapján. Röviden összefoglalva, az állatok fejét stabilan tartva, a szúrás 4 mm mélységig, a bregmától 1.5 mm-re caudálisan és laterálisan történt egy mikroinjektorhoz csatlakoztatott 27-es tű alkalmazásával. A vegyületek oldatait 10  $\mu\text{l}$ -es volumenben adtam be.

#### **2.2.2. Intraciszternális (i.c.) adagolás**

A vegyületek i.c. injekcióját Ueda és mtsai (1979) módszere alapján végeztem. Az éber állatok fejét finoman előre hajtottam, majd az occipitális csont és az atlasz közötti



bemélyedésben a középvonalban, az occipitális síkhoz viszonyított körülbelül 40 fokos szögben szúrtam. A tű csúcsától 7 mm-re egy szilikon-gyűrű volt rögzítve, mely ütközőként funkcionált, így szabályozva a szúrás mélységét. Az oldatokat 5 µl-es volumenben adtam be.

### **2.2.3. Intravénás (i.v.) adagolás**

A különböző vegyületek i.v. adagolását éber állatokon (alkoholos fekély kísérletek) farokvénán keresztül végeztem, altatott állatokon (motilitás kísérletek) pedig a bal femorális vénán keresztül, mely a kísérletek előtt került kiperparálásra. Előbbi esetben 0.5 ml/100 g, az utóbbi kísérleteknél (ahol egymás után több vegyület beadása történt) pedig 0.1-0.2 ml/100 g volumenben adtam be a vegyületek oldatait.

### **2.2.4. Orális (p. os) és intraperitoneális (i.p.) adagolás**

A vegyületek orális és intraperitoneális adagolását éber állatokon, 0.5 ml/100 g volumenben végeztem.

## **2.3. Bilaterális cervikális vagotómia**

Éter narkózisban az állatok mindkét oldali váguszának cervikális szakaszát kiperparáltam majd átvágtam. Az ál-műtött állatok esetében a vágusz cervikális szakasza izolálva lett a szomszédos képletektől, azonban nem került átvágásra. A műtét végén a nyaki bemetszést összevarrtam. A kísérletekre a vagotómiát követően 2 órával került sor.

## **2.4. Alkoholos fekély-modell**

A vegyületek gastroprotektív hatásának vizsgálata egy sav-független fekély-modell, az alkoholos fekély-modell segítségével történt, melynek alkalmazásakor - ahogy a bevezetőben említettem - egy vegyület védőhatása a mukozális védelem fokozásának az eredménye. 140 - 170 gramm súlyú hím Wistar patkányok 24 órás éhezést követően 0.5

ml savas alkoholt (98 %-os alkohol 200 mmol/ml-es HCl-ben) kaptak per os, majd 1 óra múlva étellel túlaltattuk őket. A gyomrokat eltávolításuk után a nagy görbület mentén felvágtam, majd fiziológias sóval átöblítettem. A mukozális léziók kiértékelése a fekély index kiszámításával történt (Gyires 1990). Röviden összefoglalva, a léziókat hosszúságuk alapján egy 0-tól 4-ig terjedő pontrendszer segítségével osztályoztam - a pontszerű léziók, apró hemorrhágiák 1-es, míg a 2, 3, 4 mm-es fekélyek a hosszúságuknak megfelelő 2-es, 3-as illetve 4-es pontértéket kaptak. 4 mm-nél hosszabb fekélyek esetén a teljes hosszúság fel lett osztva több rövidebb szakaszra, így pl. egy 7 mm-es lézió egy 4-es és egy 3-as pontot kapott. Ezenfelül a léziók vastagságát is figyelembe vettem - a vastagabb fekélyek pontértékei 2x-es szorzót kaptak. Legvégül a különböző fekélyek pontértékeinek összege adta meg az adott gyomor fekély indexét. Az agonisták protektív hatását a százalékos gátlás értékével fejeztem ki. Ez a vegyület gátló hatását jelenti az alkoholos fekélyek kifejlődésére a csak alkoholt kapott kontroll csoporthoz viszonyítva, és a következő képlet alapján került kiszámításra:  $100 - [(A \text{ kezelt csoport fekély indexe} / A \text{ kontroll csoport fekély indexe}) \times 100]$ .

Az agonisták (endomorfínok, N/OFQ, NST) i.c.v. vagy i.c. adagolása 10 perccel az alkohol beadását megelőzően történt, míg az antagonistákat 10 perccel (i.c.v. és i.c.), 20 perccel (i.p.) vagy 1 órával (p. os és i.v.) az agonisták előtt adtam be. (Kivételt képezett az irreverzibilis  $\mu$ -opioid receptor antagonistá  $\beta$ -funaltrexamin, melynek beadására 24 órával a kísérleteket megelőzően került sor.)

## **2.5. A gasztrointesztinális motilitás meghatározása**

### **2.5.1. A gyomor motilitásának mérése in vivo**

A gyomor motorikus tevékenységének meghatározása Lefebvre és mtsai (1992) módszerén alapszik. A kísérleteket 250-350 gramm súlyú hím Wistar patkányokon végeztem. Az állatokat 24 órás éhezést követően uretánnal (1.25 g/kg i.p.) altattam el, majd az állatok tracheájába kanült vezettem a szabad légutak biztosítása érdekében. A vegyületek intravénás (i.v.) adagolását a vena femoralisba vezetett kanülon keresztül végeztem, ezenkívül az állatok vérnyomását is regisztráltam egy arteria carotisba vezetett kanül segítségével. Az állatok gyomrába szájon át egy flexibilis műanyag

csőhöz rögzített gumiballont vezettem le, melynek átmérője körülbelül 10 x 30 mm. A ballon 2 ml 37 fokos vízzel lett feltöltve, ezzel beállítva a kezdeti  $10 \pm 0.5$  cmH<sub>2</sub>O intragasztrikus nyomást. A műanyag cső disztális vége egy nyomásmérő fejen keresztül egy híderősítőhöz és egy Power Lab készülékhez volt csatlakoztatva, mely a gyomor motilitásának számítógépes regisztrációját tette lehetővé a készülék Chart 5 programjának segítségével. A ballon helyzetét a gyomorban minden kísérletet követően ellenőriztem.

A mérések kezdetén egy 15-30 perces ekvilíbrioium periódus került regisztrálásra. A különböző vegyületek hatását mind az alap-, mind a stimulált motilitásra vizsgáltam. A motilitás stimulálása vagy inzulinnal történt (5 NE/állat i.v.), mely hatását centrális mechanizmussal, a vágusz aktivitásának fokozásán keresztül fejté ki, vagy a paraszimpatomimetikum carbachollal (carbamoylcholine chloride, 0.14  $\mu$ mol/kg i.v.), mely perifériás hatásmechanizmussal, a gyomor simaizmain található muszkarinos receptorok aktivációján keresztül hat. A carbachol hatásának beállta után az állatok intravénásan hexamethoniumot (37  $\mu$ mol/kg) is kaptak, mely - mint ganglion-blokkoló vegyület - egyrészt a carbachol nikotinos receptoron kifejtett hatásait antagonizálta, másrészt minden esetleges központi idegrendszeri hatást kiküszöbölt (vagyis ezen kombináció szelektív perifériás muszkarin receptor aktivációt tett lehetővé).

Az  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonisták (clonidin, oxymetazolin) beadása az inzulin injekcióját követően 30-60 perccel, a carbachol-hexamethonium injekcióját követően 10-15 perccel történt, amikor a stimulált kontrakciók stabilá váltak. Az  $\alpha_2$ -antagonistákat 10 perccel az agonistákat követően adtam be.

A kísérletek kiértékelése során 5 perces időintervallumokat jelöltem ki (a vegyületek hatásának beállta és stabilizálódása alapján), mely szakaszokban 3 paramétert határoztam meg: a gyomorkontrakciók amplitúdójának átlagos nagyságát, az amplitúdók összegét (melyet a kontrakciók amplitúdója és frekvenciája határoz meg) valamint az intragasztrikus nyomást. A nyomásértékeket cmH<sub>2</sub>O-ben fejeztem ki. Az intragasztrikus nyomás (vagyis a gyomor tónusa) főleg a gyomorfundus motoros aktivitásának függvénye (Ferreira, Jr. és mtsai 2002), míg a fázikus gyomorkontrakciók, melyek erre rátevédnék, főleg antrális eredetűek. A tónusos intragasztrikus nyomás kiszámítása során a fázisos nyomásgörbe minimum értékei (vagyis a kontrakciók közötti legalacsonyabb nyomásértékek) lettek átlagolva az 5 perces

időintervallumokban (Raybould és mtsai 1989, Shi és mtsai 2003), míg az amplitúdók összegének kiszámítása során az amplitúdók átlagát szoroztam meg az 5 perc alatti kontrakciók számával (Kihara és mtsai 2001).

### **2.5.2. Tengeri malac vékonybél motilitásának mérése in vitro**

350-450 gramm súlyú, hím és nőstény tengeri malacok (TRIK törzs) vékonybélét (jejunum és ileum) eltávolítottam, majd (tartalmuk kiöblítését követően) szobahőmérsékletű oxigenizált (95 % O<sub>2</sub> és 5 % CO<sub>2</sub>) Tyrode-oldatba helyeztem (Shahbazian és mtsai 2001). A Tyrode oldat összetétele a következő volt (mM): NaCl 136.9, KCl 2.7, CaCl<sub>2</sub> 1.8, MgCl<sub>2</sub> 1.0, NaHCO<sub>3</sub> 11.9, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.4 és glukóz 5.6. A vékonybeleket 8, egyenként 10 cm-es szakaszra vágtam, melyek aztán 30 ml-es, 37 fokos Tyrode-oldatot tartalmazó szervfürdőkbe kerültek. A mérések kezdetén a bélszegmensek 30 percig álltak a szervfürdőkben ekvilíbrioium céljából, majd a propulzív perisztaltika kiváltása céljából a bélszegmensek lumenébe előmelegített Tyrode-oldatot infundáltam 0.5 ml/perces sebességgel (Shahbazian és mtsai 2001). A szegmensek aborális végén uralkodó nyomást egy nyomásmérő fej érzékelte, mely híderősítőn keresztül egy Peristal 1.0 szoftverrel ellátott számítógéphez volt csatlakoztatva (Heinemann és mtsai 1999). A szegmenseken átáramló folyadék kivezetőcsöve 4 cm-rel a szervfürdők vízszintje fölött található, így a szegmensekben a Tyrode-oldat beáramlása folyamatos nyomásemelkedést okozott, mely egy küszöb értéket elérve (PPT - peristaltic pressure threshold) kiváltotta a perisztaltikus kontrakciót.

Az alapkontrakciók 30 perces regisztrálását követően a különböző vegyületek oldatait a szegmensek serosális felszíne közelébe injektáltam, az oldatok volumene a szervfürdő folyadéktartalmának 1 %-ában (300 µl) lett maximalizálva. Az agonisták különböző koncentrációit kumulatív módon, 15 perces időközökben adtam be. Ezen idő elég volt ahhoz, hogy a vegyületek maximális hatásukat kifejtsék, azonban kevés ahhoz, hogy hatásuk csökkenni kezdjen a következő koncentráció beadása előtt. Az antagonisták beadására az agonisták kumulatív koncentráció-hatás görbéjének megkezdése előtt 15 perccel került sor.

A kísérletek során az intraluminális nyomás (IP, mely a kontrakciókat követő minimális nyomásértékekkel azonos, és a bélszakasz kiürülési képességével korrelál) (Shahbazian

és mtsai 2001) illetve a kontrakciók kiváltásához szükséges nyomásérték (PPT) került kiértékelésre, az értékeket cmH<sub>2</sub>O-ben adtam meg.

A perisztaltikus tevékenység csökkenését az emelkedő PPT és IP jelezte, a motilitás teljes hiánya esetén pedig nem alakultak ki kontrakciók akkor sem, amikor a lumenben a nyomás elérte a 4 cmH<sub>2</sub>O-t (400 Pa, a kivezető cső pozíciójából fakadó maximális nyomásérték). A koncentráció-hatás görbék az átlag nyomásértékekre lettek illesztve az alábbi képlet szerint (4 paraméteres Hill-egyenlet):  $P = P_{\min} + [(P_{\max} - P_{\min}) \times X^{nH} / IC_{50}^{nH} + X^{nH}]$ , ahol P a nyomásérték, X az agonista koncentrációja nmol-ban, nH a Hill-koefficiens, IC<sub>50</sub> pedig a maximális gátló hatás 50%-át kiváltó koncentráció.

## **2.6. Alkalmazott vegyületek**

Doktori munkám során az alábbi vegyületeket alkalmaztam.

### **2.6.1. Az opioid rendszeren ható vegyületek**

Endomorfín-1 és endomorfín-2 (Szegedi Biológiai Kutatóközpont Biokémiai Intézete), endomorfín-1 és endomorfín-2 antiszérumok (Barna István, MTA), diprotin A (DPP IV inhibitor, ELTE/MTA Peptidkémiai Kutatócsoport), naloxon (nem szelektív opioid receptor antagonist, Sigma),  $\beta$ -funaltrexamin (szelektív  $\mu$ -opioid receptor antagonist, Tocris), naltrindol (szelektív  $\delta$ -opioid receptor antagonist, Sigma) és norbinaltorphimin (norBNI, szelektív  $\kappa$ -opioid receptor antagonist, Sigma).

### **2.6.2. A nociceptin/nocistatin rendszeren ható vegyületek**

Nociceptin/OFQ (N/OFQ, Sigma), nocistatin (NST, Tocris) és J-113397 (1-{{(3R,4R)-1-cyclooctylmethyl-3-hydroxymethyl-4-piperidyl}}-3-ethyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one, NOP receptor antagonist, Tocris).

### **2.6.3. Az $\alpha_2$ -adrenoceptorok illetve imidazolin receptorokon ható vegyületek**

Clonidin (nem szelektív  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonista, Sigma), oxymetazolin (szelektív  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor agonista, RBI Natick), yohimbin (nem szelektív  $\alpha_2$ -adrenoceptor antagonist, Sigma), BRL 44408 (szelektív  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor antagonist, Tocris), prazosin ( $\alpha_1$ - és  $\alpha_{2B}$ -adrenoceptor antagonist, Sigma), rilmenidin ( $I_1$  receptor agonista, Sigma) és efaroxan ( $I_1$  receptor antagonist, Sigma).

### **2.6.4. Egyéb vegyületek**

Propranolol (nem-szelektív  $\beta$ -adrenoceptor antagonist, Sigma),  $N^G$ -nitro-L-arginin (L-NNA, nem-szelektív NOS szintáz inhibitor, Sigma), indometacin (nem-szelektív COX-gátló, Sigma), atropin (muszkarinos Ach-receptor antagonist, Sigma), CGRP<sub>8-37</sub> (CGRP<sub>1</sub>-receptor antagonist, Sigma), carbachol (carbamoylcholine chloride, muszkarinos- és nikotinos Ach-receptor agonista, Sigma), hexamethonium (ganglion-blokkoló, Sigma), humán inzulin (rDNS, Actrapid Penfill, Novo Nordisk), uretán (Sigma).

### **2.6.5. A vegyületek oldása**

A vegyületek fiziológiás sóoldatban lettek hígítva, kivételt képezett a J-113397 és a CGRP<sub>8-37</sub>, melyek törzsoldata DMSO-ban, illetve a diprotin A, amely Tween-ben lett oldva, valamint az indometacin, melyet az állatok per os kaptak 1%-os metilcellulózban szuszpendálva. A kontroll állatok a megfelelő oldószert kapták.

## **2.7. Statisztikai analízis**

A kísérleti eredményekben bemutatott értékek az átlagoknak felelnek meg és az átlag szórásával (standard error of mean, S.E.M.) együtt kerültek feltüntetésre. A statisztikai analízis ANOVA módszerrel (Newman-Keuls post hoc teszttel), vagy Student féle egymintás és kétmintás T-teszttel történt. Szignifikáns eltérésnek a  $p < 0.05$ -t tekintetem.

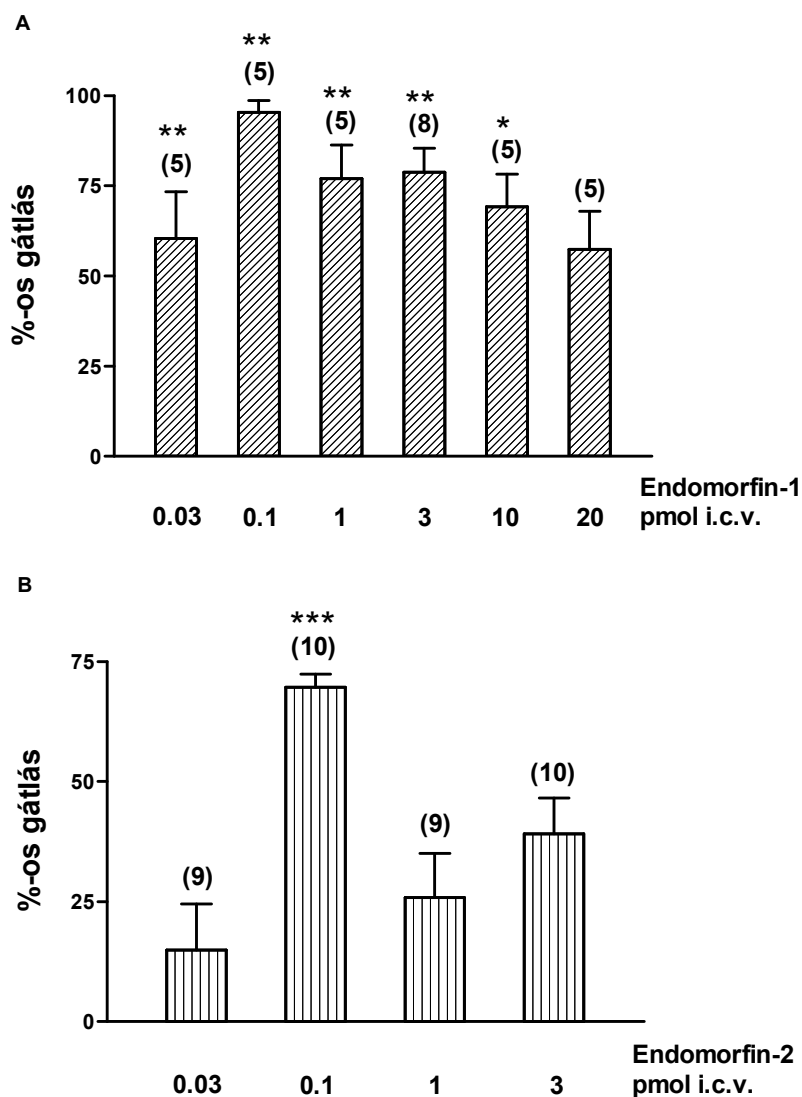
### 3. EREDMÉNYEK

#### 3.1. Az endomorfinek

##### 3.1.1. Az endomorfinek gasztroprotektív hatásának vizsgálata

###### 3.1.1.1. Az endomorfinek-1 és -2 gasztroprotektív hatása i.c.v. adagolás során

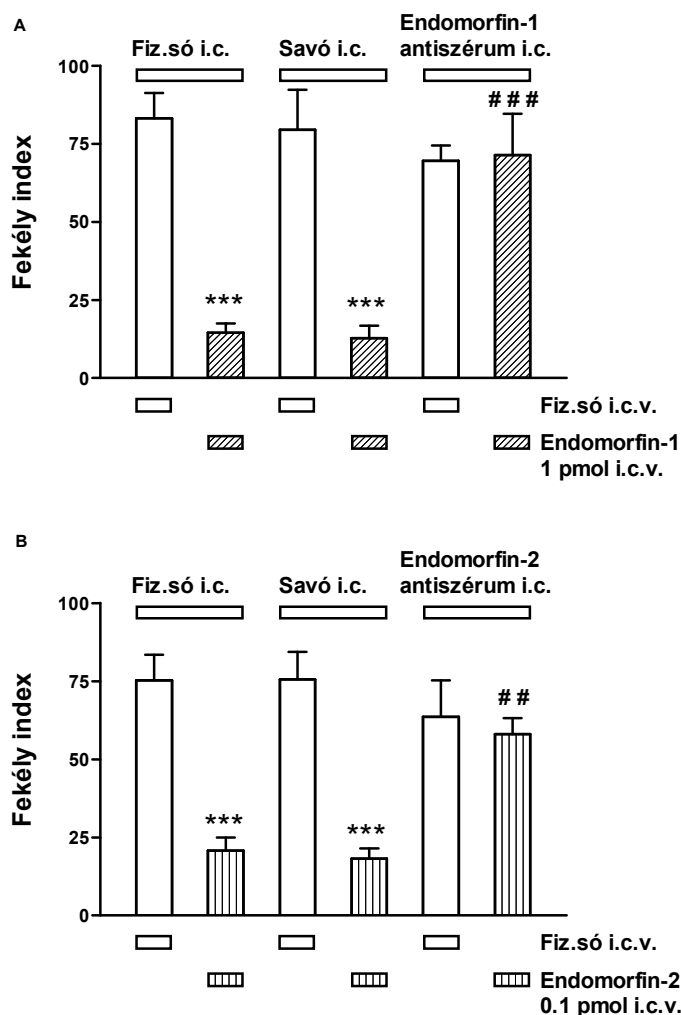
Mind az endomorfinek-1 (0.03 - 20 pmol), mind az endomorfinek-2 (0.03 - 3 pmol) dózisfüggően gátolta az alkoholos fekélyek kialakulását intracerebroventrikuláris adagolás során (1. ábra). Mindkét peptid esetében harangalakú dózis-hatás görbe figyelhető meg, nagyobb dózisoknál a védőhatás szignifikánsan csökkent.



1. ábra. Az endomorfín-1 (0.03 - 20 pmol i.c.v., 1A) és endomorfín-2 (0.03 - 3 pmol i.c.v., 1B) gátló hatása az alkoholos fekélyek kialakulására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. Az oszlopok feletti zárójelekben az állatok száma látható. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt).

### **3.1.1.2. Az endomorfín-1 és endomorfín-2 antiszérumok hatása az endomorfínek gasztroprotektív hatására**

Az endomorfín-1 (1 pmol i.c.v.) 82%-os, az endomorfín-2 (0.1 pmol i.c.v.) 72%-os gátló hatást fejtett ki az alkoholos fekélyekre. Mindkét peptid hatását felfüggesztette a megfelelő antiszérummal történő intraciszternális előkezelés. Sem az antiszérumok, sem a nyúlsavó önmagában adva nem befolyásolták az alkoholos léziók kialakulását (2. ábra).

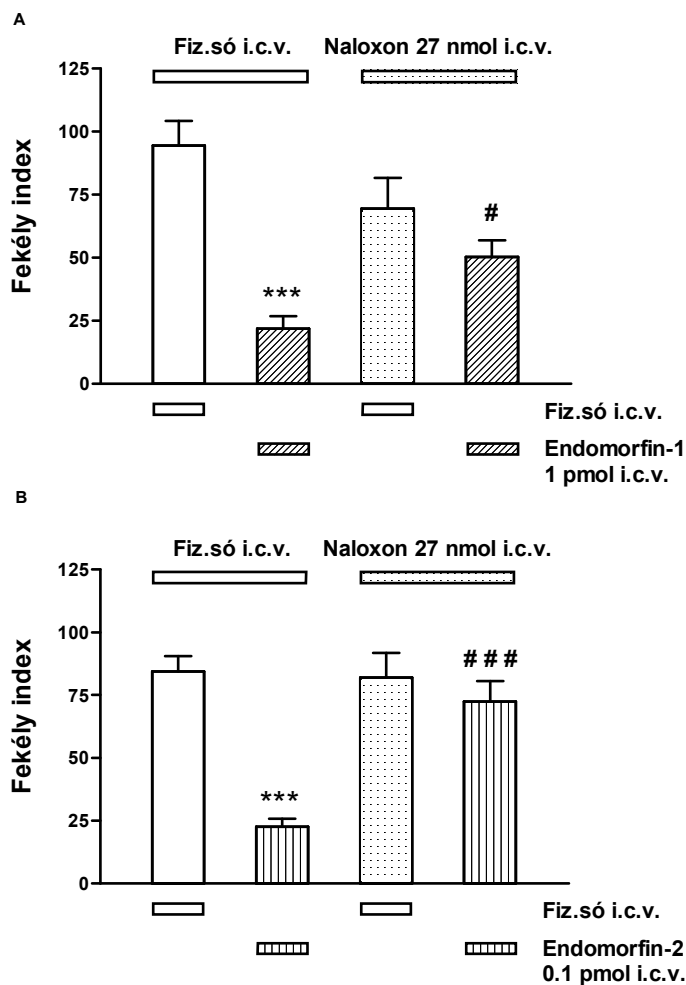




2. ábra. Az endomorfín-1 antiszérum (i.c., 2A) és endomorfín-2-antiszérum (i.c., 2B) gátló hatása az endomorfín-1 (1 pmol i.c.v.) és endomorfín-2 (0.1 pmol i.c.v.) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*\*\* $p < 0.001$  a megfelelő kontroll csoportokhoz képest (1. és 3. oszlop), ## $p < 0.01$ , ### $p < 0.001$  a fiziológiás só/savó + endomorfín-1 vagy endomorfín-2 kezelt csoportokhoz képest (2. és 4. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

### 3.1.1.3. A naloxon hatása az endomorfínok gasztroprotektív hatására

Az endomorfín-1 (1 pmol i.c.v.) 77%-os, az endomorfín-2 (0.1 pmol i.c.v.) 73%-os gátlást fejtett ki az alkoholos fekélyek kialakulására. A nem szelektív opioid-receptor antagonistá naloxonnal (27 nmol i.c.v.) történő előkezelés nem befolyásolta az alkohol okozta léziók súlyosságát, azonban felfüggesztette a két endomorfín hatását (3. ábra).

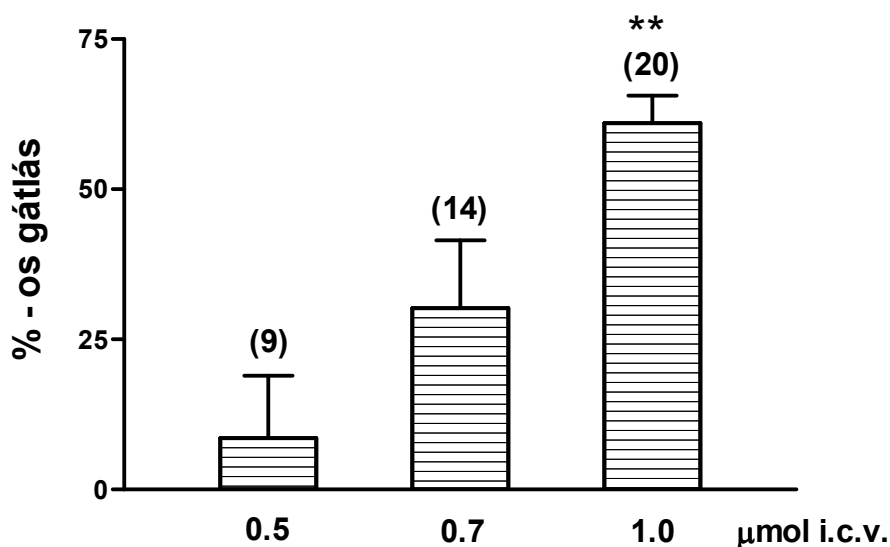


3. ábra. A naloxon (27 nmol i.c.v.) gátló hatása az endomorfín-1 (1 pmol i.c.v., 3A) és endomorfín-2 (0.1 pmol i.c.v., 3B) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*\*\* $p < 0.001$  a fiziológiás sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), # $p < 0.05$ , #### $p < 0.001$  a fiziológiás só + endomorfín-1 vagy endomorfín-2 kezelt csoportokhoz képest (2. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

### **3.1.2. Az endogén endomorfín rendszer szerepének vizsgálata**

#### **3.1.2.1. A diprotin A gasztroprotektív hatása**

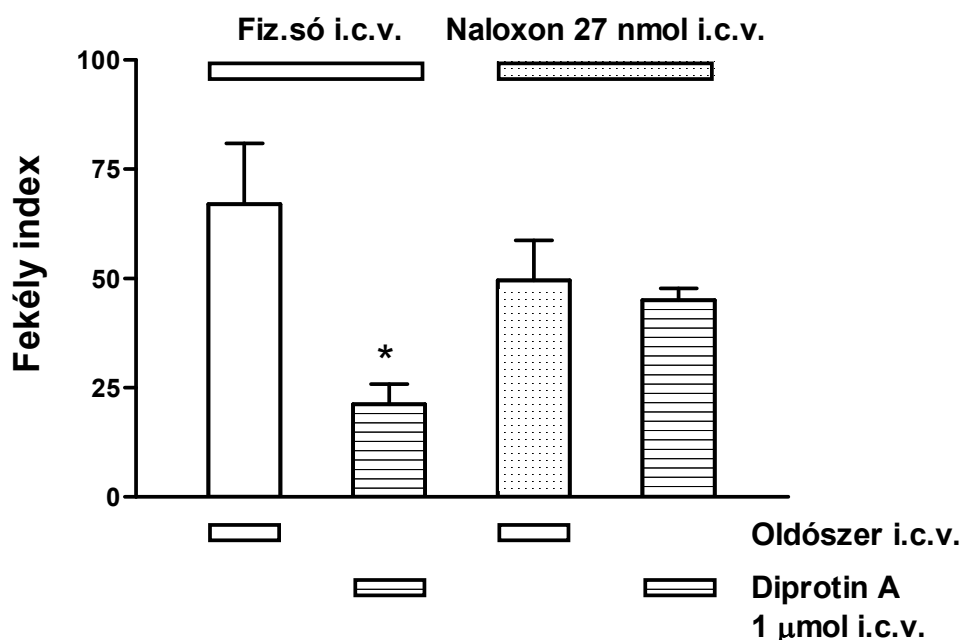
Az endomorfínok lebontásáért felelős dipeptidyl peptidase IV (DPP IV) inhibitora, a diprotin A (0.5-1  $\mu\text{mol}$ ) dózisfüggően gátolta az alkoholos fekélyek kialakulását intracerebroventrikuláris adagolás során, 1  $\mu\text{mol}$ -os dózisban 61%-os gátlást fejtett ki (4. ábra). Az  $\text{ED}_{50}$  értéke 0.9  $\mu\text{mol}$ .



4. ábra. A diprotin A (0.5 - 1  $\mu\text{mol}$  i.c.v.) gátló hatása az alkoholos fekélyek kialakulására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. Az oszlopok feletti zárójelben az állatok száma látható. \*\* $p < 0.01$  (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt).

### 3.1.2.2. A naloxon hatása a diprotin A gasztroprotektív hatására

A diprotin A (1  $\mu\text{mol}$  i.c.v.) 68%-os gátlást fejtett ki az alkoholos fekélyek kialakulására. Naloxonnal (27 nmol i.c.v.) történő előkezelést követően a diprotin A védőhatása megszűnt, ui. a naloxonnal kezelt csoport, illetve a naloxon + diprotinnal kezelt csoport fekély indexe azonosnak bizonyult (5. ábra). Ebben a kísérletben azonban a naloxon is kis mértékű, nem szignifikáns csökkenést okozott a fekély index értékben, ez indokolhatja, hogy a 2. és 4. oszlop (a diprotin A-val kezelt, illetve a naloxon + diprotin A-val kezelt csoport) értékei nem különböznek szignifikánsan egymástól.



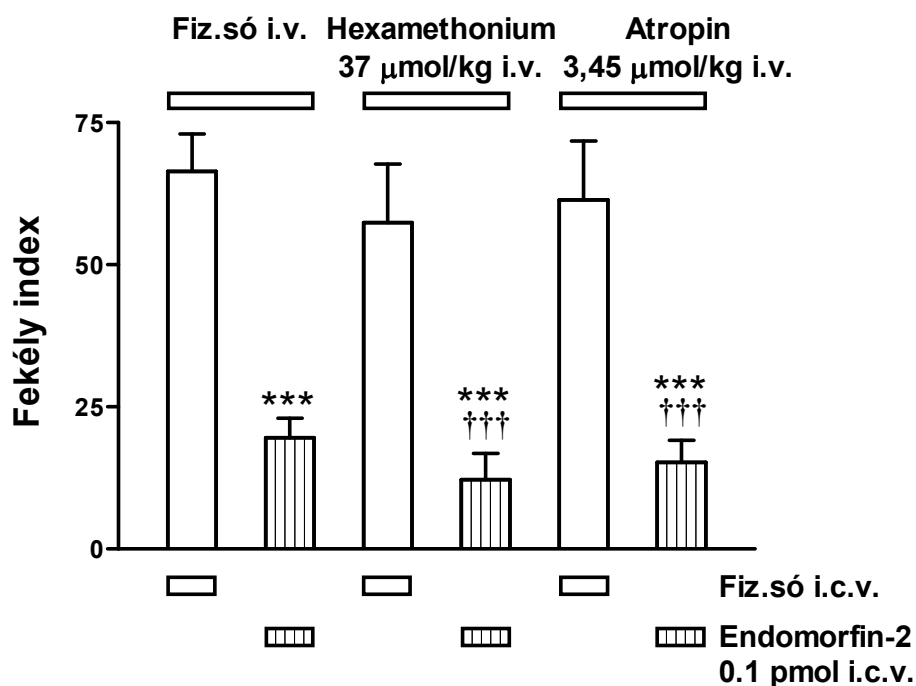
5. ábra. A naloxon (27 nmol i.c.v.) hatása a diprotin A (1  $\mu\text{mol}$  i.c.v.) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*  $p < 0.05$  a fiziológias sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

### 3.1.3. Az endomorfinek hatásának mediálásában szerepet játszó perifériás faktorok vizsgálata

Ezen kísérletek során csak az endomorfín-2-t használtam (feltételezve, hogy a két endomorfín centrális protektív hatását ugyanazon faktorok mediálják a periférián) és a maximális védőhatást kifejtő 0.1 pmol-os dózisban került alkalmazásra.

#### 3.1.3.1. A hexamethonium és atropin hatása az endomorfín-2 gasztroprotektív hatására

A ganglion-blokkoló hexamethoniummal (37  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) történő előkezelés nem befolyásolta az endomorfín-2 (0.1 pmol i.c.v.) gyomorvédő (70%-osan gátló) hatását. Ugyancsak hatástalannak bizonyult a muszkarinos Ach-receptor antagonistá atropin (3,45  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.). Sem az atropin, sem a hexamethonium nem befolyásolta önmagában az alkoholos lézió kialakulását (6. ábra).

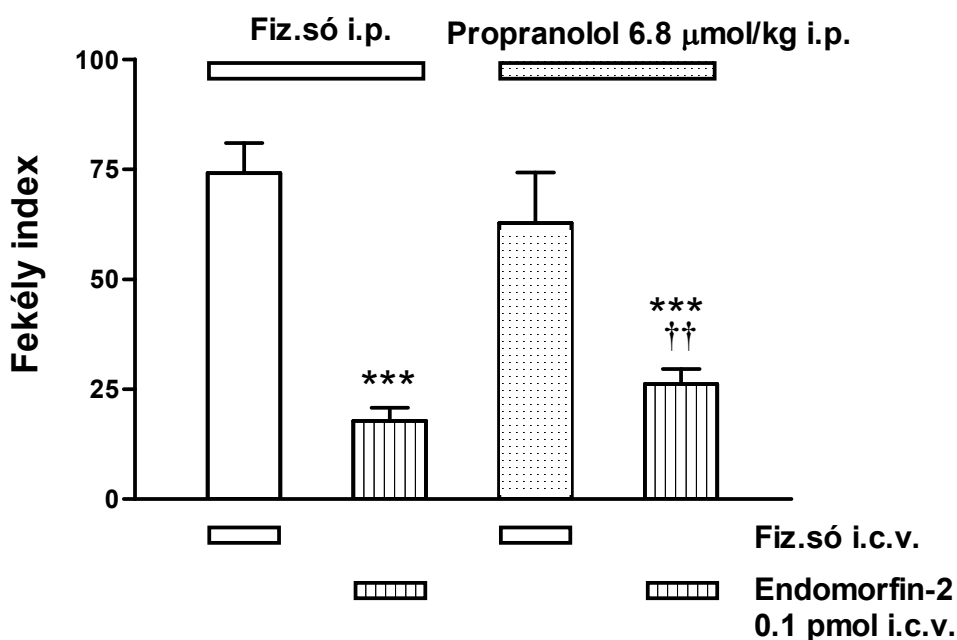


6. ábra. A hexamethonium (37  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) és az atropin (3,45  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) hatása az endomorfín-2 (0.1 pmol i.c.v.) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során

kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*\*\* $p < 0.001$  a fiziológias sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), ††† $p < 0.001$  a megfelelő kontroll csoportokhoz (hexamethonium- illetve atropin-kezelt állatokhoz) képest (3. és 5. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

### **3.1.3.2. A propranolol hatása az endomorfin-2 gasztroprotektív hatására**

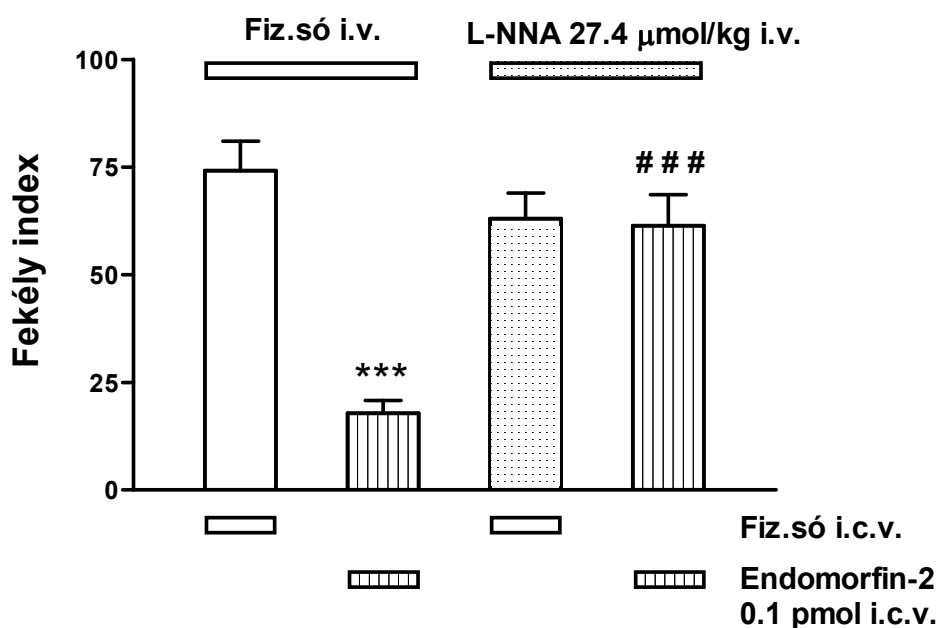
A  $\beta$ -adrenoceptor antagonistá propranolol ( $6.8 \mu\text{mol/kg i.p.}$ ) nem befolyásolta sem az alkoholos léziók kialakulását, sem az endomorfin-2 ( $0.1 \text{ pmol i.c.v.}$ ) protektív (76%-os gátlást kifejtő) hatását (7. ábra).



7. ábra. A propranolol ( $6.8 \mu\text{mol/kg i.p.}$ ) hatása az endomorfin-2 ( $0.1 \text{ pmol i.c.v.}$ ) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*\*\* $p < 0.001$  a fiziológias sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), †† $p < 0.01$  a propranolollal kezelt csoporthoz képest (3. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

### 3.1.3.3. Az N<sup>G</sup>-nitro-L-arginin hatása az endomorfín-2 gasztroprotektív hatására

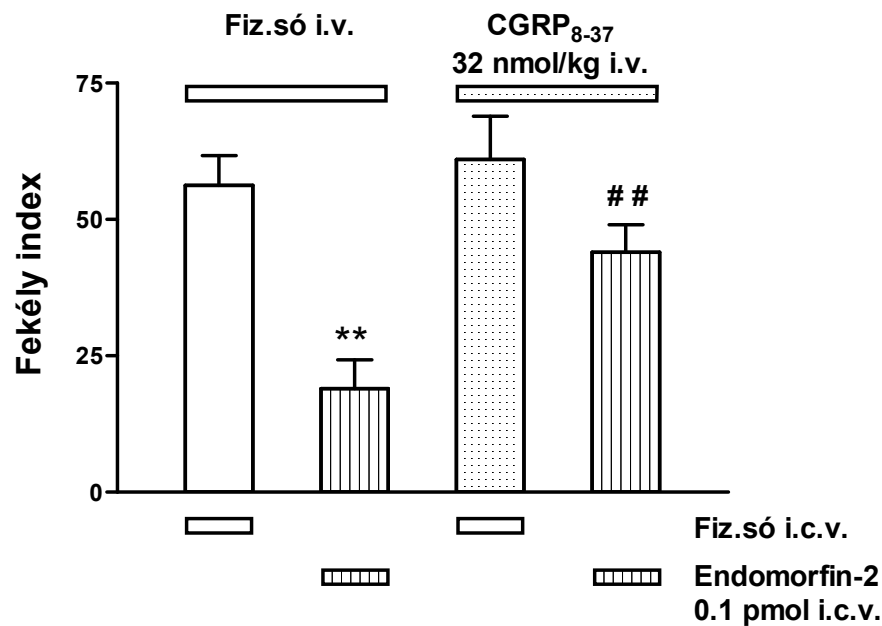
A nem szelektív nitrogén monoxid szintáz (NOS) inhibitor N<sup>G</sup>-nitro-L-arginin (L-NNA, 27.4 μmol/kg i.v.) önmagában nem befolyásolta az alkoholos léziók kialakulását, azonban felfüggesztette az endomorfín-2 (0.1 pmol i.c.v.) protektív (76%-os gátlást kifejtő) hatását (8. ábra).



8. ábra. Az N<sup>G</sup>-nitro-L-arginin (L-NNA, 27.4 μmol/kg i.v.) hatása az endomorfín-2 (0.1 pmol i.c.v.) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*\*\*p<0.001 a fiziológiás sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), ###p<0.001 a fiziológiás só + endomorfín-2-kezelt csoporthoz képest (2. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt, n=5).

### 3.1.3.4. A CGRP<sub>8-37</sub> hatása az endomorfín-2 gasztroprotektív hatására

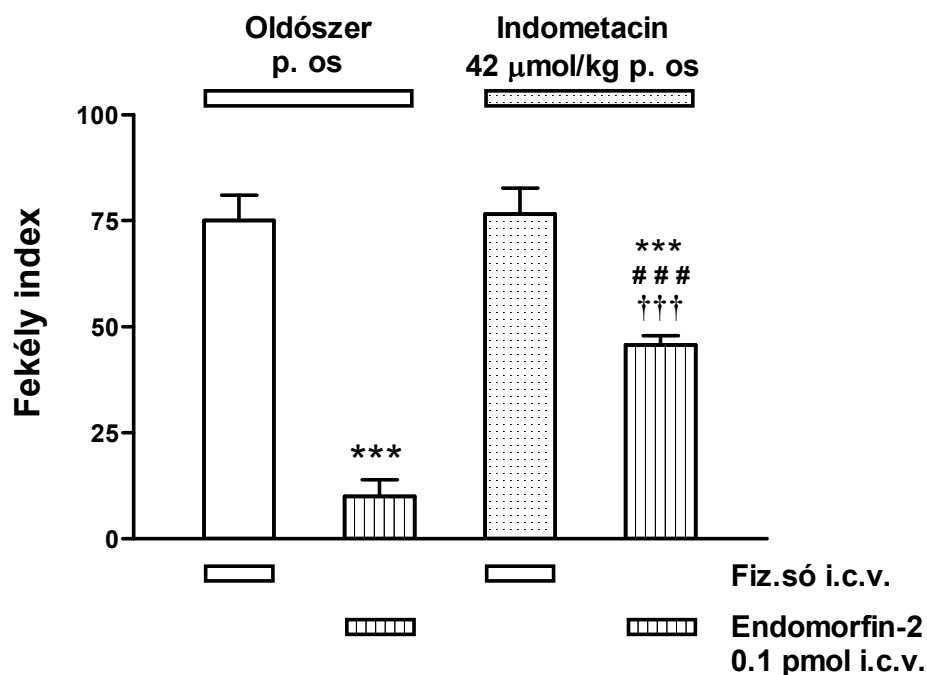
A CGRP<sub>1</sub>-receptor antagonist CGRP<sub>8-37</sub> (32 nmol/kg i.v.) nem befolyásolta az alkoholos léziók kialakulását, azonban felfüggesztette az endomorfín-2 (0.1 pmol i.c.v.) gyomorvédő (66%-os gátlást okozó) hatását (9. ábra).



9. ábra. A CGRP<sub>8-37</sub> (32 nmol/kg i.v.) hatása az endomorfín-2 (0.1 pmol i.c.v.) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*\* $p < 0.01$  a fiziológiás sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), ## $p < 0.01$  a fiziológiás só + endomorfín-2-kezelt csoporthoz képest (2. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

### **3.1.3.5. Az indometacin hatása az endomorfín-2 gasztroprotektív hatására**

A prosztaglandinok szintéziséért felelős COX enzimek gátlása indometacinnal (42  $\mu\text{mol/kg p. os}$ ) szignifikáns csökkenést okozott az endomorfín-2 (0.1 pmol i.c.v.) gyomorvédő (87%-os gátlást okozó) hatásában, de nem függesztette fel teljesen. (10. ábra). Az indometacin önmagában (bár ulcerogén dózisban került beadásra) nem okozott makroszkópos lézokat, azok kifejlődéséhez ugyanis hosszabb időre (3-4 órára) van szükség.



10. ábra. Az indometacin (42 µmol/kg p. os) hatása az endomorfín-2 (0.1 pmol i.c.v.) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*\*\* $p < 0.001$  a fiziológiás sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), ### $p < 0.001$  a fiziológiás só + endomorfín-2-kezelt csoporthoz képest (2. oszlop), ††† $p < 0.001$  az indometacinnal kezelt csoporthoz képest (3. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

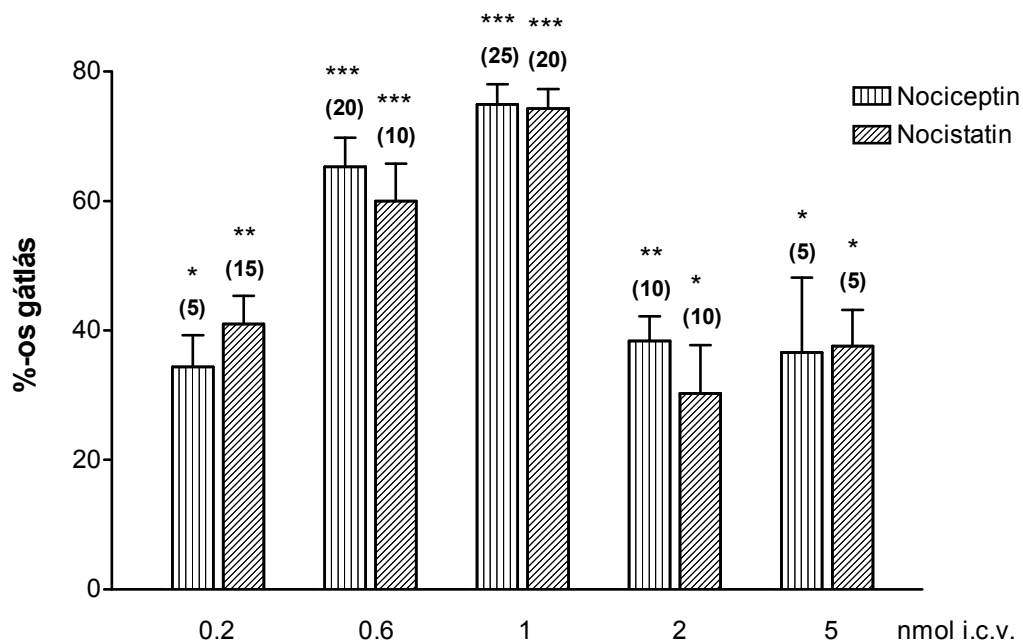
## **3.2. A nociceptin és nocistatin**

### **3.2.1. A nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatásának vizsgálata**

#### **3.2.1.1. A nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatása i.c.v. adagolás során**

Mind a nociceptin (0.2-5 nmol), mind a nocistatin (0.2-5 nmol) dóziszfüggően, közel azonos hatékonysággal és hatáserősséggel gátolta az alkoholos fekélyek kialakulását intracerebroventrikuláris adagolás során. A maximális gátló hatás 75% a nociceptin és 74% a nocistatin esetében, az ED<sub>50</sub> értékek (95%-os konfidencia intervallumokkal) 0.36 (0.16-0.80) és 0.32 (0.12-0.90) nmol. Nagyobb dózisoknál (2-5 nmol) a védőhatás szignifikánsan csökkent, a dózis-hatás görbe harangalakú (11. ábra).

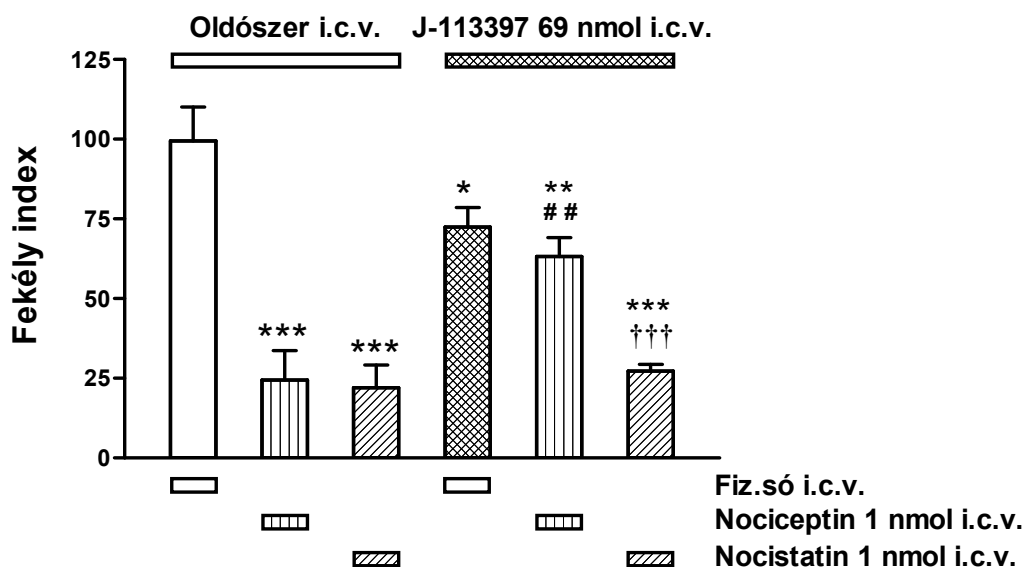




11. ábra. A nociceptin (N/OFQ, 0.2-5 nmol i.c.v.) és nocistatin (NST, 0.2-5 nmol i.c.v.) gátló hatása az alkoholos fekélyek kialakulására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. Az oszlopok feletti zárójelekben az állatok száma látható. \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001 (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt).

### **3.2.1.2. A J-113397 hatása nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására**

A szelektív kompetitív NOP receptor antagonist J-113397 (69 nmol i.c.v.) enyhe, de szignifikáns (27%-os) csökkenést okozott az alkoholos fekélyek kialakulásában. J-113397 előkezelés felfüggesztette a nociceptin (1 nmol i.c.v.) gasztroprotektív hatását, azonban nem befolyásolta a nocistatinét (1 nmol i.c.v.) (12. ábra).

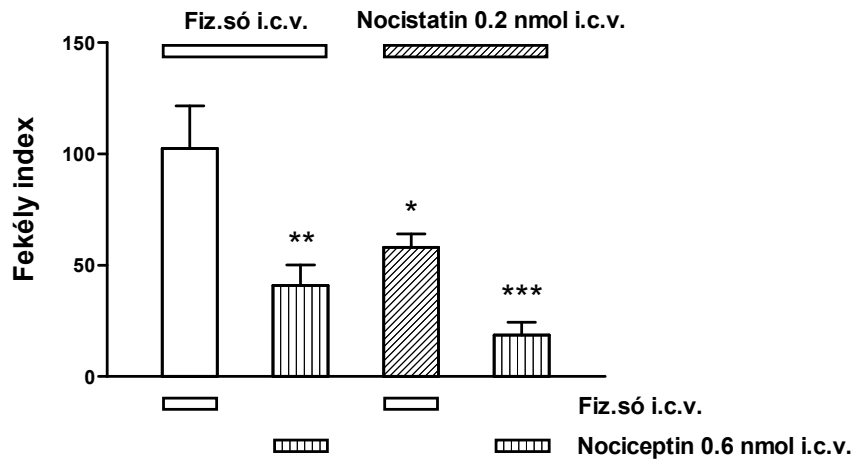


12. ábra. A J-113397 (69 nmol i.c.v.) hatása a nociceptin (1 nmol i.c.v.) és nocistatin (1 nmol i.c.v.) gastroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  az oldószerrel kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), ## $p < 0.01$  az oldószer + nociceptin-kezelt csoporthoz képest (2. oszlop), ††† $p < 0.001$  a J-113397-kezelt csoporthoz képest (4. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

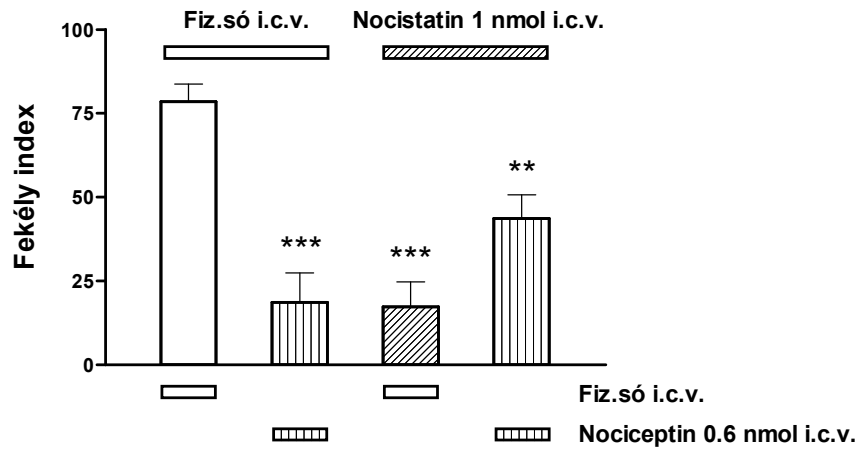
### 3.2.2. A nociceptin és nocistatin közötti interakció

A nocistatin és nociceptin közötti interakciót szemlélteti a 13. ábra. A nocistatin kis dóziséval (0.2 nmol) történő előkezelést követően (mely önmagában 43%-os gátlást eredményezett), a nociceptin (0.6 nmol) hatása fokozódott: 60%-os gátló hatása 82%-ra emelkedett, bár ez statisztikailag nem volt szignifikáns (13A. ábra). Ezzel szemben nagyobb dózisú nocistatin (1 nmol, 78%-os gátló hatás) alkalmazása a nociceptin előtt (0.6 és 1 nmol, 76%-os és 81%-os gátló hatás) nem hatásfokozódást, éppen ellenkezőleg, jelentős hatáscsökkenést eredményezett (13B, 13C. ábra).

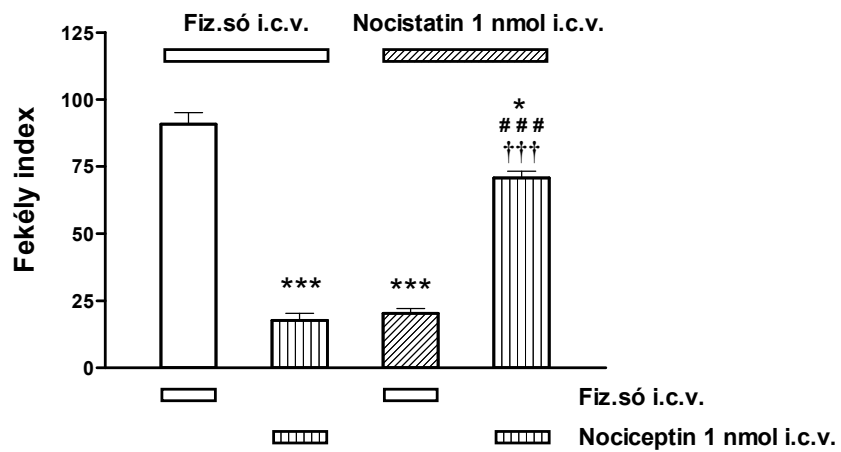
A



B



C

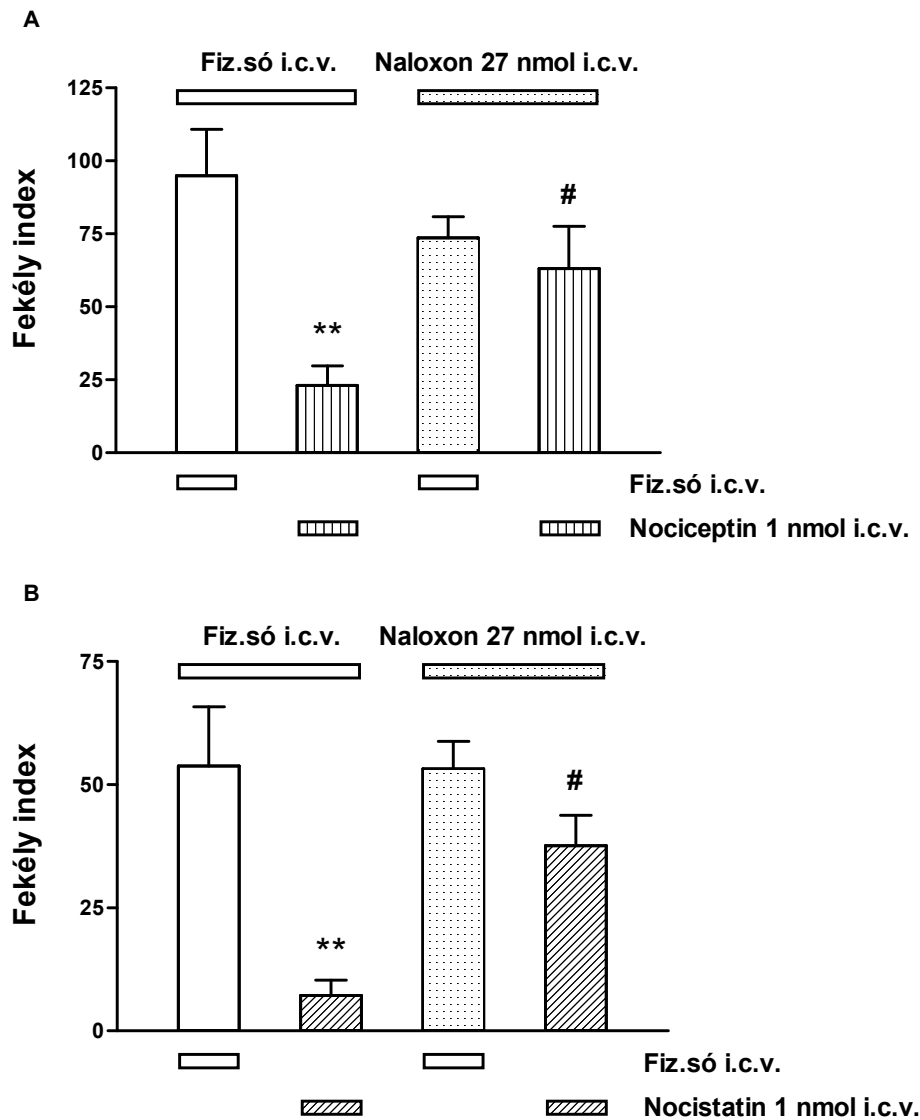


13. ábra. A nocistatin (0.2 és 1 nmol i.c.v.) hatása a nociceptin (0.6 és 1 nmol i.c.v.) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  a fiziológiás sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), #### $p < 0.001$  a fiziológiás só + nociceptin-kezelt csoporthoz képest (2. oszlop), ††† $p < 0.001$  a fiziológiás só + nocistatin-kezelt csoporthoz képest (3. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

### **3.2.3. Az opioid antagonisták hatása a nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására**

#### **3.2.3.1. A naloxon hatása nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására**

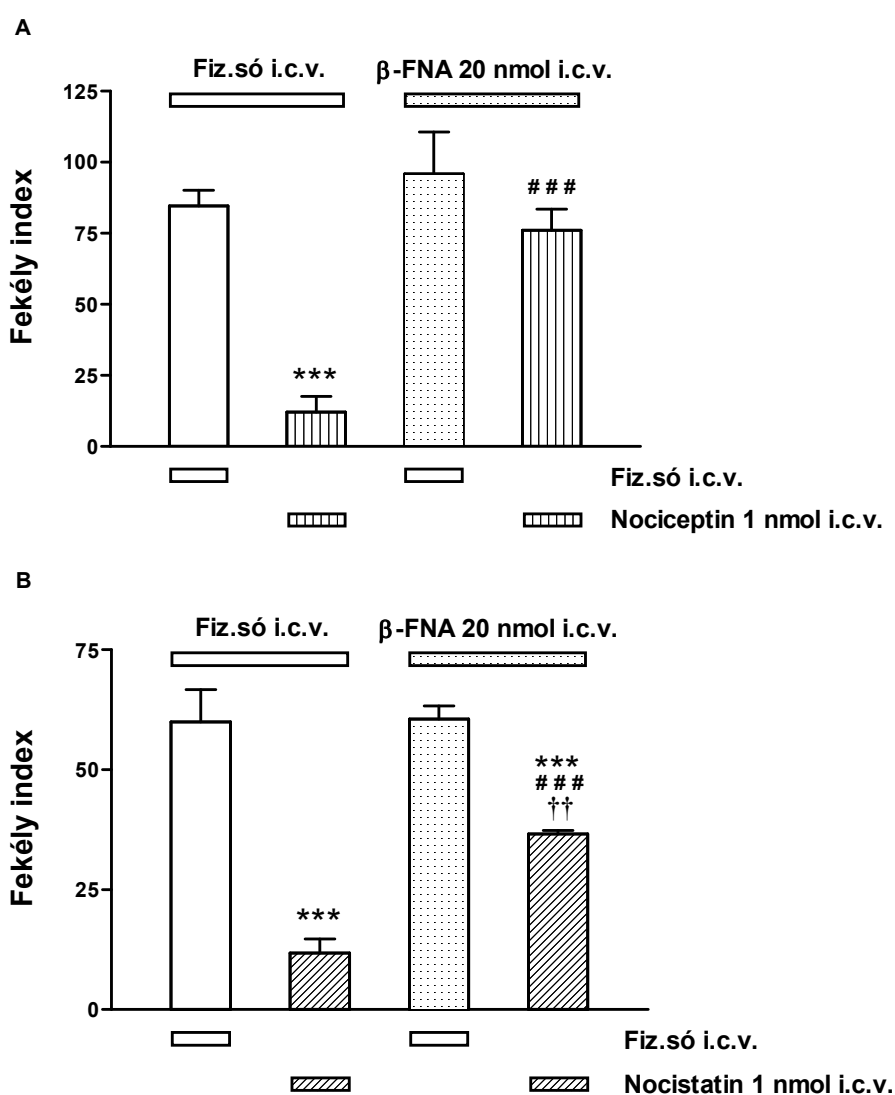
A nociceptin (1 nmol i.c.v.) 76%-os, a nocistatin (1 nmol i.c.v.) 86%-os gátlást fejtett ki az alkoholos fekélyek kialakulására. A nem szelektív opioid-receptor antagonistá naloxonnal (27 nmol i.c.v.) történő előkezelés nem befolyásolta az alkohol okozta léziók súlyosságát, azonban felfüggesztette mindkét peptid védőhatását (14. ábra).



14. ábra. A naloxon (27 nmol i.c.v.) hatása a nociceptin (1 nmol i.c.v.) és nocistatin (1 nmol i.c.v.) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*\* $p < 0.01$  a fiziológiás sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), # $p < 0.05$  a fiziológiás só + nociceptin-kezelt (2. oszlop, 14A) vagy a fiziológiás só + nocistatin-kezelt (2. oszlop, 14B) csoporthoz képest (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

### 3.2.3.2. A $\beta$ -funaltrexamin ( $\beta$ -FNA) hatása nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására

A nociceptin (1 nmol i.c.v.) 86%-os, a nocistatin (1 nmol i.c.v.) 80%-os gátlást fejtett ki az alkoholos fekélyek kialakulására. A szelektív irreverzibilis  $\mu$ -opioid-receptor antagonistá  $\beta$ -funaltrexamin (20 nmol i.c.v.) nem befolyásolta az alkohol okozta léziók súlyosságát, azonban felfüggesztette a nociceptin, és szignifikánsan csökkentette a nocistatin védőhatását (15. ábra).

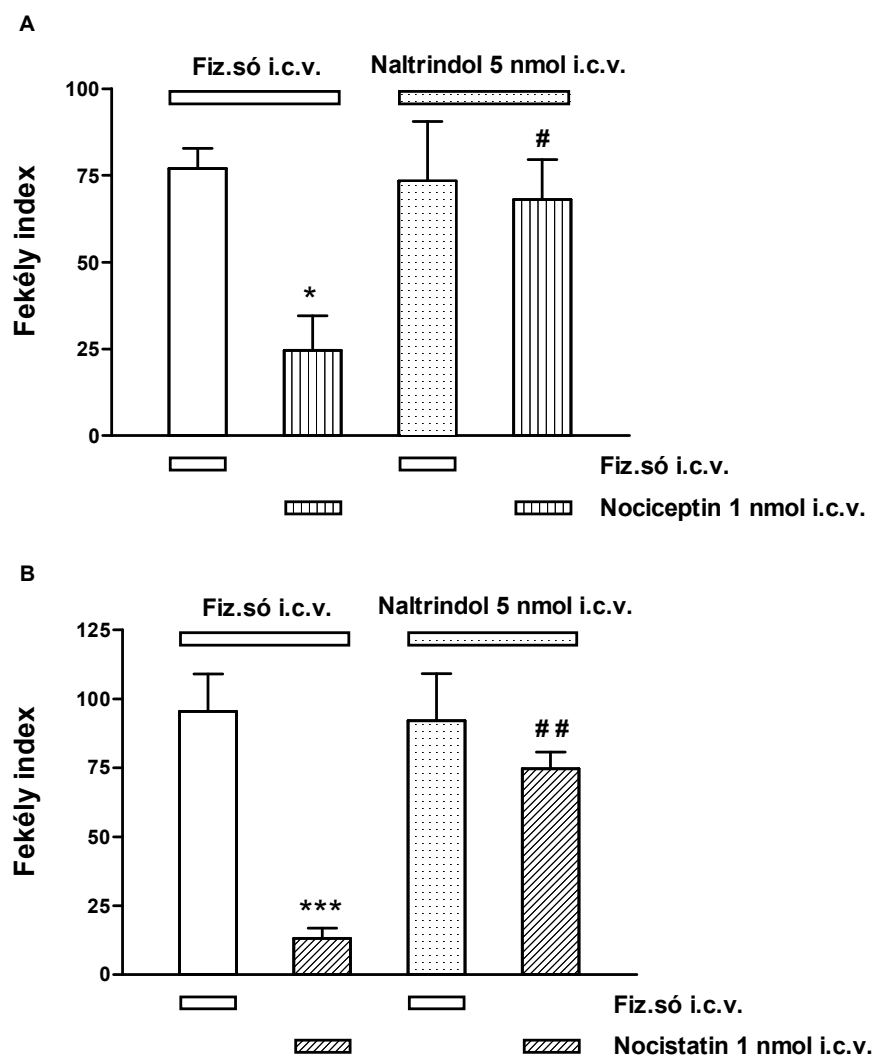


15. ábra. A  $\beta$ -funaltrexamin (20 nmol i.c.v.) hatása a nociceptin (1 nmol i.c.v.) és nocistatin (1 nmol i.c.v.) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során

kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*\*\* $p < 0.001$  a fiziológiás sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), ### $p < 0.001$  a fiziológiás só + nociceptin-kezelt (2. oszlop, 15A) vagy a fiziológiás só + nocistatin-kezelt (2. oszlop, 15B) csoporthoz képest, †† $p < 0.01$  a fiziológiás só +  $\beta$ -FNA-kezelt csoporthoz képest (3. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

### **3.2.3.3. A naltrindol hatása nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására**

A nociceptin (1 nmol i.c.v.) 68%-os, a nocistatin (1 nmol i.c.v.) 86%-os gátlást fejtett ki az alkoholos fekélyek kialakulására. A szelektív  $\delta$ -opioid-receptor antagonistá naltindol (5 nmol i.c.v.) nem befolyásolta az alkohol okozta léziók súlyosságát, azonban felfüggesztette mind a nociceptin, mind a nocistatin védőhatását (16. ábra).

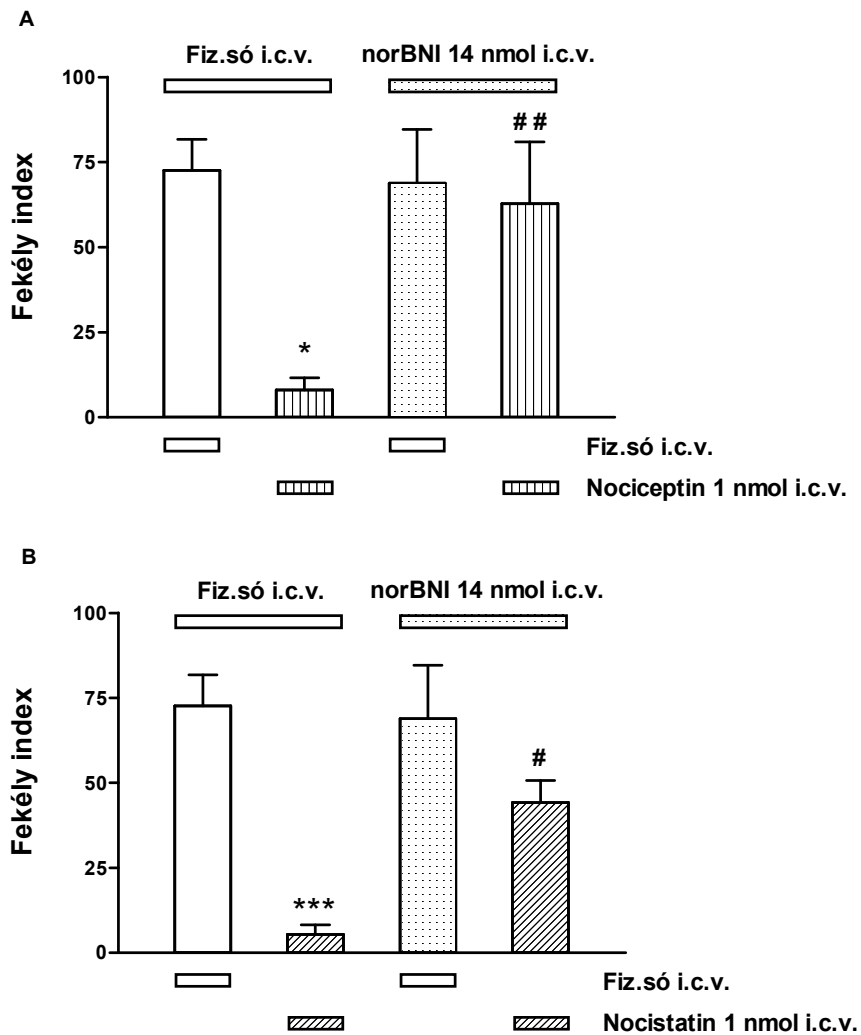


16. ábra. A naltrindol (5 nmol i.c.v.) hatása a nociceptin (1 nmol i.c.v.) és nocistatin (1 nmol i.c.v.) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M) ábrázolják. \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$  a fiziológiás sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), # $p < 0.05$ , ## $p < 0.01$  a fiziológiás só + nociceptin-kezelt (2. oszlop, 16A) vagy a fiziológiás só + nocistatin-kezelt (2. oszlop, 16B) csoporthoz képest (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

#### **3.2.3.4. A norbinaltorphimin (norBNI) hatása nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására**

A nociceptin (1 nmol i.c.v.) 89%-os, a nocistatin (1 nmol i.c.v.) 92%-os gátlást fejtett ki az alkoholos fekélyek kialakulására. A szelektív  $\kappa$ -opioid-receptor antagonistá norbinaltorphimin (norBNI, 14 nmol i.c.v.), mely önmagában nem okozott csökkenést az alkoholos fekélyek kialakulásában, felfüggesztette a nociceptin, és szignifikánsan csökkentette a nocistatin védőhatását (17. ábra).



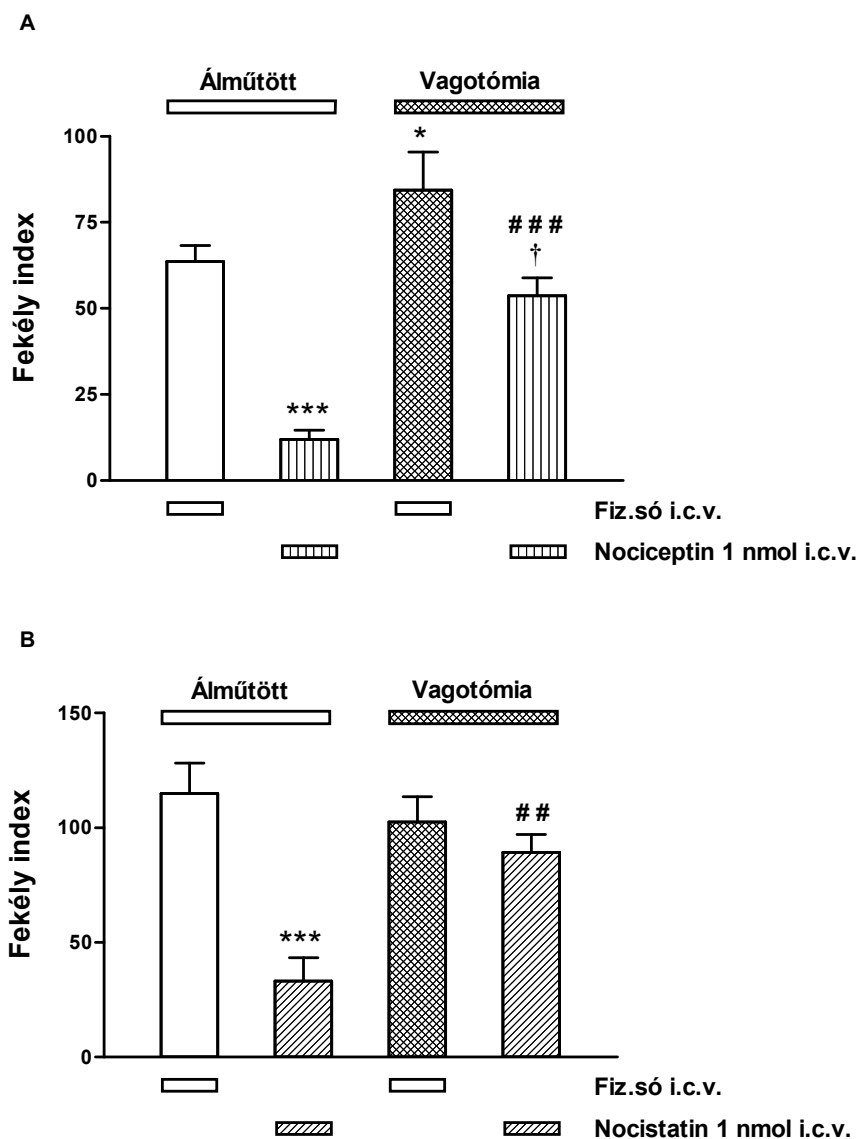


17. ábra. A norbinaltorphimin (norBNI, 14 nmol i.c.v.) hatása a nociceptin (1 nmol i.c.v.) és nocistatin (1 nmol i.c.v.) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$  a fiziológiás sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), # $p < 0.05$ , ## $p < 0.01$  a fiziológiás só + nociceptin-kezelt (2. oszlop, 17A) vagy a fiziológiás só + nocistatin-kezelt (2. oszlop, 17B) csoporthoz képest (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

### **3.2.4. A nociceptin és nocistatin hatásának mediálásában szerepet játszó perifériás faktorok vizsgálata**

### 3.2.4.1. Vagotómia hatása a nociceptin és nocistatin gastroprotektív hatására

Bilaterális cervikális vagotómia alkalmazása 2 órával a kísérlet előtt vagy nem befolyásolta, vagy súlyosbította az alkoholos fekélyek kialakulását. A nociceptin (1 nmol i.c.v.) hatását szignifikánsan csökkentette, míg a nocistatinét (1 nmol i.c.v.) teljesen felfüggesztette (18. ábra).

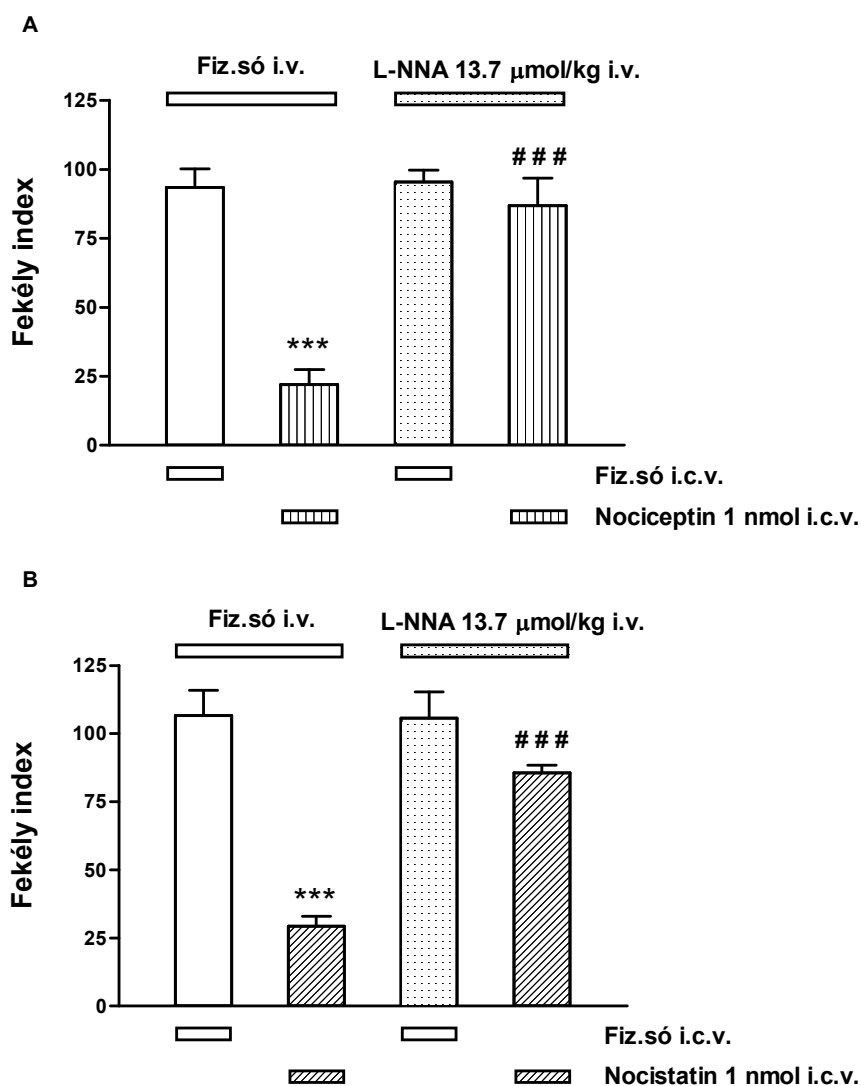


18. ábra. Bilaterális cervikális vagotómia hatása a nociceptin (1 nmol i.c.v.) és a nocistatin (1 nmol i.c.v.) gastroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$  a

fiziológiás sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), <sup>##</sup>p<0.01, <sup>###</sup>p<0.001 a fiziológiás só + nociceptin-kezelt (2. oszlop, 18A) vagy a fiziológiás só + nocistatin-kezelt (2. oszlop, 18B) csoporthoz képest, <sup>†</sup>p<0.05 a vagotomizált csoporthoz képest (3. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt, n=5).

### 3.2.4.2. Az N<sup>G</sup>-nitro-L-arginin hatása a nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására

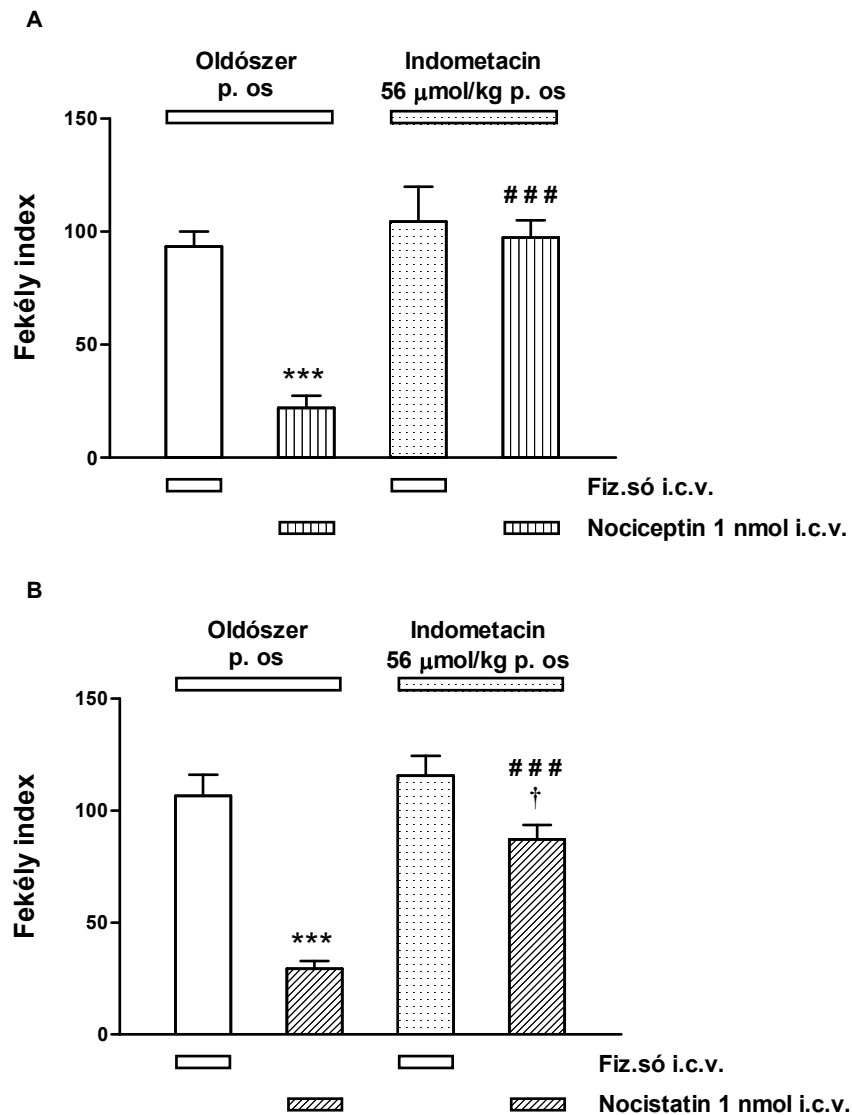
A nem szelektív nitrogén monoxid szintáz (NOS) inhibitor N<sup>G</sup>-nitro-L-arginin (L-NNA, 13.7 μmol/kg i.v.) önmagában nem befolyásolta az alkoholos léziók kialakulását, azonban felfüggesztette mind a nociceptin (1 nmol i.c.v., 76%-os gátlás), mind a nocistatin (1 nmol i.c.v., 72%-os gátlás) hatását (19. ábra).



19. ábra. Az N<sup>G</sup>-nitro-L-arginin (13.7 mmol/kg i.v.) hatása a nociceptin (1 nmol i.c.v.) és a nocistatin (1 nmol i.c.v.) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*\*\* p<0.001 a fiziológiás sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), ### p<0.001 a fiziológiás só + nociceptin-kezelt (2. oszlop, 19A) vagy a fiziológiás só + nocistatin-kezelt (2. oszlop, 19B) csoporthoz képest (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt, n=5).

#### **3.2.4.3. Az indometacin hatása a nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatására**

A prosztaglandinok szintéziséért felelős COX enzimek gátlása indometacinnal (56 µmol/kg p. os) önmagában nem befolyásolta az alkoholos léziók kialakulását (ahogy fentebb említettem, az indometacinós fekélyek kialakulásához pedig hosszabb idő szükséges), ugyanakkor meggátolta a nociceptin- (1 nmol i.c.v., 76%-os gátlás) és szignifikánsan csökkentette a nocistatin (1 nmol i.c.v., 72%-os gátlás) hatását (20. ábra).



20. ábra. Az indometacin (56  $\mu\text{mol/kg}$  p. os) hatása a nociceptin (1 nmol i.c.v.) és a nocistatin (1 nmol i.c.v.) gasztroprotektív hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*\*\*  $p < 0.001$  a fiziológiás sóval kezelt csoporthoz képest (1. oszlop), ###  $p < 0.001$  a fiziológiás só + nociceptin-kezelt (2. oszlop, 20A) vagy a fiziológiás só + nocistatin-kezelt (2. oszlop, 20B) csoporthoz képest, †  $p < 0.05$  az indometacinnal kezelt csoporthoz képest (3. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt,  $n=5$ ).

### **3.3. Az $\alpha_2$ - és imidazolin receptorok**

#### **3.3.1. A clonidin és oxymetazolin gyomormotilitást gátló hatásának vizsgálata**

##### **3.3.1.1. A clonidin és oxymetazolin hatása a bazális motilitásra**

A bazális intragasztrikus nyomást minden kísérlet elején  $10 \pm 0.5$  cmH<sub>2</sub>O-re állítottam be. A nem szelektív  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonista clonidin (1.9  $\mu$ mol/kg i.v.) hatására nem csökkent sem az átlagos amplitúdó, sem az amplitúdók összege, míg az intragasztrikus nyomás értéke enyhén csökkent, ez azonban nem volt statisztikailag szignifikáns (1. táblázat). Előzetes adataink szerint a clonidin nagyobb dózisban (3.8  $\mu$ mol/kg i.v.) sem fejtett ki gátló hatást az alap motilitásra.

A szelektív  $\alpha_{2A}$ -receptor agonista oxymetazolin (1.7  $\mu$ mol/kg i.v.) ezzel szemben azonnali és tartós csökkenést okozott mindhárom paraméterben (1. táblázat), és előzetes adatok alapján ezt jóval alacsonyabb dózisban (0.2  $\mu$ mol/kg i.v.) is kifejtette.

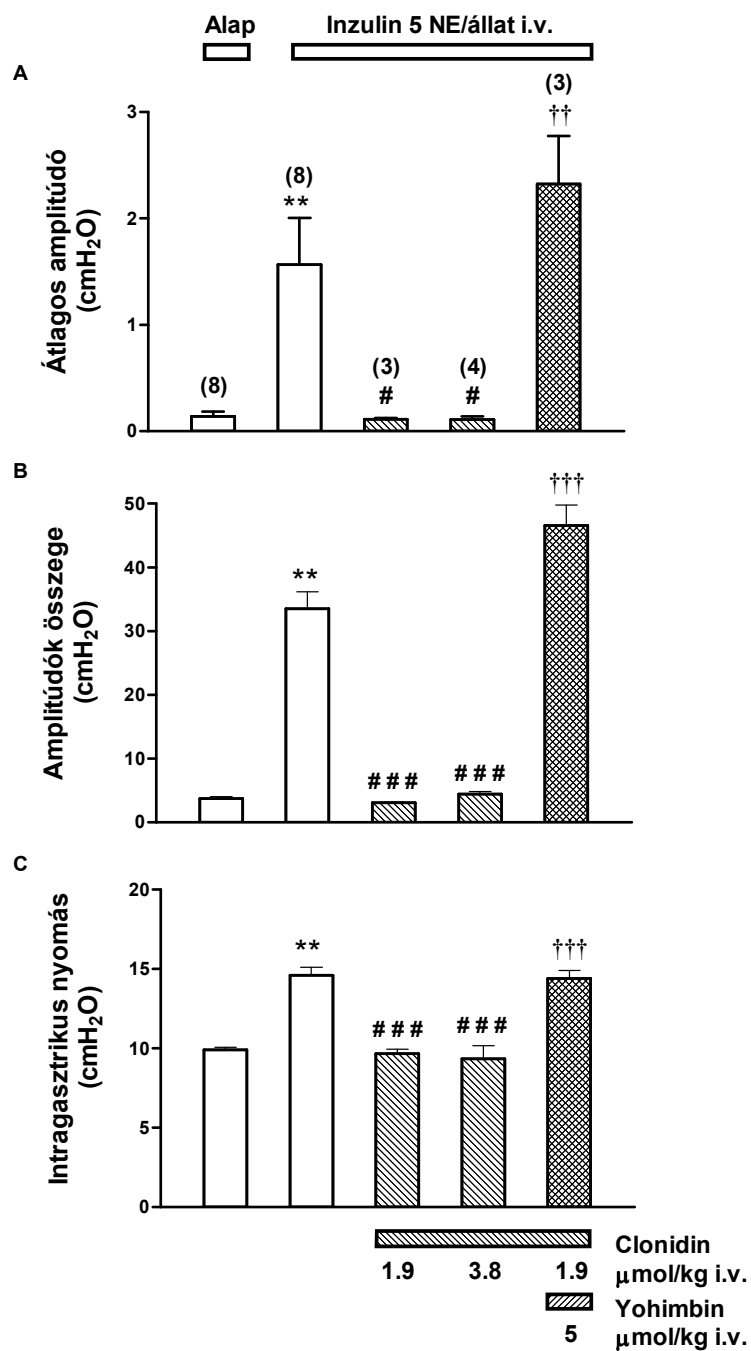
<b>Vegyület</b>	<b><i>n</i></b>	<b>Átlagos amplitúdó (cmH<sub>2</sub>O)</b>	<b>Amplitúdók összege (cmH<sub>2</sub>O)</b>	<b>Intragasztrikus nyomás (cmH<sub>2</sub>O)</b>
-	5	0.12 ± 0.01	2.41 ± 0.22	10.15 ± 0.41
Clonidin	5	0.11 ± 0.02	2.53 ± 0.64	8.9 ± 0.73
-	6	0.12 ± 0.01	3.21 ± 0.42	10.55 ± 0.21
Oxymetazolin	6	0.07 ± 0.01 *	1.54 ± 0.33 *	8.6 ± 0.3 *

1. táblázat. A clonidin (1.9  $\mu$ mol/kg i.v.) és az oxymetazolin (1.7  $\mu$ mol/kg i.v.) hatása a bazális gyomormotilitásra. A táblázatban szereplő értékek a kísérletek során kapott

értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) jelentik. \* $p < 0.05$  a bazális értékekhez képest (kétmintás T-teszt).

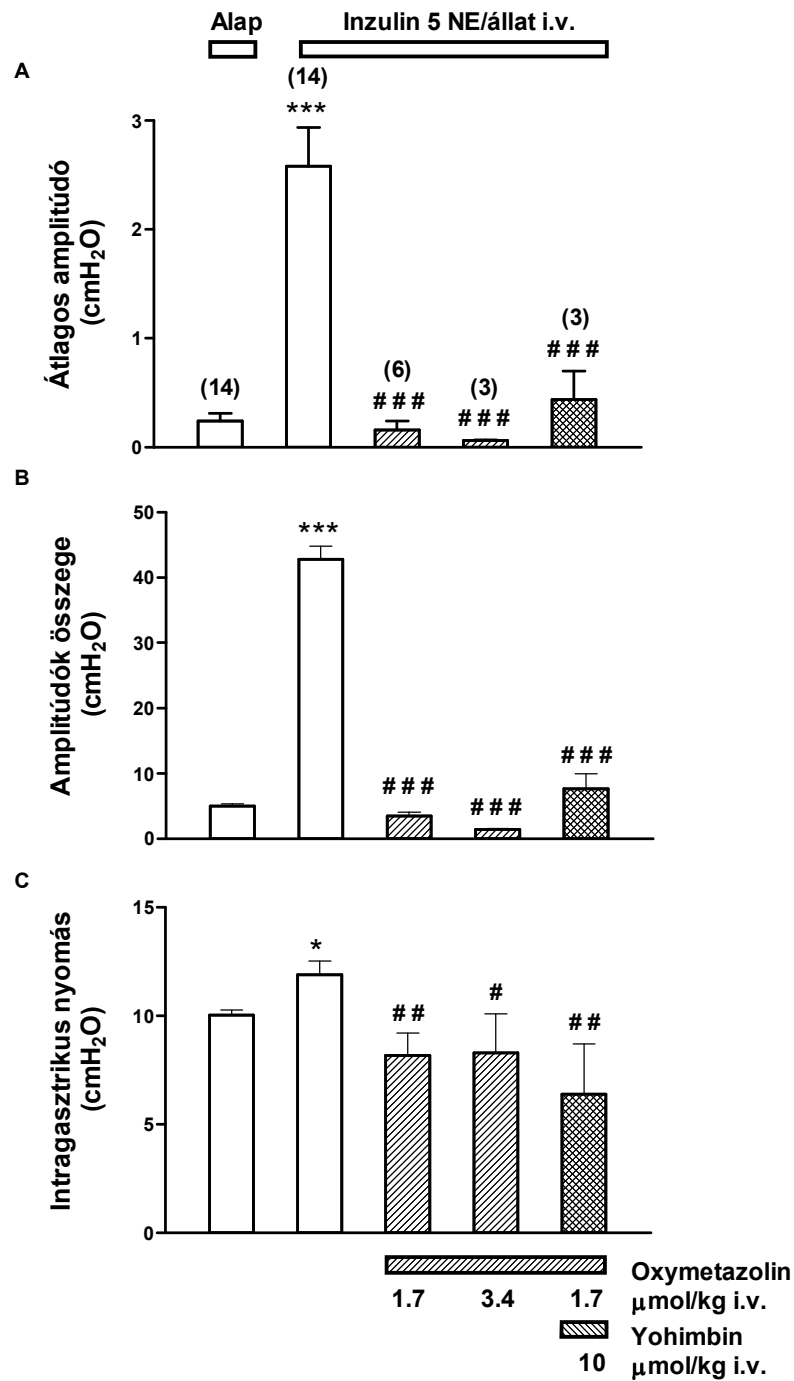
### **3.3.1.2. A clonidin és oxymetazolin hatása önmagában és yohimbinnel kombinálva az inzulinnal stimulált motilitásra**

Az inzulin (5 NE i.v.) hatására egyaránt emelkedett az intragasztrikus nyomás és a kontrakciók amplitudója, de az utóbbi fokozódása jelentősebb volt. (Az intragasztrikus nyomás átlagosan  $9.9 \pm 0.1$  cmH<sub>2</sub>O-ről  $12.8 \pm 0.5$  cmH<sub>2</sub>O-re emelkedett, míg az átlagos amplitúdó  $0.2 \pm 0.04$  cmH<sub>2</sub>O-ről  $2.3 \pm 0.3$  cmH<sub>2</sub>O-re, az amplitúdók összege pedig  $4.2 \pm 0.8$  cmH<sub>2</sub>O-ről  $38.6 \pm 4.7$  cmH<sub>2</sub>O-re,  $n=26$ .) A motoros aktivitás fokozódása az inzulin beadását követően átlagosan 30 perccel kezdődött, a plató szakasz pedig 45-50 perc múlva állt be. Ezalatt az állatok kezdeti vércukor értéke az átlagos  $9.8 \pm 0.6$  mmol/l-ről  $4.8 \pm 0.4$  mmol/l-re csökkent ( $n=11$ ). A clonidin (1.9 és 3.8  $\mu\text{mol/kg}$ , i.v.) és oxymetazolin (1.7 és 3.4  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) egyaránt csökkentették az inzulin-stimulált motilitás összes mért paraméterét, mind az intragasztrikus tónust, mind az amplitúdók átlagát és összegét (21. ábra, 22. ábra, 23. ábra). Amíg azonban a clonidin hatását a nem szelektív  $\alpha_2$ -receptor antagonistá yohimbin (5  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) felfüggesztette (21. ábra, 23A. ábra), az oxymetazolin hatását nem gátolta (22. ábra, 23B. ábra).



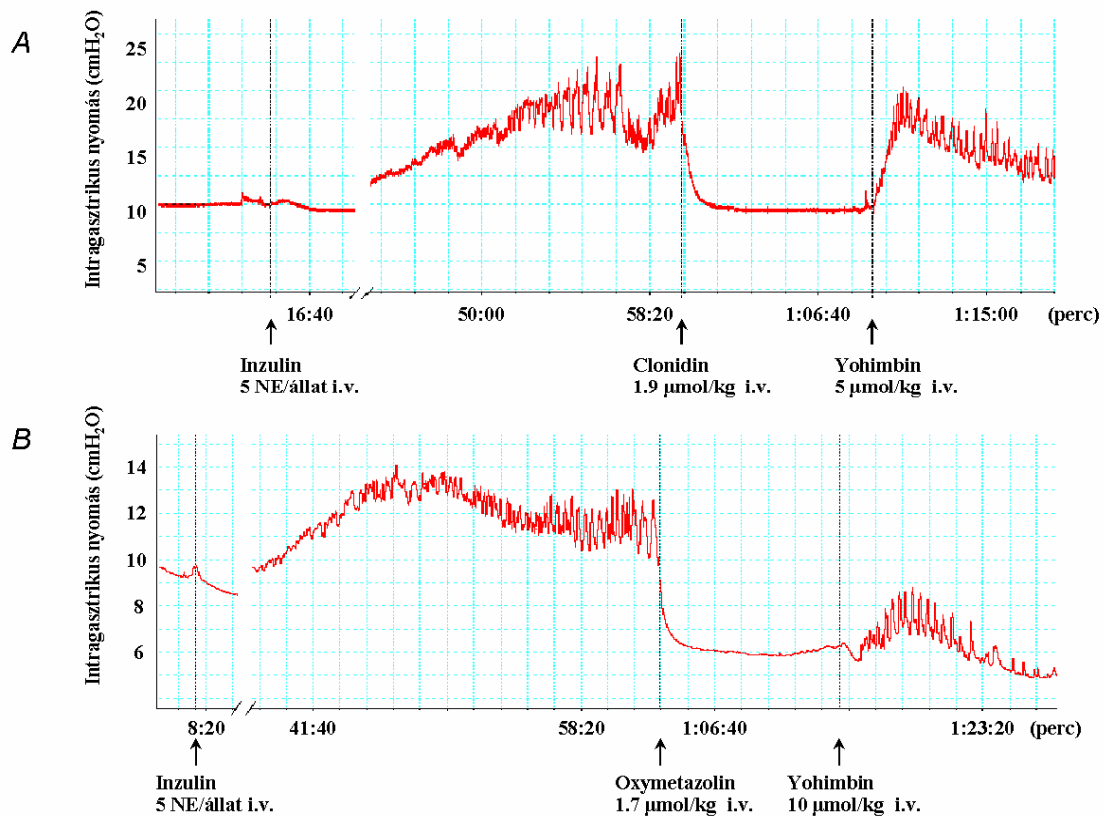
21. ábra. A clonidin (1.9 és 3.8  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) és a clonidin (1.9  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) + yohimbin (5  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) kombináció hatása az inzulin-stimulált motilitásra. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. Az oszlopok feletti zárójelekben az állatok száma látható. \*\* $p < 0.01$  az alap motilitáshoz képest (1. oszlop), # $p < 0.05$ , ### $p < 0.001$  az inzulin-stimulált motilitáshoz képest (2. oszlop), †† $p < 0.01$ , ††† $p < 0.001$  az inzulin + clonidin (1.9  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) -kezelt csoporthoz képest (3. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt).





22. ábra. Az oxymetazolin (1.7 és 3.4 μmol/kg i.v.) és az oxymetazolin (1.7 μmol/kg i.v.) + yohimbin (10 μmol/kg i.v.) kombináció hatása az inzulin-stimulált motilitásra. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. Az oszlopok feletti zárójelben az állatok száma látható. \*p<0.05, \*\*\*p<0.001 az alap motilitáshoz képest (1. oszlop), #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 az

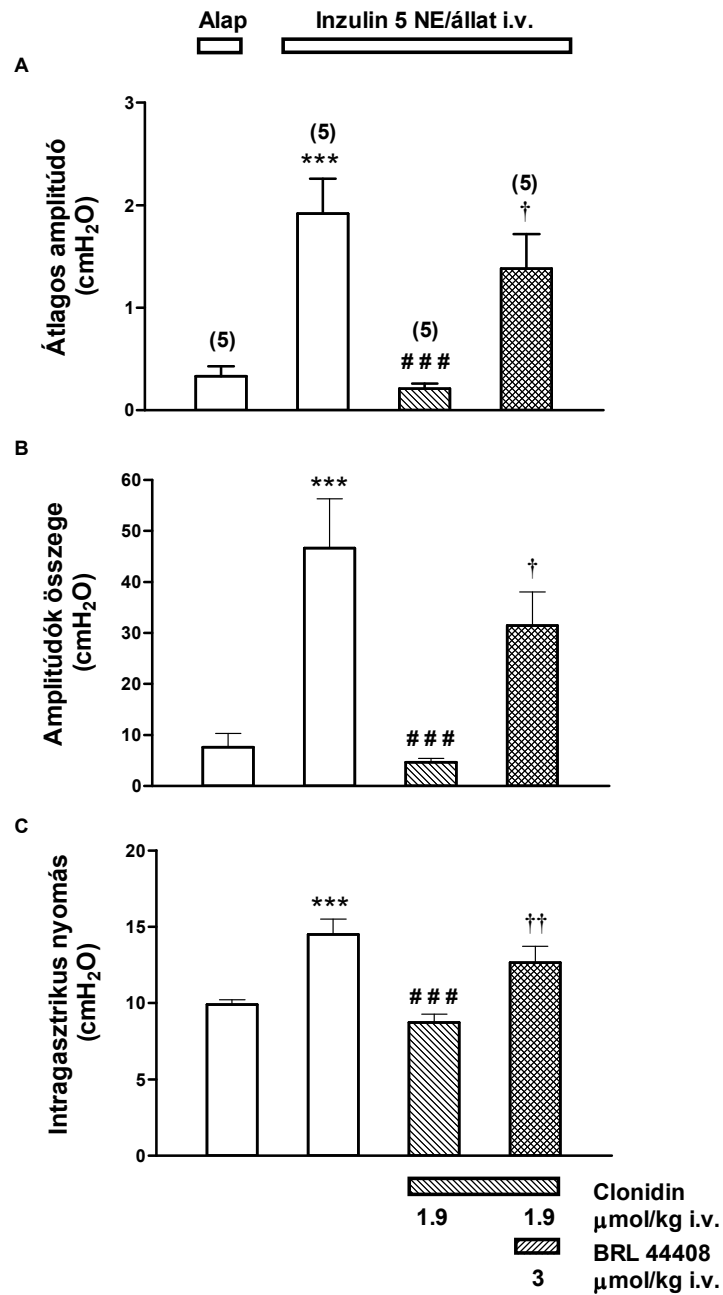
inzulin-stimulált motilitáshoz képest (2. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt).



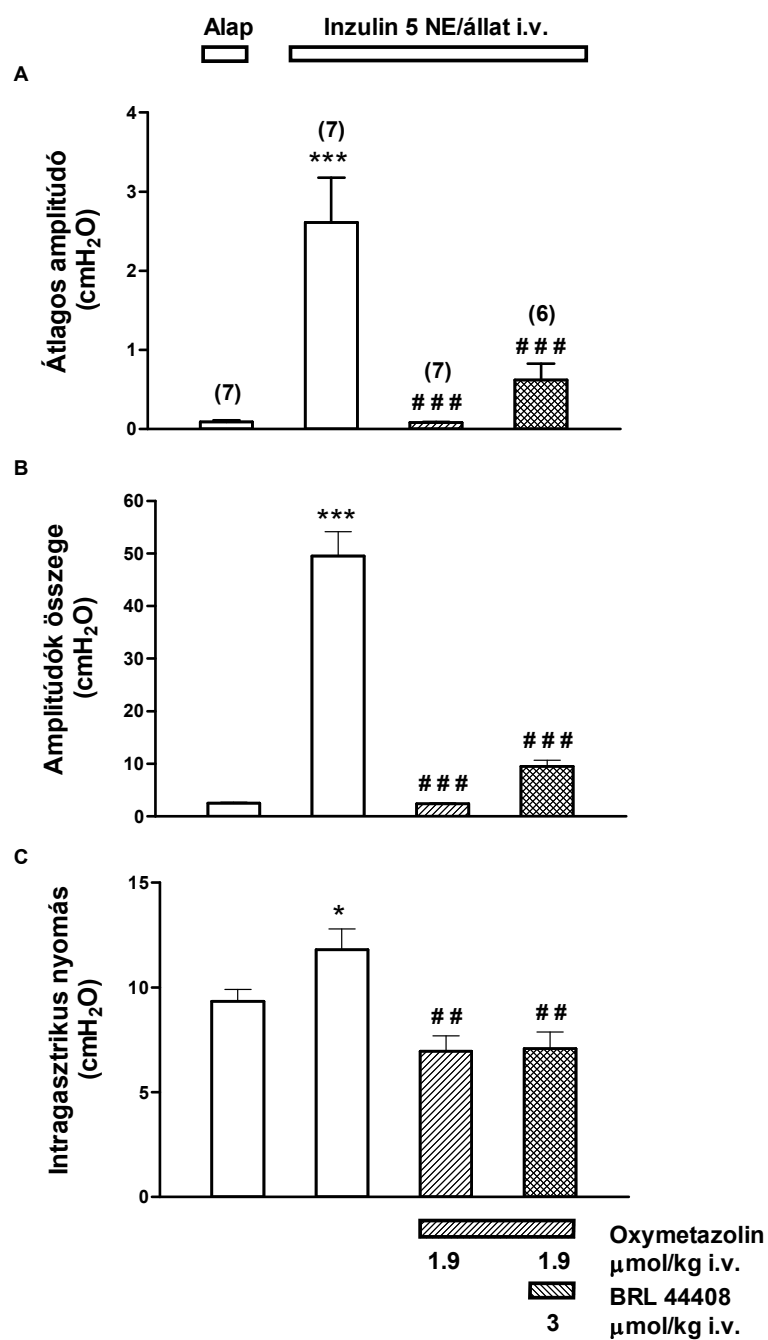
23. ábra. Reprezentatív kísérleti regisztrátumok, melyek a yohimbine (5 és 10 μmol/kg i.v.) hatását szemléltetik a clonidine (1.9 mmol/kg i.v., 23A) és az oxymetazolin (1.7 μmol/kg i.v., 23B) motilitást gátló hatására.

### **3.3.1.3. A BRL 44408 hatása a clonidine és oxymetazolin motilitást gátló hatására**

A clonidine (1.9 μmol/kg i.v.) és oxymetazolin (1.9 μmol/kg i.v.) egyaránt csökkentették az inzulin által stimulált kontrakciókat (az átlagos amplitúdót és az amplitúdók összegét), valamint az intragasztikus tónust. A szelektív α<sub>2A</sub>-receptor antagonistá BRL 44408 (3 μmol/kg) intravénás alkalmazása a clonidine hatását felfüggesztette (24. ábra), azonban nem befolyásolta az oxymetazolinét (25. ábra).



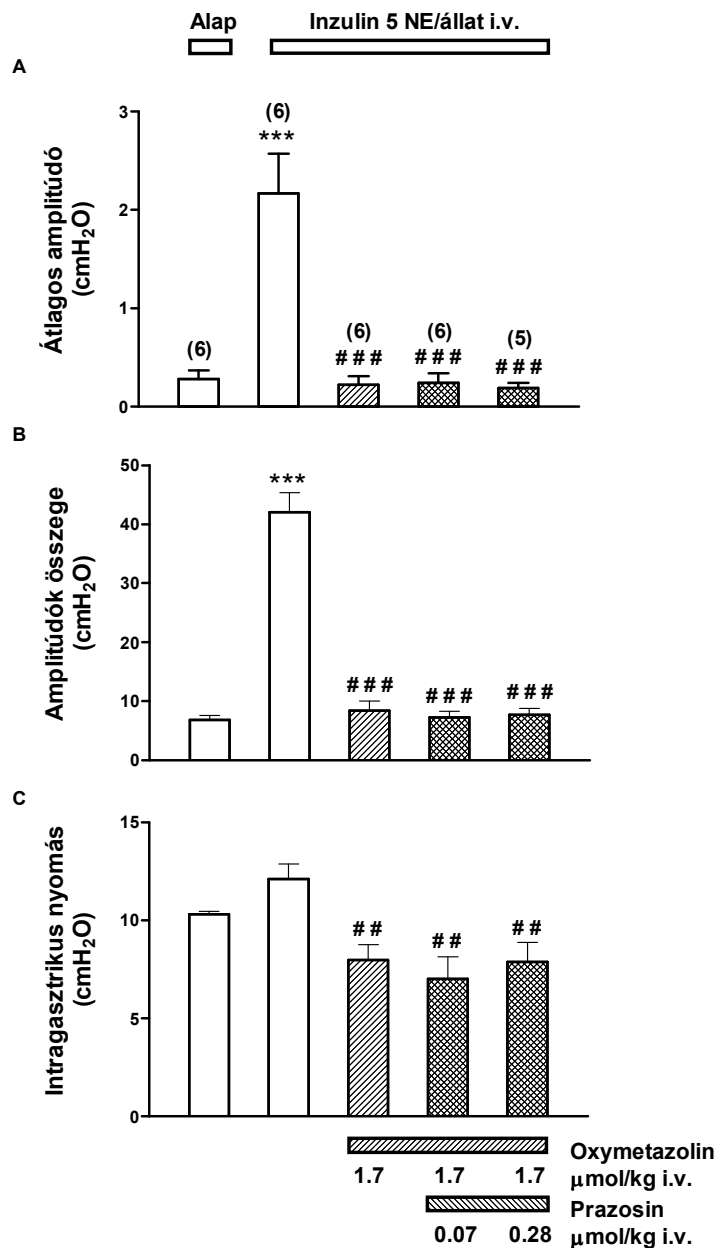
24. ábra. A BRL 44408 (3 μmol/kg i.v.) hatása a clonidin (1.9 μmol/kg i.v.) inzulin-indukálta motilitást gátló hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. Az oszlopok feletti zárójelekben az állatok száma látható. \*\*\* $p < 0.001$  az alap motilitáshoz képest (1. oszlop), ### $p < 0.001$  az inzulin-stimulált motilitáshoz képest (2. oszlop), † $p < 0.05$ , †† $p < 0.01$  az inzulin + clonidin (1.9 μmol/kg i.v.) -kezelt csoporthoz képest (3. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt).



25. ábra. A BRL 44408 (3 μmol/kg i.v.) hatása az oxymetazolin (1.9 μmol/kg i.v.) inzulin-indukálta motilitást gátló hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. Az oszlopok feletti zárójelekben az állatok száma látható. \*p<0.05, \*\*\*p<0.001 az alap motilitáshoz képest (1. oszlop), ##p<0.01, ###p<0.001 az inzulin-stimulált motilitáshoz képest (2. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt).

### 3.3.1.4. A prazosin hatása az oxymetazolin motilitást gátló hatására

Oxymetazolin (1.7  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) hatására csökkent az inzulin által stimulált kontrakciók nagysága (az átlagos amplitúdó és az amplitúdók összege), valamint az intragasztrikus tónus. A prazosint két dózisban alkalmaztam; a kisebbik dózisban (0.07  $\mu\text{mol/kg}$ ) az  $\alpha_1$ -adrenoceptorokat, nagyobb dózisban (0.28  $\mu\text{mol/kg}$ ) pedig az  $\alpha_1$ - és  $\alpha_{2B}$ -receptorokat egyaránt gátolja. Amint a 26. ábrán látható, egyik dózisban sem befolyásolta az oxymetazolin hatását. (Korábbi kísérleteinkben a prazosin a clonidin hatását sem függesztette fel) (Fulop és mtsai 2005).

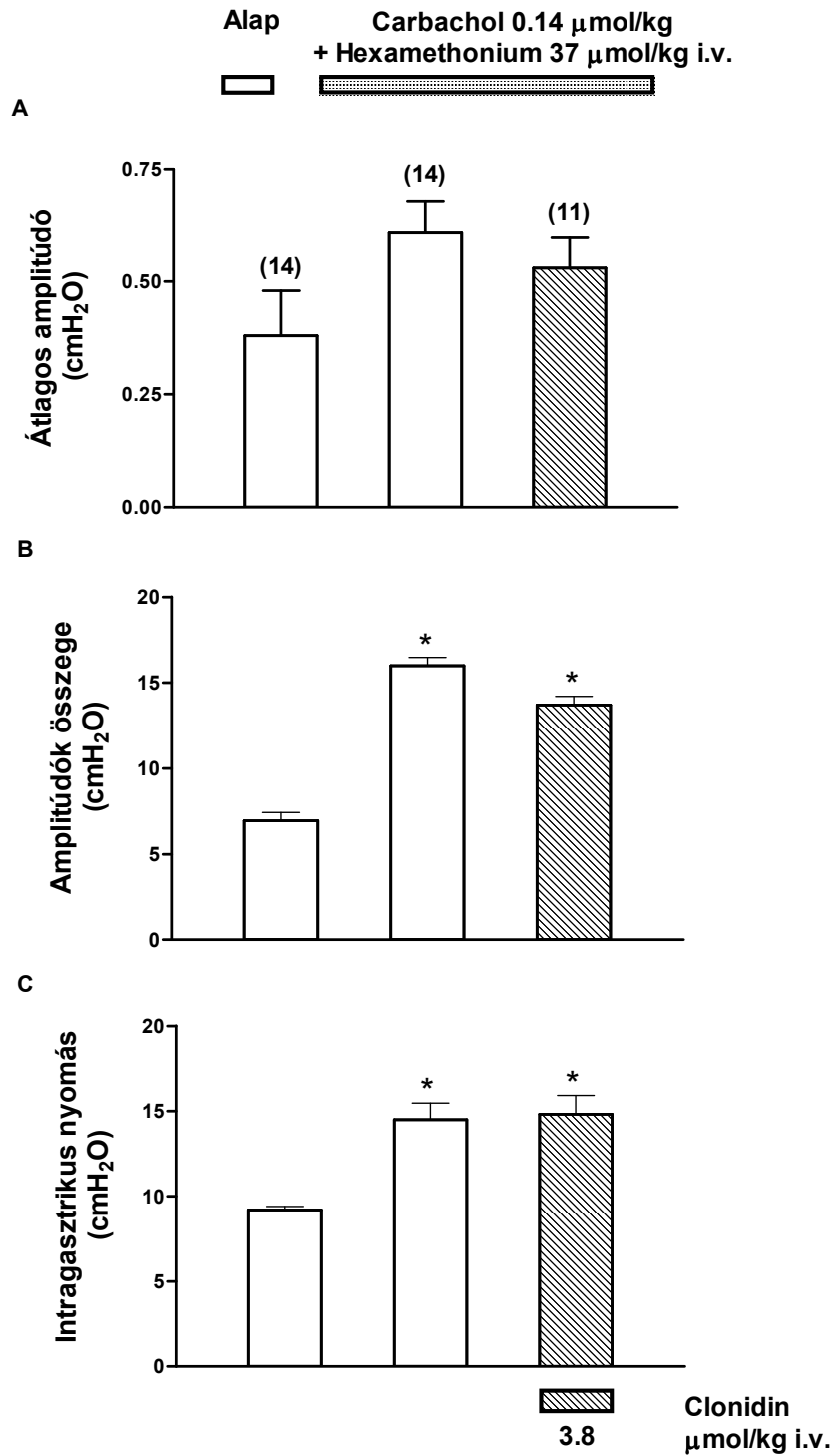


26. ábra. A prazosin (0.07 és 0.28  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) hatása az oxymetazolin (1.7  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) inzulin-indukálta motilitást gátló hatására. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. Az oszlopok feletti zárójelekben az állatok száma látható. \*\*\* $p < 0.001$  az alap motilitáshoz képest (1. oszlop), ## $p < 0.01$ , ### $p < 0.001$  az inzulin-stimulált motilitáshoz képest (2. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt).

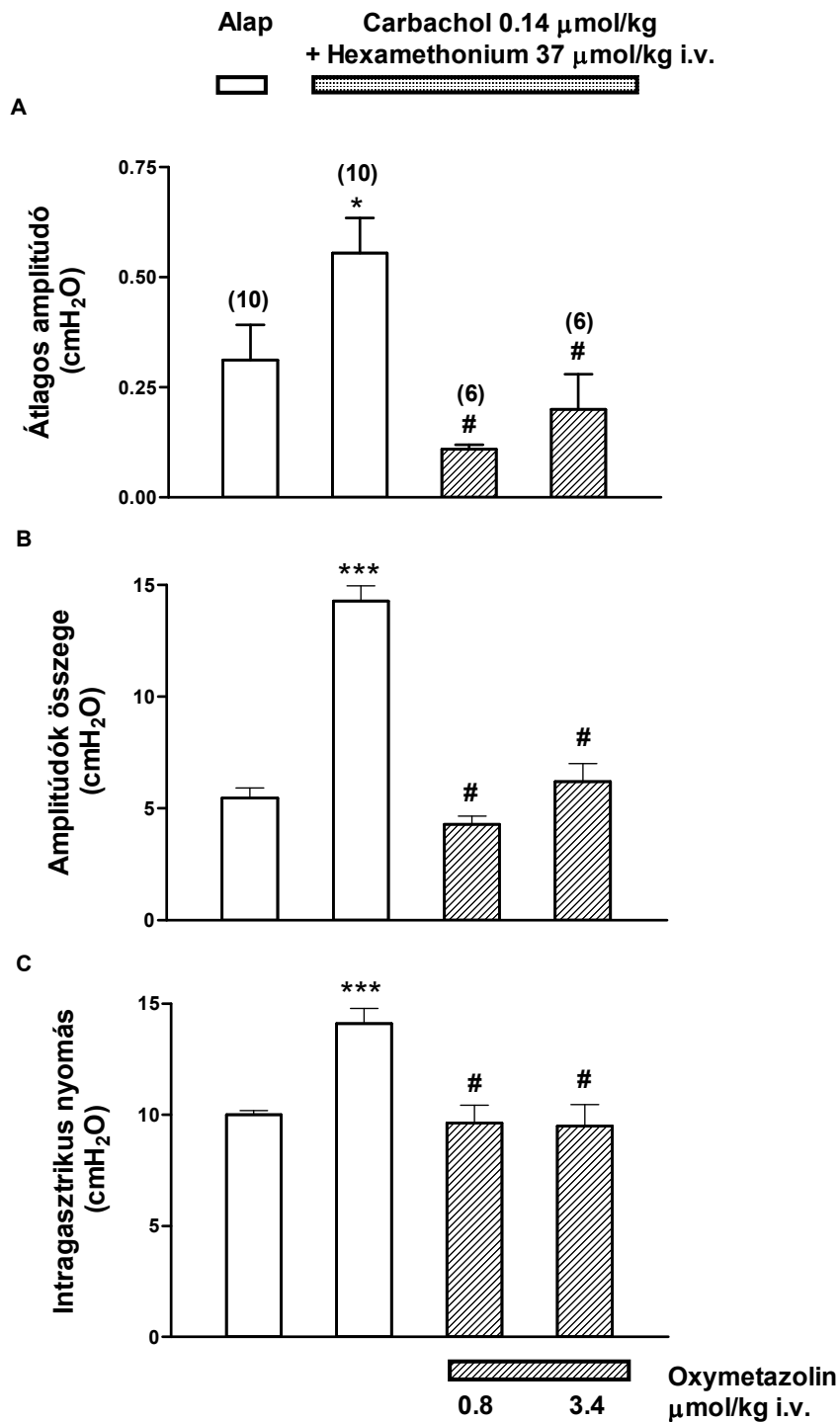
### **3.3.1.5. A clonidin és oxymetazolin hatása a carbachollal stimulált motilitásra**

A paraszimpatomimetikus carbachol (0.14  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) azonnal megemelte mind az intragasztrikus tónust, mind az amplitúdók átlagát és összegét (előbbi átlagosan  $9.6 \pm 0.2$   $\text{cmH}_2\text{O}$ -ről  $13.7 \pm 0.4$   $\text{cmH}_2\text{O}$ -re emelkedett, míg az átlagos amplitúdó  $0.4 \pm 0.1$   $\text{cmH}_2\text{O}$ -ről  $1.7 \pm 0.2$   $\text{cmH}_2\text{O}$ -re, az amplitúdók összege pedig  $6.3 \pm 1.2$   $\text{cmH}_2\text{O}$ -ről  $29.2 \pm 3.6$   $\text{cmH}_2\text{O}$ -re,  $n=24$ ). A fokozott motilitás körülbelül 8 perccel a carbachol adását követően stabilizálódott. Ezt követően az állatok ganglion blokkoló hexamethoniumot (37  $\mu\text{mol/kg}$ , i.v.) kaptak, mely az amplitúdókat csökkentette ( $0.6 \pm 0.05$   $\text{cmH}_2\text{O}$ -re az átlagot és  $15.3 \pm 1.4$   $\text{cmH}_2\text{O}$ -re az amplitúdók összegét), a kontrakciók frekvenciáját azonban némileg fokozta. Az intragasztrikus tónus nem változott, bár az esetek közel felében egy átmeneti tónus csökkenés volt tapasztalható.

A motilitás stabilizálódását követően clonidin (3.8  $\mu\text{mol/kg}$ , i.v.) és oxymetazolin (0.8 és 3.4  $\mu\text{mol/kg}$ , i.v.) került beadásra, amíg azonban az előbbi nem befolyásolta a carbachol + hexamethonium által stimulált motilitást (27. ábra, 29A. ábra), az oxymetazolin szignifikánsan csökkentette azt (28. ábra, 29B. ábra).



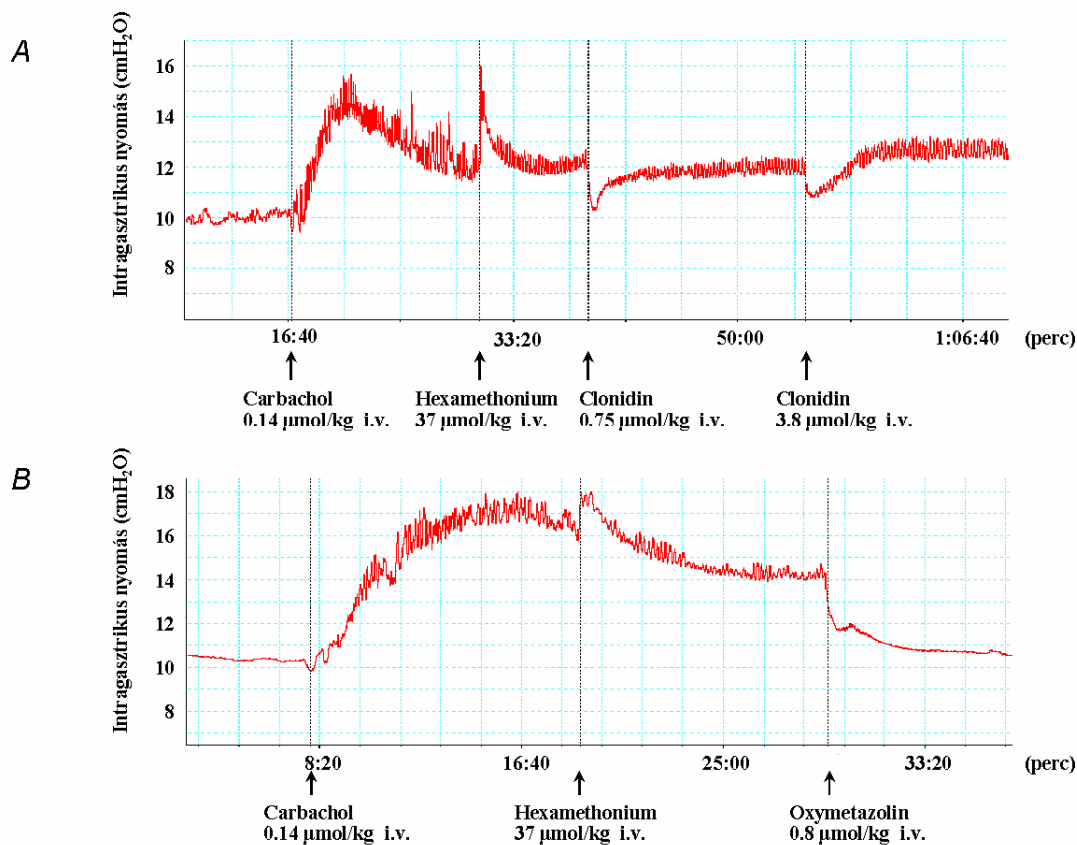
27. ábra. A clonidin (3.8  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) hatása a carbachol + hexamethonium által stimulált motilitásra. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. Az oszlopok feletti zárójelekben az állatok száma látható. \* $p < 0.05$  az alap motilitáshoz képest (1. oszlop) (ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt).



28. ábra. Az oxymetazolin (0.8 és 3.4  $\mu\text{mol/kg}$  i.v.) hatása a carbachol + hexamethonium által stimulált motilitásra. Az oszlopok a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. Az oszlopok feletti zárójelekben az állatok száma látható. \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$  az alap motilitáshoz képest (1. oszlop),



# $p < 0.05$  a carbachol + hexamethonium által stimulált motilitáshoz képest (2. oszlop)  
(ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt).



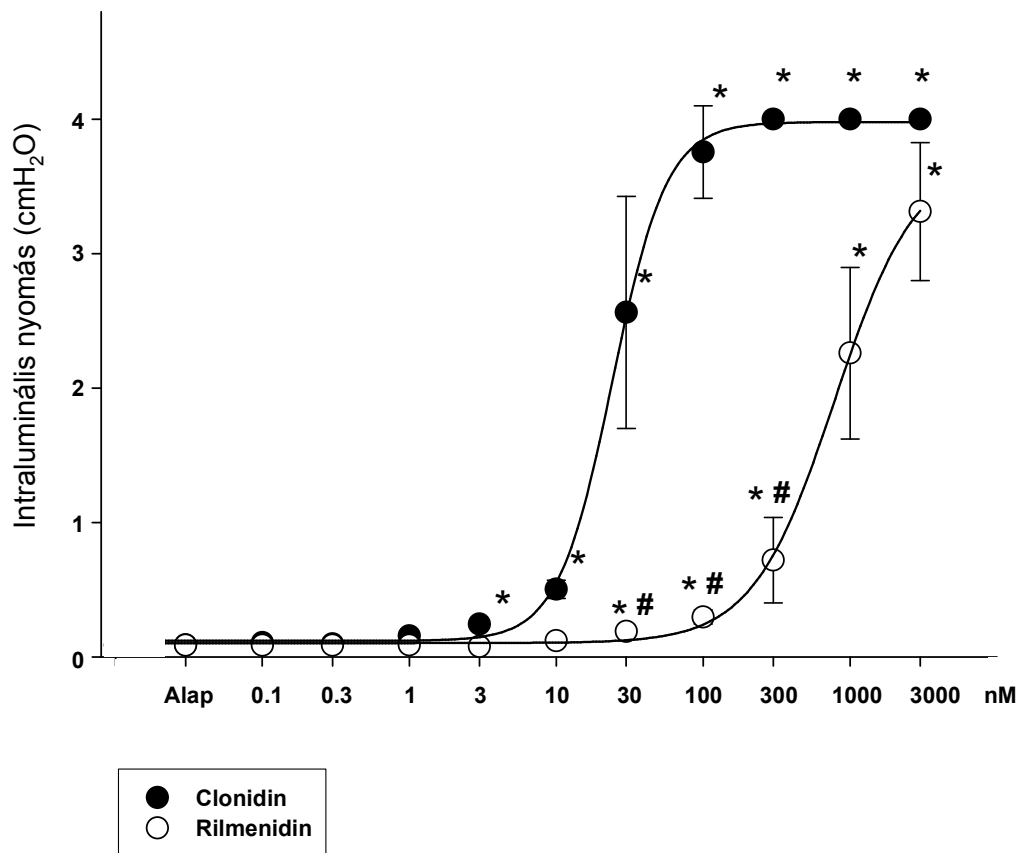
29. ábra. Reprezentatív kísérleti regisztrátumok, melyek a clonidin (0.75 és 3.8 μmol/kg i.v., 29A) és az oxymetazolin (0.8 μmol/kg i.v., 29B) hatását szemléltetik a carbachol + hexamethonium által stimulált motilitásra.

### **3.3.2. Az imidazolin receptorok hatásának vizsgálata a gasztrointesztinális rendszer motilitására**

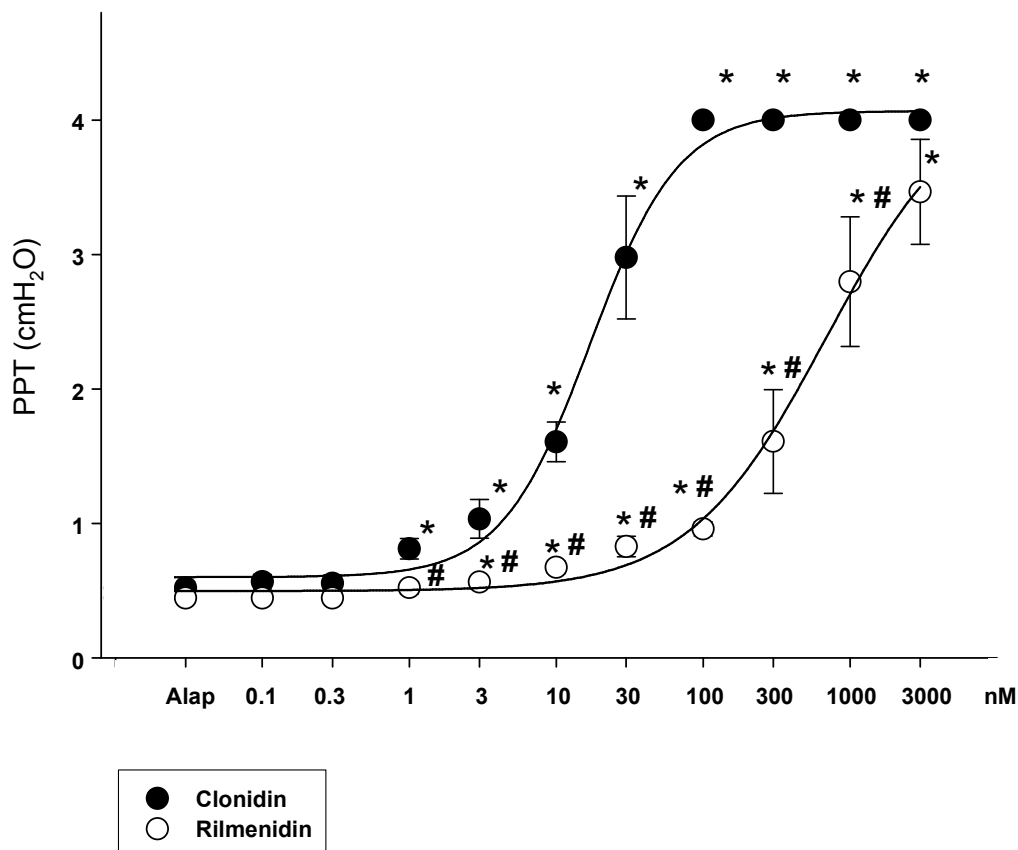
#### **3.3.2.1. A clonidin és rilmenidin motilitást gátló hatásának összehasonlítása tengeri malac ileumon**

Mind a nem szelektív  $\alpha_2$ -agonista clonidin (1 - 3000 nmol), mind az I<sub>1</sub> receptor agonista rilmenidin (1 - 3000 nmol) dózisfüggően gátolta a tengerimalac ileum motoros

aktivitását - hatásukra egyaránt emelkedett a kontrakciók közötti intraluminális nyomás (IP) és a PPT (vagyis a bélszegmensek egyre nagyobb küszöbnyomásoknál húzódtak össze és a kontrakciókat követően is egyre több folyadék maradt a lumenben). Jelentős különbség mutatkozott azonban a két vegyület hatáserősségében: a clonidin  $IC_{50(IP)}$  értéke 26.5 (15-46.9) nM és  $IC_{50(PPT)}$  értéke 16.6 (11.5-24.1) nM, míg a rilmenidiné 897.4 (713.2-1129) nM illetve 572.3 (491.3-666.7) nM, megfelelően (30. ábra, 31. ábra).



30. ábra. A clonidin (0.1 - 3000 nmol, n=6) és a rilmenidin (0.1 - 3000 nmol, n=7) hatása a kontrakciók közötti intraluminális nyomásra tengerimalac ileumon. Az agonisták különböző koncentrációi kumulatív módon, 15 perces időközökben kerültek beadásra. A görbét alkotó karikák a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \* $p < 0.05$  az alap nyomásértékhez képest, # $p < 0.05$  az azonos koncentrációjú clonidinnél mért nyomásértékhez képest (egymintás illetve kétmintás T-teszt).

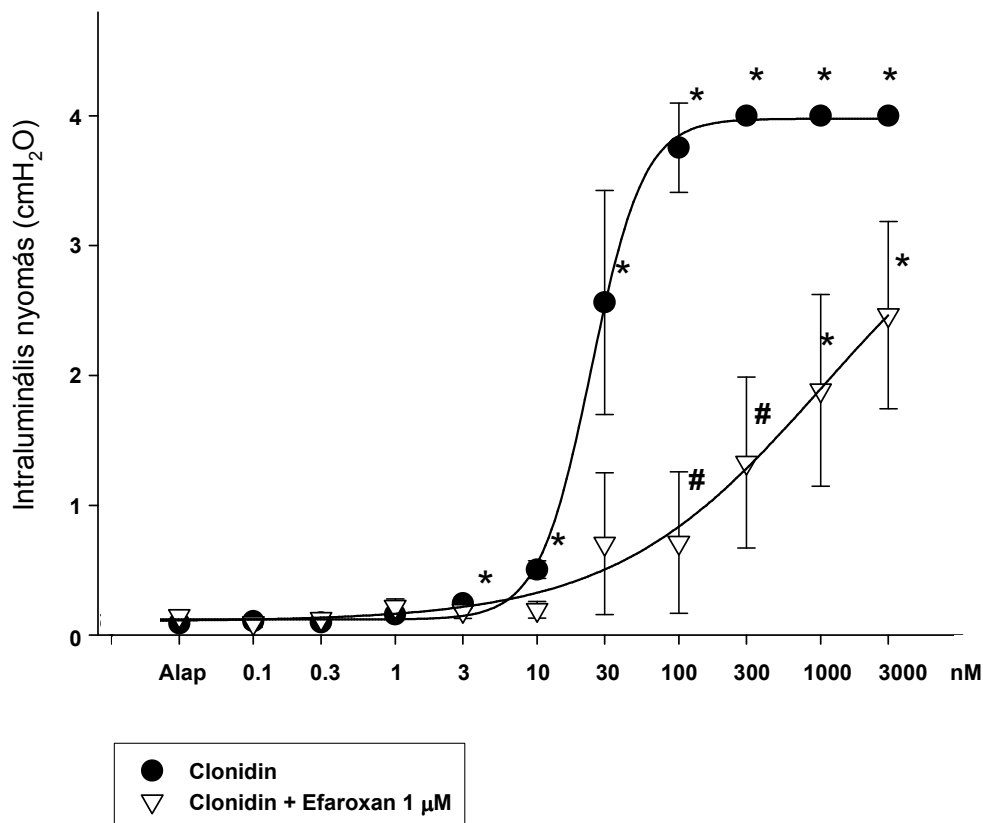


31. ábra. A clonidin (0.1 - 3000 nmol, n=6) és a rilmenidin (0.1 - 3000 nmol, n=7) hatása a perisztaltikus kontrakciók kiváltásához szükséges küszöbnyomásra (PPT) tengerimalac ileumon. Az agonisták különböző koncentrációi kumulatív módon, 15 perces időközökben kerültek beadásra. A görbét alkotó karikák a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \*p<0.05 az alap nyomásértékhez képest, #p<0.05 az azonos koncentrációjú clonidinnél mért nyomásértékhez képest (egymintás illetve kétmintás T-teszt).

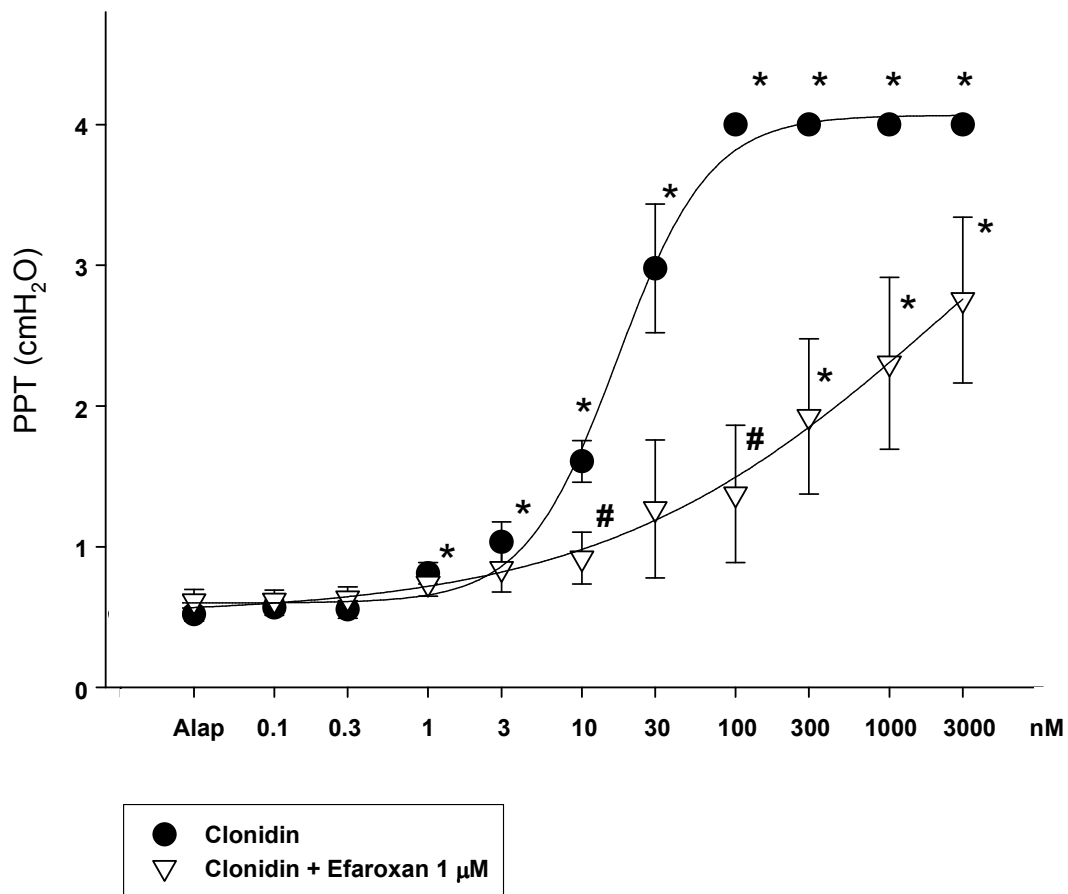
### **3.3.2.2. Az efaroxan hatása a clonidin motilitást gátló hatására tengeri malac ileumon**

A nem szelektív  $\alpha_2$ -agonista clonidin (1 - 3000 nmol) dóziszfüggően gátolta a tengerimalac ileum motoros aktivitását. Az I<sub>1</sub> receptor antagonistája efaroxan (1  $\mu$ M)

önmagában nem befolyásolta a vizsgált vékonybél szegmensek motilitását, azonban szignifikánsan gátolta a clonidin hatását; jelenlétében az  $IC_{50(IP)}$  1323 (873-2005) nM-ra, az  $IC_{50(PPT)}$  1010 (572.2-1784) nM-ra emelkedett (32. ábra, 33. ábra).



32. ábra. Az efaroxan (1 μmol) hatása a clonidin (0.1 - 3000 nmol, n=6) motilitást gátló hatására tengerimalac ileumon. Az Y-tengelyen a kontrakciók közötti intraluminális nyomás van ábrázolva. A clonidin különböző koncentrációi kumulatív módon, 15 perces időközökben kerültek beadásra, az efaroxan beadása 15 perccel a kísérlet előtt történt. A görbéket alkotó karikák a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \* $p < 0.05$  az alap nyomásértékhez képest, # $p < 0.05$  az azonos koncentrációjú clonidinnél mért nyomásértékhez képest (egymintás illetve kétmintás T-teszt).



33. ábra. Az efaroxan (1  $\mu$ mol) hatása a clonidin (0.1 - 3000 nmol, n=6) motilitást gátló hatására tengerimalac ileumon. Az Y-tengelyen a perisztaltikus kontrakciók kiváltásához szükséges küszöbnyomás (PPT) van ábrázolva. A clonidin különböző koncentrációi kumulatív módon, 15 perces időközökben kerültek beadásra, az efaroxan beadása 15 perccel a kísérlet előtt történt. A görbéket alkotó karikák a kísérletek során kapott értékek átlagát és az átlag szórását (S.E.M.) ábrázolják. \* $p < 0.05$  az alap nyomásértékhez képest, # $p < 0.05$  az azonos koncentrációjú clonidinnél mért nyomásértékhez képest (egymintás illetve kétmintás T-teszt).

## **4. MEGBESZÉLÉS**

Doktori munkám eredményei két nagyobb témakörbe csoportosíthatók. Az első témakör az opioidok (ezen belül a  $\mu$ -opioid receptor szelektív endogén endomorfinek) illetve az opioidokhoz hasonló nociceptin és nocistatin gasztroprotektív hatásával foglalkozik. A második témakör az  $\alpha_2$ -adrenoceptoroknak és imidazolin receptoroknak a motilitásra gyakorolt hatását elemzi.

### **4.1. Az endomorfinek**

#### **4.1.1. Az endomorfinek gasztroprotektív hatása**

Ahogy azt a bevezetőben említettem, az elmúlt évtizedekben számos adat került napvilágra az opioid rendszer jelentős szerepéről a gasztrointesztinális funkciók, és ezen belül a gasztroprotektió szabályozásában. Számos exogén opioid agonista ( $\mu$ - és  $\delta$ -agonisták egyaránt) gyomorvédőnek bizonyultak mind centrális, mind perifériás adagolás során (Ferri és mtsai 1983, Glavin 1985, Gyires és mtsai 2001, Gyires és Ronai 2001, Scoto és Parenti 1993). Ugyanakkor világossá vált, hogy az endogén opioid rendszer aktivációján keresztül fejt ki hatását számos protektív vegyület, így az  $\alpha_2$ -agonista clonidin (Gyires és mtsai 2000b), az excitátoros aminosav NMDA (nem publikált adat), vagy a doktori munkámban is szereplő N/OFQ és NST.

A  $\mu$ -receptorok endogén ligandjainak, az endomorfineknek a gasztrointesztinális hatásaival kapcsolatban azonban meglehetősen kevés adat rendelkezésünkre. Kimutatták, hogy gátolják az elektromosan indukált kontrakciókat tengeri malac ileumon in vitro (Tonini és mtsai 1998), valamint a gasztrointesztinális tranzitot egerekben in vivo (Goldberg és mtsai 1998). Ezenfelül mindkét endomorfín gátolja a szomatosztatin-szekrúciót patkány gyomor preparátumon (Lippl és mtsai 2001) illetve az NANC neurotranszmissziót (Storr és mtsai 2002).

Kísérleteim első részében arra kerestem választ, hogy vajon a két endomorfín gyomorvédő hatást produkál-e centrális adagolás során. A kísérleteket alkoholos fekély-modellen végeztem, mely sav-független modell és esetében egy adott vegyület protektív hatása a fokozott mukozális védelem eredménye.

A kísérletek során mind az endomorfín-1, mind az endomorfín-2 dózisfüggő gyomorvédő hatást produkált intracerebroventricularis (i.c.v.) adagolás során. Külön hangsúlyoznám, hogy hatásukat már rendkívül alacsony, pmol-os dózisban kifejtették, mely összhangban van azon korábbi megfigyelésekkel, melyek szerint az opioid-indukált gyomorvédelemhez sokkal kisebb dózisok szükségesek, mint az antinociceptív hatás eléréséhez (Gyires és Ronai 2001). Így pl. míg a  $\beta$ -endorfin analgetikus  $ED_{50}$  értéke 0.5 illetve 7.7 nmol körül található i.c.v. adagolás során (Geisow és mtsai 1977, Szekely és mtsai 1977), a gasztroprotektív hatás esetében ez az érték három nagyságrenddel kisebb, 3.5 pmol (Gyires és Ronai 2001). Az endomorfínok esetében is hasonló arány figyelhető meg: míg az endomorfín-1 analgetikus hatásának  $ED_{50}$  értéke 4.7 illetve 7.7 nmol, az endomorfín-2-é pedig 14.7 illetve 3.5 nmol körüli értékek i.c.v. adagolásnál (Goldberg és mtsai 1998, Zadina és mtsai 1997), addig a gasztroprotektív hatás esetében az  $ED_{50}$  érték 0.1 pmol alatt van. (Az  $ED_{50}$  érték pontos megállapításához további, alacsonyabb dózisok alkalmazására és a küszöb dózis meghatározására van szükség, ezen kísérletek folyamatban vannak.) Érdekes módon ezekkel az értékekkel a két endomorfín jóval nagyobb hatáserősségűnek bizonyult a szintetikus  $\mu$ -agonista DAMGO-nál ( $ED_{50}$  6.8 pmol i.c.v.) (Gyires és Ronai 2001), amely összhangban van Zadina és mtsai (1997) megfigyelésével, miszerint az endomorfín-1 nagyobb hatáserősséggel gátolta az elektromosan indukált kontrakciókat tengerimalac ileumon, mint a DAMGO. (Ugyanakkor Przewlocka és mtsai (1999) az endomorfínok intrathecalis analgetikus hatását vetették össze a DAMGO-éval, és pont az ellenkezőjét, az endomorfínok esetében kisebb hatáserősséget találtak.)

Előzetes kísérleteim alapján az endomorfínok intraciszternális adagolás során is gasztroprotektívek, még hozzá ugyanúgy pmol-os dózistartományban, mint i.c.v. adagolás esetén: az endomorfín-1 41%-os, az endomorfín-2 pedig 37%-os gátló hatást fejtett ki 0.1 pmol-os dózisban. Ez arra enged következtetni, hogy ezen peptid hatásukat mind periventrikulárisan (feltehetően a hypothalamusban), mind az agytörzsben (a DVC-ben) képesek kifejteni. Ezt támasztják alá a DAMGO-val kapott hasonló eredmények is (ezen peptid esetében az  $ED_{50(i.c.)}/ED_{50(i.c.v.)}$  arány 1.3) (Gyires és Ronai 2001), illetve a  $\mu$ -receptorok bőséges előfordulása a hypothalamikus és agytörzsi régiókban egyaránt (Mansour és mtsai 1995). Ezzel szemben a  $\delta$ -opioid agonista DPDPE és deltorphin II esetében az intraciszternális  $ED_{50}$  értékek 157-szer illetve 545-

ször kisebbek, mint az i.c.v. értékek, vagyis ezen peptidek hatásukat szinte kizárólag agytörzsi régiókban fejtik ki (Gyires és Ronai 2001). Ugyanakkor az i.c. injektált endomorfín-1- és endomorfín-2 antiszérumok teljesen felfüggesztették az i.c.v. adott endomorfín-1 és endomorfín-2 gasztroprotektív hatását, ami viszont arra utal, hogy a két endomorfín i.c.v. adagolást követően is végső soron az agytörzsben található DVC aktivációján keresztül hat. Ennek anatómiai alapjául szolgálhatnak a Hui és mtsai (2006) által leírt endomorfínerg (főleg endomorfín-1-tartalmú) neuronok, melyek a hypothalamus és a NTS között reciprok összeköttetést képeznek. A leszálló rostok a hypothalamikus a nucleus arcuatusból erednek, míg a NTS-ből a hypothalamushoz projiciáló neuronok főleg a LH-ba érkeznak.

Nemcsak a többi opioid agonistával érdemes összevetni a két endomorfín hatását, hanem egymással is. Bár az endomorfín-1 és endomorfín-2 csupán egyetlen aminosavban térnek el egymástól, (akárcsak a két  $\delta$ -ligand Leu- és Met-enkephalin), és tulajdonságaik illetve hatásaik nagymértékben hasonlítanak, az utóbbi évek során számos különbséget találtak a két peptid között. Eltérés mutatkozik például a KIR-i eloszlásukat tekintve is. Bár a bevezetőben utaltam rá, hogy a két endomorfín eloszlása hasonlít a  $\mu$ -receptorok eloszlásához, mégis, nagy általánosságban elmondható, hogy az endomorfín-1 nagyobb arányban fordul elő az agyban és az agytörzs felsőbb részeiben (így a nucleus accumbensben, a cortexben, az amygdalában, a thalamusban, a striatumban illetve a fentebb említett hypothalamusban), míg az endomorfín-2 főleg az alsóbb agytörzsi régiókban és a gerincvelőben (a substantia gelatinosában és a gerincvelő hátsó szarvában) található (Martin-Schild és mtsai 1999). Egyes munkacsoportok különbséget találtak az endomorfínok antinociceptív hatáserősségében is: az endomorfín-1 nagyobb hatáserősségűnek bizonyult, mint az endomorfín-2 (Goldberg és mtsai 1998, Tseng és mtsai 2000, Zadina és mtsai 1997). Érdekes módon egyes közlemények ezt nem támasztják alá és közel azonos hatáserősségről számolnak be (Horvath és mtsai 1999, Stone és mtsai 1997). Az ellentmondásosnak tűnő adatok hátterében az állhat, hogy a két endomorfín különböző receptor szubtípusokon keresztül és/vagy különböző hatásmechanizmussal fejtik ki hatásukat. Bár a nem szelektív opioid-receptor antagonistá naloxon vagy a szelektív  $\mu$ -receptor antagonistá  $\beta$ -funaltrexamin hatására mindkét endomorfín hatása gátlódott (Goldberg és mtsai 1998, Sakurada és mtsai 1999, Zadina és mtsai 1997), a szelektív  $\mu_1$ -szubtípus antagonistá naloxonazin



csak az endomorfín-2 hatását csökkentette, az endomorfín-1-ét nem (Bagosi és mtsai 2008, Sakurada és mtsai 1999, Sanchez-Blazquez és mtsai 1999). Úgy tűnik tehát, hogy  $\mu_1$ -receptorokon keresztül csak az endomorfín-2 képes hatni, míg a  $\mu_2$ -receptorokon valószínűleg mindkettő. Ezzel összhangban vannak azok az eredmények is, melyek során endomorfín-2 toleráns egerekben és patkányokban az endomorfín-1 hatása is csökkent, fordított helyzetben (endomorfín-1 toleráns állatokban) azonban az endomorfín-2 hatása megmaradt (Labuz és mtsai 2002, Wu és mtsai 2001).

A kísérleteimben, i.c.v. adagolás során az endomorfín-1 némileg nagyobb hatáserősségűnek bizonyult az endomorfín-2-nél, hiszen 0.03 pmol-os dózisban 60%-os gátlást fejtett ki, míg az endomorfín-2 ebben a dózisban csupán 15%-os gátlóhatást produkált. Ennek háttérében esetleg a fentebb említett különbségek állhatnak.

Mindkét peptid esetében harang alakú dózis-hatás görbét kaptam, ugyanis nagyobb dózisoknál (az endomorfín-1 esetében 20 pmol-nál, az endomorfín-2 esetében pedig már 1 pmol-nál) a gasztroprotektív hatás csökkent. Hasonló hatáscsökkenés más opioid peptidok ( $\beta$ -endorfin, DAMGO, deltorphin II, DPDPE, DADLE) esetében nem került közlésre (Gyires és Ronai 2001), azonban ezen kísérletekben az opioidokat egy viszonylag szűk dózistartományban (10-15-szörös különbség a legkisebb és legnagyobb dózis között) vizsgálták, míg jelen kísérletekben ez az arány 100 az endomorfín-2 esetében, és közel 1000 az endomorfín-1-nél. Nem zárható ki tehát, hogy a többi opioid peptid is csökkent védőhatást produkálna nagyobb dózisok esetén. A hatáscsökkenés okának felderítéséhez további kísérletek szükségesek, de figyelembe véve, hogy az opioid rendszer milyen szoros kapcsolatban áll számos egyéb endogén rendszerrel, mint pl. az  $\alpha_2$ -receptorokkal (Gyires és mtsai 2000b) vagy a cannabinoidokkal (Vigano és mtsai 2005), elképzelhető, hogy a fokozott opioid aktivitás olyan endogén rendszerek aktivációjához vezet, melyek már ellensúlyozzák az opioid-indukálta védőhatást. Azt sem szabad ugyanakkor elfelejteni, hogy - amint azt a bevezetőben említettem - az opioidok esetében fekélyt súlyosbító hatást is leírtak sav-dependens (Gyires és mtsai 1985, Parmar és mtsai 1987) és sav-független modellekben egyaránt (Esplugues és mtsai 1992), így nem kizárt, hogy nagyobb dózisok alkalmazása esetén már ez a hatás jelenik meg. Elképzelhető, hogy ez az opioidok motilitást gátló hatásának a következménye. Bár a motilitás és a mukozális integritás egymáshoz való viszonya az irodalom tükrében némileg ellentmondásos, több szerző is úgy véli, hogy egy gátolt

gyomorürülés hozzájárulhat a nyálkahártya károsodás fokozódásához. Megfigyelték például, hogy a prokinetikus hatású metoclopramid védett sav-dependens fekély-modellen (Gupta és mtsai 1989).

A két endomorfín haranggörbéje némileg különbözik egymástól, hiszen az endomorfín-1 esetében jóval szélesebb dózistartomány képezi a görbe platós szakaszát és csak 10-20 pmol-os dózisban kezd a védőhatás csökkenni, míg az endomorfín-2-nél már 1 pmol-nál is csak 26%-os védőhatás volt megfigyelhető, mely sem biológiailag, sem statisztikailag nem jelentős. Mivel a két endomorfín között számos különbség található (mint például a fentebb említett eltérő KIR-i eloszlás vagy különböző  $\mu$ -szubtípusok aktivációja), elképzelhető, hogy jelen esetben is ezeknek köszönhető a két peptid hatásában tapasztalható különbség.

A két endomorfín hatását a nem-szelektív opioid receptor antagonistá naloxonnal történő előkezelés felfüggesztette, vagyis (opioid) receptor-mediált hatásról van szó. Bár az endomorfínok a  $\mu$ -receptorok endogén ligandjai (az endomorfín-1 esetében 4000 és 15000, az endomorfín-2-nél pedig 13000 és 7000 a  $\mu/\delta$ - illetve  $\mu/\kappa$ -szelektivitás) (Zadina és mtsai 1997), a másik két opioid receptor szerepe sem zárható ki az endomorfínok által indukált gyomorvédelemben. Különösen nem, ha figyelembe vesszük azokat az irodalmi adatokat, melyek az endomorfín-2 egyéb endogén opioidokat (dynorphin, enkephalin) felszabadító hatására utalnak. Kimutatták, ugyanis, hogy az endomorfín-2 számos hatását (pl. analgetikus, köhögéscsillapító vagy helyaverziót okozó hatását) - legalábbis részben - dynorphin-felszabaduláson keresztül fejtik ki, mivel  $\kappa$ -receptor antagonistá norbinaltorphiminnel (NorBNI) illetve dynorphin A(1-17) elleni antiszérummal történő előkezelést követően ezek szignifikánsan csökkentek (Kamei és mtsai 2003, Mizoguchi és mtsai 2006, Narita és mtsai 2001, Ohsawa és mtsai 2001a, Tseng és mtsai 2000). Ezenfelül Ohsawa és mtsai (2000) kimutatták, hogy  $\delta_2$ -antagonista naltribennel illetve [Met<sup>5</sup>]enkephalin elleni antiszérummal történő előkezelést követően csökkent a centrálisan adott endomorfín-2 analgetikus hatása, ami arra utal, hogy az endomorfín-2 nemcsak dynorphint képes felszabadítani, de enkephalint is. Ezen hatását (nevezetesen [Met<sup>5</sup>]enkephalin-felszabadulás indukálást) később ki is mutatták patkány gerincvelőben (Ohsawa és mtsai 2001b). Ezért terveim között szerepel az endomorfínok hatásának vizsgálata  $\delta$ - és  $\kappa$ -szelektív antagonistákkal történő előkezelést követően.

#### **4.1.2. Az endogén endomorfín rendszer szerepe a mukozális védelemben**

Nemcsak az exogén, i.c.v. injektált endomorfínok produkálnak gyomorvédő hatást: a diprotin A-val végzett kísérletek az endogén endomorfín rendszer protektív hatására utalnak. Ez a vegyület az endomorfínok lebontásáért felelős enzim, a dipeptidyl peptidase IV (DPP IV) inhibitora. Hatására dóziszfüggően, naloxon-reverzibilis módon csökkent az alkoholos léziók száma és súlyossága, ami arra utal, hogy a diprotin A védőhatását az endogén endomorfínok szintjének emelésén keresztül fejtette ki. Érdekes azonban megfigyelni, hogy hatását viszonylag nagyobb dózisokban,  $\mu\text{mol}$ -os tartományban fejté ki (az  $\text{ED}_{50}$  értéke  $0.9 \mu\text{mol}$ ). A diprotin A csekély hatékonyságának és hatáserősségének esetleg az lehet a magyarázata, hogy - az irodalmi adatok alapján - az endomorfín-1 szintjét és hatását csak minimálisan befolyásolja (ennek okául az endomorfín-1 lebontó enzimekkel szembeni nagyobb ellenállását feltételezik) (Fujita és Kumamoto 2006), és csupán az endomorfín-2 hatását képes fokozni. Így például megfigyelték, hogy diprotin A hatására nem változott az endomorfín-1 analgetikus hatásának erőssége és időtartama, ezzel szemben az endomorfín-2 degradációját gátolta és analgetikus hatását fokozta (Ronai és mtsai 1999, Sakurada és mtsai 2003). A diprotin A ugyancsak képtelen volt az endomorfín-1 striatalis dopamin-felszabadulást fokozó hatását potencírozni, míg az endomorfín-2 hatását fokozta (Bagosi és mtsai 2006).

Ráadásul Sakurada és mtsai (2003) az endomorfín-2 degradációját egér agyi membránon reverz fázis HPLC-vel vizsgálva azt találták, hogy a diprotin A csak 50%-ban gátolta az endomorfín-2 lebomlását. Mindezek alapján feltételezhetjük, hogy diprotin A adására in vivo csupán az endogén endomorfín-2 szintje emelkedik jelentősen és ezért szükségesek nagyobb dózisok egy adott protektív hatás eléréséhez.

Az eddigi eredményekből tehát levonhatjuk a következtetést, miszerint az endomorfínok a mukozális rezisztencia fokozása révén gasztroprotektívek. A továbbiakban az endomorfínok gasztroprotektív hatásában szerepet játszó faktorokat vizsgáltam. Amint azt az eredményeknél említettem, ezeket a kísérleteket csak az endomorfín-2-vel végeztem el, feltételezve, hogy a két peptid hatását a periférián ugyanazon faktorok mediálják.

### **4.1.3. Az endomorfinek gasztroprotektív hatását mediáló faktorok**

Az első kérdés az volt, hogy a centrálisan injektált endomorfinek hatása hogyan jut el a perifériára. A bevezetőben már említettem, hogy a KIR és a gyomor közötti egyik (és talán legfontosabb) összeköttést a n. vágusz jelenti. Nem csupán a gasztrointesztinális rendszer motoros és szekréción működését szabályozza, de a mukozális integritás szempontjából is esszenciális szerepet játszik. A vágális efferensek aktivációja egyrészt ulcerogén hatású a hisztamin-felszabadulás, a fokozott savszekréció valamint gyorsult motilitás következtében - ez képezi alapját a peptikus fekélyek sebészi kezelését jelentő vagotómiának. Másrészt azonban a mukozális védelem kialakításában is szerepet játszik, hiszen számos centrálisan injektált vegyület (adrenomedullin, PYY, amylin,  $\alpha$ -CGRP, opioidok, leptin, CCK-8) gasztroprotektív hatása megszűnt vagotómiát követően (Gyires 2005, Brzozowski és mtsai 2001). Kimutatták, hogy a vágusz stimulációja hatására fokozódott patkány gyomorban a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  felszabadulása (Singh 1980), míg vagotómiát követően megszűnt a prosztaglandinok által mediált adaptív citoprotekció (Henagan és mtsai 1984) és szignifikánsan csökkent a  $\text{PGI}_2$  védőhatása (Mozsik és mtsai 1982). Ugyancsak megfigyelték, hogy a 100%-os alkohol által okozott nyálkahártyakárosodás súlyosabb volt a vagotomizált állatokban, mint a kontroll csoportban (Henagan és mtsai 1984). A PG-ok mellett a NO-felszabadulás (Tanaka és mtsai 1993) és a capsaicin-szenzitív afferensekből történő CGRP felszabadulás (Kato és mtsai 1994) is szerepet játszik a vágusz-függő védelemben. Azt, hogy a két hatás közül melyik fog dominálni, a protektív vagy az ulcerogén, a vágusz efferensek aktivációjának mértéke határozza meg - egy enyhébb stimuláció (pl. kis dózisu TRH-analóggal) gátolja a mukozális léziók kialakulását, míg egy nagyobb aktivitás fokozódás ulcerogén hatású (Tache és Yoneda 1993).

Kísérleteim során azt találtam, hogy sem a muszkarinos Ach-receptorok gátlása atropinnal, sem a ganglionok bénítása hexamethoniummal nem befolyásolta az endomorfinek-2 protektív hatását, ami arra utal, hogy a posztganglionaris kolinerg rostok nem vesznek részt az endomorfinek által indukált centrális gasztroprotektióban. Ugyanakkor ezek a kísérletek a vágusz esetleges szerepét nem zárják ki, hiszen olyan preganglionaris NO-szintáz tartalmazó neuronok is ismertek, melyek szelektíven a gyomor fundusához projiciálnak és az általuk kiváltott relaxáció hexamethoniummal

nem gátolható (Krowicki és mtsai 1999). Így elképzelhető, hogy az endomorfínok a DVC-ben ezeket a preganglionáris rostokat aktiválják, amelynek a periférián fokozott NO-felszabadulás lesz a következménye. A NO pedig tágítja az arteriolákat, ezáltal fokozza a GMBF-t (Holzer és mtsai 1993) és stimulálja a mucus szekréciót (Brown és mtsai 1993), ezáltal végeredményben a mukozális rezisztenciát fokozza. A NO szerepét támasztja alá, hogy kísérleteimben az endomorfín-2 hatását a nitrogén monoxid szintáz (NOS) inhibitor N<sup>G</sup>-nitro-L-arginin (L-NNA) felfüggesztette.

Természetesen az sem kizárt, hogy az endomorfínok hatásának a mediálásában a vágusz nem játszik szerepet, mely ugyan ritka, de előforduló jelenség. Hasonló figyelhető meg például a ghrelin esetében is, melynek centrálisan indukált hatását vagotómia nem függesztette fel, capsaicinnal történő előkezelés azonban igen, ami a spinális extrinsic afferensek szerepére utal (Sibilia és mtsai 2003). A vágusz esetleges szerepének tisztázásához a közeljövőben cervikális és szubdiafragmatikus vagotómiát fogok alkalmazni az endomorfínok centrális beadása előtt.

Felmerült a kérdés, hogy milyen egyéb faktorok mediálhatják még az endomorfínok hatását? Az egyik lehetőséget az előbb említett spinális extrinsic afferensek jelentik, melyek rostjai körülfogják a mucosális arteriolákat. Az afferensekből felszabaduló CGRP részben közvetlenül, részben az endothel-sejtekből felszabaduló NO-n keresztül közvetve tágítja az arteriolákat és fokozza a GMBF-t (Holzer és mtsai 1993), továbbá csökkenti a savszekréciót (Evangelista és mtsai 1992). Mivel az endomorfín-2 hatását a CGRP<sub>1</sub>-receptor antagonistá CGRP<sub>8-37</sub> ugyancsak felfüggesztette, a capsaicin szenzitív afferensekből történő CGRP-felszabadulás nagy valószínűséggel szintén szerepet játszik az endomorfínok által indukált gasztroprotekción. Bár az irodalomban egyelőre nincs adat arra vonatkozóan, hogy az endomorfínok CGRP-felszabadulást indukálnának, azt azonban leírták, hogy az endomorfín-2 CGRP-vel ko-lokalizált a gerincvelő hátsószarvi primer afferensekben (Pierce és mtsai 1998) továbbá a NTS-ban (Greenwell és mtsai 2007).

A CGRP és a NO mellett igen fontos szerepet játszanak a mukozális integritás kialakításában a PG-ok is (Whittle és mtsai 1990). Ahogy a bevezetőben említettem, számos ponton fokozzák a mukozális rezisztenciát, így például stimulálják a bikarbonát és mucus szekréciót, a mukozális vérátáramlást és a gyógyulási folyamatokat (Laine és

mtsai 2008). A kísérleteim arra utalnak, hogy az endomorfínok által indukált védelemben a PG-ok is szerepet játszanak, ugyanis a szintézisükért felelős COX gátlása indometacinnal szignifikánsan csökkentette az endomorfín-2 védőhatását. Érdeemes azonban megfigyelni, hogy a védőhatás nem szűnt meg teljesen, ami arra utal, hogy a PG-ok szerepe az endomorfínok esetében másodlagos és a védelem legfontosabb komponense a CGRP - NO vonal.

A centrálisan indukált gasztroprotekciónál mediálásában a vágusz és a spinális extrinszc afferensek mellett harmadik lehetőségként felvetődik a szimpatikus idegrendszer szerepe is. Érdekes módon ez utóbbiról jóval kevesebb irodalmi adat áll rendelkezésünkre, mint a vágusz szerepéről a mukozális védelemben.

Kimutatták, hogy szimpatektómiát követően súlyosbodott az alkoholos károsodás mértéke valamint megszűnt az adaptív citoprotekción, ugyanakkor  $\beta$ -adrenoceptor agonistákkal a szimpatektómia hatását ki lehetett védeni (Foschi és mtsai 1989). Szintén ismert, hogy az isoproterenol védőhatást fejt ki alkoholos fekély-modellen, melynek hátterében a  $\beta$ -adrenoceptorok aktiválódását követő NO és CGRP felszabadulás, végső soron pedig a GMBF növekedése áll. Ezt a védőhatást a  $\beta$ -adrenoceptorokat blokkoló propranolollal történő előkezelés felfüggesztette (Brzozowski és mtsai 1997b). A  $\beta_2$ -adrenoceptorok szerepére utal, hogy isoprenalin és salbutamol védett stressz-fekélyben, hatásukat azonban a  $\beta_1$ -adrenoceptor szelektív atenolol nem gátolta meg, csak a nem szelektív antagonistá propranolol. Emellett salbutamol hatására emelkedett a GMBF és fokozódott a krónikus fekély gyógyulása (Esplugues és mtsai 1982).

Az eddig elhangzottakból következik, hogy egy szimpatikus aktiváció főleg protektív hatást eredményez, egyrészt a  $\beta$ -adrenoceptorok (még hozzá  $\beta_2$ -szubtípus) által mediált GMBF fokozódása révén, másrészt - ahogy a bevezetőben említettem - az  $\alpha_2$ -adrenoceptorok stimulációja és a következményes Ach-felszabadulás gátlása révén. Jelen esetben azonban nem valószínű, hogy a centrálisan injektált endomorfín-2 hatását a szimpatikus idegrendszer mediálná, ugyanis (1) a szimpatikus idegrendszer ganglionjait is blokkoló hexamethonium nem csökkentette az endomorfín-2 hatását, illetve (2) propranolol előkezelés sem befolyásolta azt. Meg kell azonban említeni, hogy a szimpatikus ganglionok esetében is ismert a nem-nikotinos ingerületáttevődés (Janig 2005), továbbá az esetlegesen felszabaduló katekolaminok hatásukat egyéb, nem  $\beta$ -

adrenoceptorokon keresztül is kifejthetik (ld.  $\alpha_2$ -adrenoceptorok), így a szimpatikus idegrendszer szerepét sem lehet teljesen kizárni.

Összefoglalva az eddigieket, eredményeim arra utalnak, hogy az endomorfinek i.c.v. adagolását követő gyomorvédelmet a periférián CGRP-, NO- és kisebb részben PG-felszabadulás mediálja, ugyanakkor a ganglionáris nikotinos Ach-receptorok, illetve a muszkarinos Ach-receptorok és  $\beta$ -adrenoceptorok ebben a védelemben nem játszanak szerepet.

## **4.2. A nociceptin és nocistatin**

### **4.2.1. A N/OFQ és NST gasztroprotektív hatása**

A kísérleteim második csoportjában a N/OFQ és NST gasztroprotektív hatását vizsgáltam alkoholos fekély-modellen. Bár ezen két peptid közös prekursorból származik és felfedezésük között csupán három év telt el, a NST-ről sokkal kevesebbet tudunk, mint a N/OFQ-ról. Ennek vélhetőleg az az oka, hogy a NST-t a felfedezése óta többnyire a N/OFQ funkcionális antagonistájaként vizsgálták és csak pár közlemény foglalkozik a NST-által indukált, N/OFQ-tól független saját hatásokkal (mint például a GABAerg és glicinerg neurotranszmisszió gátlása a gerincvelő hátsószarvában vagy a  $K^+$ -indukálta  $[^3H]5$ -HT felszabadulás gátlása egér és patkány kortikális szinaptoszómákból) (Zeilhofer és mtsai 2000, Fantin és mtsai 2007).

Ezért aztán nem is meglepő, hogy a N/OFQ-nak számos gasztrointesztinális hatása ismert, úgymint a gyomorürülést és gasztrointesztinális tranzitot gátló hatása (Broccardo és mtsai 2004, Broccardo és mtsai 2007, Osinski és mtsai 1999a), gasztroprotektív (Grandi és mtsai 2007, Morini és mtsai 2005) illetve savszekréciót befolyásoló hatása (Broccardo és mtsai 2004, Ishihara és mtsai 2002), ellenben a NST-nal kapcsolatosan szinte semmilyen gasztrointesztinális adat nem áll rendelkezésünkre. Felmerült tehát a kérdés, hogy a NST is rendelkezik-e gasztroprotektív hatással, a N/OFQ-hoz hasonlóan. Akárcsak az endomorfinek esetében, ezen kísérleteket is alkoholos fekély-modellen végeztem.

Az eredmények arra utalnak, hogy a NST - akárcsak a N/OFQ - gasztroprotektív hatású centrális adagolás során. A két peptid hatékonysága és hatáserőssége közel azonos, i.c.v.

adagolás során 75%-os és 74%-os maximális gátlást, illetve 0.36 és 0.32 nmol-os ED<sub>50</sub> értékeket kaptam a N/OFQ és NST esetében, megfelelően. Előzetes eredményeim arra utalnak, hogy - akárcsak az endomorfinek - a N/OFQ és NST is véd i.c. adagolást követően (a N/OFQ 66%-os, a NST pedig 51%-os gátlást okozott 0.6 nmol-os dózisban), ami arra enged következtetni, hogy hatásukat mind a hypothalamusban, mind a DVC-ben kifejtik. A hatás pontos helyét azonban nehéz meghatározni, hiszen egyrészt ez a két agyterület szoros reciprok összeköttetésben áll egymással (Swanson és Kuypers 1980), másrészt mindkét terület bőségesen tartalmazza a N/OFQ receptorát és a N/OFQ illetve NST prekursorát (Neal, Jr. és mtsai 1999b, Neal, Jr. és mtsai 1999a).

Mindkét peptid esetében harang alakú dózis-hatás görbét kaptam, 2 és 5 nmol-os dózisban a protektív hatásuk jelentősen lecsökkent. Hasonló hatáscsökkenést más munkacsoportok is leírtak, így például a N/OFQ által indukált allodynia (Okuda-Ashitaka és mtsai 1998) vagy a N/OFQ neuronális NOS-t aktiváló hatása (Xu és mtsai 2007) szintén csökkent nagyobb dózisok alkalmazása során. Ugyancsak harang alakú dózis-hatás görbét kapott (Fantin és mtsai 2007) és munkacsoportja, akik a N/OFQ és NST gátló hatását vizsgálták a K<sup>+</sup>-indukálta [<sup>3</sup>H]5-HT felszabadulásra egér és patkány kortikális szinaptoszómákból. Ezenfelül a NST morfin-toleranciát visszafordító hatása (Sun és mtsai 2001) illetve a NST gátló hatása a N/OFQ morfint antagonizáló hatására (Zhao és mtsai 1999) is hasonló dózis-hatás összefüggést mutatott.

Ugyanakkor viszont az eredményeim némileg eltérnek a Morini és mtsai (2005) által kapott eredményektől, akik 2 nmol-os dózisban is hatékonynak találták a N/OFQ-t. Ők szintén alkoholos fekély-modellen dolgoztak, azonban kisebb metodikai eltérésekkel (így például nem 98%-os savas alkoholt alkalmaztak, hanem 25 illetve 50%-osat és a N/OFQ i.c.v. adása 30 perccel az alkohol beadását megelőzően történt, nem pedig 10 perccel). Így elképzelhető, hogy ezeknek a különbségeknek köszönhetőek az eltérő eredmények.

A harang alakú görbét (akárcsak az endomorfinek esetében) nehéz megmagyarázni. Itt is szerepet játszhat a csökkent gyomorürülés, hiszen Broccardo és mtsai (2004) kimutatták, hogy 0.1 - 10 nmol-os tartományban a N/OFQ i.c.v. beadva szignifikánsan lassítja a fenol-vörös gyomorból történő ürülését. Elképzelhető, hogy nagyobb dózisoknál a N/OFQ protektív hatását már ellensúlyozza a nyálkahártyát károsító



alkohol lassúbb ürülése. Ugyanakkor itt sem kizárt, hogy nagyobb dózisokban egyéb endogén rendszerek aktiválódnak, melyek csökkentik a N/OFQ és NST védőhatását.

A N/OFQ gasztroprotektív hatását saját receptora, a NOP receptor mediálja, ugyanis a szelektív kompetitív NOP receptor antagonistá J-113397 (Ozaki és mtsai 2000) ezen hatást felfüggesztette. Mivel a N/OFQ és NST protektív hatása majdnem teljesen megegyezik, felmerült a kérdés, hogy a NST nem a N/OFQ-rendszeren keresztül hat-e. Az egyik lehetőség, hogy a NST a NOP receptort aktiválná, bár Okuda-Ashitaka és munkatársainak (1998) eredményei alapján a NST saját (mindeztidáig ismeretlen) receptorán keresztül hat, a NOP receptorhoz pedig nem kötődik. Egy másik lehetőség, hogy a NST hatására N/OFQ szabadul fel, ami aztán a saját receptorán keresztül védőhatást indukálna. Az irodalmi adatok azonban arra utalnak, hogy a NST a N/OFQ-rendszertől függetlenül hat. Például a NST NOP receptor-kiütött egerekben is gátolta a gerincvelői gátló (glicinerg és GABAerg) szinaptikus transzmissziót (Ahmadi és mtsai 2001) és a NST által indukált nociceptív flexor választ a J-113397 nem befolyásolta (Inoue és mtsai 2003).

Saját kísérleteim is azt támasztják alá, hogy a NST a N/OFQ-tól függetlenül hat, ugyanis a NST védőhatását a J-113397-tel történő előkezelés nem befolyásolta. Ez alapján kizárható, hogy a NST esetleg N/OFQ felszabadulást indukálna és ezáltal indirekt módon fejtené ki centrális gasztroprotektív hatást.

Érdemes megfigyelni, hogy a J-113397 önmagában is csökkentette az alkoholos léziók súlyosságát és enyhe, de szignifikáns (közel 30%-os) védőhatást produkált. Ez azt jelenti, hogy jelen kísérleti modellben nem tiszta antagonistaként, hanem parciális agonistaként viselkedett. Hasonló jelenséget mások is megfigyeltek: Chin és mtsai (2002) a N/OFQ gátló hatását vizsgálták a Broca-féle diagonális köteg neuronjaira és azt találták, hogy bár a N/OFQ hatását J-113397 előkezelés felfüggesztette, az utóbbi vegyület önmagában is gátló hatást fejtett ki. Ugyancsak parciális agonistaként viselkedett Ishihara és munkatársainak (2002) kísérleteiben, ahol a N/OFQ-hoz hasonlóan stimulálta a savszekréciót centrális adagolást követően, ugyanakkor a N/OFQ hatását csökkentette.

#### **4.2.2. A N/OFQ és NST közötti interakció**

Ahogy korábban említettem, a NST legtöbbször a N/OFQ funkcionális antagonistájaként került alkalmazásra. Így például gátolta a N/OFQ-indukálta hyperalgéziát és allodyniát (Okuda-Ashitaka és mtsai 1998, Scoto és mtsai 2005) vagy a N/OFQ által stimulált táplálékfelvételt (Olszewski és mtsai 2000). Olyan esetek is ismertek azonban, amikor a NST nem befolyásolta a N/OFQ hatását (Habler és mtsai 1999, Ishihara és mtsai 2002, Shirasaka és mtsai 1999), vagy éppen potencírozta azt (Xu és mtsai 1999). Ezért aztán megvizsgáltam, hogy jelen kísérleti modellben hogyan viszonyul egymáshoz ez a két peptid és az alkalmazott dózisoktól függően két különböző típusú interakciót találtam.

Az első kísérletben a peptideket alacsonyabb dózisban alkalmaztam. 0.2 nmol-os NST-előkezelést követően (mely önmagában körülbelül 40%-os gátlást fejt ki az alkoholos károsodással szemben) a N/OFQ-t 0.6 nmol-os dózisban injektáltam (ez magában 60%-os védőhatást produkál), és a kombináció 82%-os gátlást fejtett ki, vagyis additív hatás volt tapasztalható. Ezzel szemben amikor nagyobb dózisokat kombináltam (a NST-ből 1 nmol-t, a N/OFQ-ból 0.6 és 1 nmol-t adtam, melyek önmagukban közel 80%-os hatást fejtettek ki), a NST-előkezelés jelentősen csökkentette a N/OFQ hatását (44 és 22%-ra). Ezen gátló hatás feltérképezése további kísérleteket igényel. Ha a két peptid egyike parciális agonista lenne, azzal magyarázhatnánk a külön-külön megfigyelhető gasztroprotektív hatást és a kombináció során tapasztalt hatáscsökkenést, azonban - amint azt már korábban említettem - a N/OFQ és NST különböző receptorokon hatnak. Másik magyarázatul esetleg a peptidek harang alakú dózis-hatás görbéje szolgálhat. Mivel a két peptid nagyobb dózisok alkalmazása során csökkent védőhatást produkál, centrális gasztroprotektív hatásukat pedig ugyanazon faktorok mediálják (ld. később), elképzelhető, hogy a kombináció során elérjük a dózis-hatás görbe leszálló szárát és ez eredményezi a hatáscsökkenést.

Összességében, bár a két peptid közötti interakció pontos jellege feltérképezetlen, az eredményekből látszik, hogy többről van szó, mint egyszerű funkcionális antagonizmusról.

### **4.2.3. Az opioid rendszer szerepe a N/OFQ és NST által indukált centrális gyomorvédelemben**

Ahogy a bevezetőben már volt róla szó, a N/OFQ és az opioid rendszer közötti kapcsolat meglehetősen komplex. Egyes N/OFQ által indukált hatások megegyeznek az opioidok hatásaival, így például a kardiovaszkuláris hatásai (Giuliani és mtsai 1997), az anxiolitikus (Gavioli és mtsai 2008, Jenck és mtsai 1997) illetve táplálékfelvételt fokozó hatása (Pomonis és mtsai 1996), vagy éppen az analgetikus hatása spinális adagolást követően (Tian és mtsai 1997a, Xu és mtsai 1996). Ráadásul ezek egy részét naloxonnal történő előkezelés szignifikánsan csökkentette (Jhamandas és mtsai 1998, Pomonis és mtsai 1996), annak ellenére, hogy a N/OFQ nem (vagy csak minimálisan) kötődik az opioid receptorokhoz (Meunier 1997). Más hatásai ugyanakkor éppen az opioidok hatásaival ellentétesek, így az elsőként leírt hyperalgéziás hatása is szupraspinális adagolás során (Meunier és mtsai 1995, Reinscheid és mtsai 1995). Ez utóbbi szolgált alapjául a későbbi hipotézisnek, mely szerint a N/OFQ egy „anti-opioid peptid” (Mogil és mtsai 1996a). Ezt utólag számos közlemény igazolta, hiszen a N/OFQ szupraspinálisan adva egyaránt csökkentette számos opioid-receptor agonista, így pl. a morfin- (Grisel és mtsai 1996, Mogil és mtsai 1996a, Tian és mtsai 1997a), endomorfín-1- (Wang és mtsai 1999), DAMGO-, DPDPE-, deltorphin II- és U50,488H analgetikus hatását (King és mtsai 1998, Mogil és mtsai 1996b, Scoto és mtsai 2005). Mivel azonban a N/OFQ nem kötődik (vagy csak kis affinitással) az opioid-receptorokhoz, feltehetően funkcionális antagonizmusról van szó. Ennek egyik lehetséges módját Morgan és mtsai (1997) írták le, akik szintén azt találták, hogy a ventrális PAG-ba injektált N/OFQ felfüggeszti a morfin-indukálta analgéziát. Arra következtettek, hogy a N/OFQ hyperalgéziás hatásáért a PAG-ból kimenő neuronok gátlása a felelős, míg az opioidok ezen neuronokat dizinhibíció révén éppenhogy aktiválják.

Mivel kísérleteim során mind a N/OFQ, mind a NST opioid-szerű, nevezetesen gastroprotektív hatást fejtett ki, felmerült a kérdés, hogy hatásukat nem az endogén opioid rendszer mediálja-e.

Amint az eredményekből látható, mindkét peptid hatását felfüggesztette vagy szignifikánsan csökkentette a nem szelektív opioid antagonistá naloxonnal, a  $\mu$ -opioid

receptor antagonist  $\beta$ -FNA-val, a  $\delta$ -opioid receptor antagonist naltrindollal és a  $\kappa$ -opioid receptor antagonist norBNI-nal történő előkezelés, ami a centrális  $\mu$ -,  $\delta$ - és  $\kappa$ -opioid receptorok szerepét bizonyítja a N/OFQ- és NST-indukálta gyomorvédelemben. Ennek háttérében több mechanizmus is lehetséges. Az egyik, kevésbé valószínű lehetőség, hogy a N/OFQ és NST direkt aktiválnák ezen opioid receptorokat. Gintzler és mtsai (1997) szerint ugyanis a N/OFQ, ellentétben a kezdeti megfigyelésekkel, alacsony/közepes affinitással képes a  $\mu$ - és  $\kappa$ -opioid receptorokhoz kötődni. Elképzelhető, hogy egy minimális receptorális aktiváció már elegendő ahhoz, hogy gasztroprotektívot indukáljon, különösen ha figyelembe vesszük, hogy az opioidok esetében a gasztroprotektív dózis jóval az analgetikus dózis alatt található (Gyires és Ronai 2001). A másik lehetőség, hogy a N/OFQ és NST hatására endogén opioidok szabadulnak fel. A N/OFQ hatására bekövetkező opioid felszabadulásra az irodalomban találhatunk példát: tengeri malac plexus myentericusából kisebb koncentrációkban gátolta, nagyobb koncentrációkban azonban fokozta a  $[Met^5]$ enkephalin felszabadulást (Gintzler és mtsai 1997). Ráadásul a N/OFQ prekursorának centrális eloszlása nagyjából megfelel a proenkephalin eloszlásának (Boom és mtsai 1999), ami alapján egy esetleges interakciót feltételezhetünk ezen két peptid között.

Az irodalmi adatok arra utalnak, hogy a centrálisan injektált N/OFQ savszekréciót csökkentő hatásában is szerepet játszanak az opioidok, mivel naloxon előkezelést követően a N/OFQ ezen hatása megszűnt (Broccardo és mtsai 2004). Ugyanakkor a N/OFQ gyomorürülést és gasztrointesztinális tranzitot csökkentő hatása opioid-antagonistákkal történő előkezelés hatására nem változott, vagyis ezen hatások valószínűleg az endogén opioid rendszertől függetlenek (Broccardo és mtsai 2004, Osinski és mtsai 1999a).

#### **4.2.4. A N/OFQ és NST gasztroprotektív hatását mediáló faktorok**

Akárcsak az endomorfinek esetében, a N/OFQ és NST centrális hatásának a mediálásában is elsőként a vágusz szerepe vetődik fel. Polidori és mtsai (2005) kimutatták, hogy szubdiafragmatikus vagotómia hatására a centrálisan injektált N/OFQ gasztroprotektív hatása felfüggesztődött. A kísérleteim alátámasztják ezen eredményt,

emellett pedig bizonyítják, hogy nemcsak a N/OFQ, de a NST hatását is a vágusz mediálja, ugyanis cervikális vagotómia után az utóbbi peptid védőhatása is megszűnt.

Az előzőekben leírtam, hogy a N/OFQ és NST hatásának mediálásában az opioid rendszer szerepet játszik. Mivel preproN/OFQ mRNS és NOP receptor (Boom és mtsai 1999, Darland és mtsai 1998, Neal, Jr. és mtsai 1999a) egyaránt található a DVC-ben, akárcsak  $\beta$ -endorfin (Palkovits és Eskay 1987), dynorphin tartalmú rostok (Fodor és mtsai 1994), valamint  $\mu$ -,  $\delta$ - és  $\kappa$ -opioid receptorok (Carter és Lightman 1985, Mansour és mtsai 1995, Snyder 1982), a feltételek adottak ahhoz, hogy ezen peptidek a DVC-ben egymással együttműködve befolyásolják a vagális efferensek működését és ezáltal a gyomornyálkahártya integritását.

Felmerült a kérdés, hogy a perifériás protektív faktorok közül melyek vesznek részt a N/OFQ- illetve NST-indukálta védelemben? A kísérleteim arra utalnak, hogy mind a NO (és az általa kiváltott GMBF fokozódás), mind a PG-ok szerepet játszanak a centrális hatás mediálásában, hiszen L-NNA és indometacin adását követően a N/OFQ és NST hatása szignifikánsan csökkent. A jövőbeli terveim között szerepel a capsaicin szenzitív extrinsic afferensek és a CGRP szerepének vizsgálata; bár ezek fontossága a N/OFQ által okozott védelemben már igazolást nyert (Polidori és mtsai 2005), a NST esetében még nem került kivizsgálásra.

Összefoglalva, a N/OFQ-hez hasonlóan a NST is vágusz-függő, centrális gasztroprotekciónak indukál, méghozzá gyakorlatilag megegyező hatékonysággal és hatáserősséggel. Hatását saját receptorán keresztül fejti ki, függetlenül a NOP receptortól. Az irodalomból ismert funkcionális antagonizmus a NST és N/OFQ között kísérleteimben is jelentkezett, de csak nagyobb dózisok együttes alkalmazása esetén. Ezzel szemben kisebb dózisoknál additív hatás volt megfigyelhető. A hatásuk mediálásában mind a NO, mind a PG-ok szerepet játszanak.

### **4.3. Az $\alpha_2$ - és imidazolin receptorok**

Doktori munkám második nagy témaköre az  $\alpha_2$ -adrenoceptorok és imidazolin-receptorok szerepével foglalkozik a gasztrointesztinális rendszer motoros aktivitásának szabályozására.

#### **4.3.1. A clonidin és oxymetazolin gyomormotilitást gátló hatásának összehasonlítása**

A bevezetőben utaltam rá, hogy az  $\alpha_2$ -adrenoceptorok nem egységes receptor populációt képeznek és mára három szubtypust sikerült elkülöníteni, nevezetesen az  $\alpha_{2A}$ -,  $\alpha_{2B}$ -és  $\alpha_{2C}$ -szubtypusokat (Bylund és mtsai 1994, Calzada és De Artinano 2001). A motilitást gátló hatásért (és így a gyomor akkomodációjának javításáért) az irodalmi adatok alapján az  $\alpha_{2A}$ -szubtypus tehető felelőssé (Colucci és mtsai 1998, Fulop és mtsai 2005), melynek az agonistái ezáltal különböző motilitás-zavarok kezelésére (mint pl. funkcionális dyspepsia, idiopátiás gastroparesis) lehetnek alkalmasak (Tack és mtsai 2004, Thumshirn és mtsai 1999). Az  $\alpha_2$ -adrenoceptor szubtypusok szerepének vizsgálatát azonban nehezíti, hogy meglehetősen kevés nagy szelektivitású szubtypus agonista és antagonistá áll rendelkezésünkre. Az  $\alpha_{2A}$ -agonista oxymetazolint kiterjedten alkalmazzák szubtypus analízisre, motilitást gátló hatását azonban az  $\alpha_2$ -antagonista yohimbin csak részben volt képes felfüggeszteni (Fulop és mtsai 2005). Ezért aztán felmerült a kérdés, hogy az oxymetazolin valóban csupán a preszinaptikus  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptorok aktivációján keresztül fejti ki hatását, vagy egyéb mechanizmusok is szerepet játszanak a motilitást gátló hatásában? A kísérletek során az oxymetazolin hatását a nem szelektív  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonista clonidinével hasonlítottam össze perifériás (i.v.) adagolás során.

Először a két vegyület bazális gyomormotilitásra gyakorolt hatását vizsgáltam, ahol rögtön különbség mutatkozott a clonidin és oxymetazolin között. Előbbi ugyanis nem befolyásolta a kontrakciókat (melyek az antrum motoros aktivitásával korrelálnak) és a gyomor tónusát is csak minimálisan csökkentette (mely a fundus tevékenységéről nyújt

felvilágosítást), míg az oxymetazolin hatására a mért paraméterek mindegyike szignifikánsan csökkent.

Az, hogy a clonidin nem befolyásolta a bazális motilitást, az irodalmi adatok tükrében egyáltalán nem meglepő. Ahogy a bevezetőben említettem, számos egymásnak - látszólag - ellentmondó közlemény látott napvilágot az  $\alpha_2$ -agonisták gasztrointesztinális motilitásra és gyomorürülésre gyakorolt hatásával kapcsolatban, hiszen mind gátló jellegű hatásokat (Cooper és McRitchie 1985, Fulop és mtsai 2005, Gregersen és mtsai 1989), mind hatástalanságot (Asai és mtsai 1997b, Baxter és mtsai 1987, Seiler és mtsai 2005) leírtak. Ennek az lehet a magyarázata, hogy mivel az  $\alpha_2$ -agonisták hatásukat a preszinaptikus Ach-felszabadulás gátlásán keresztül fejtik ki, a motilitást csökkentő hatásukat nagymértékben meghatározza a vágusz-efferensek aktivitása. Csökkent aktivitás esetén az  $\alpha_2$ -receptor agonisták hatása is mérsékelt, míg egy fokozott vágusz-aktivitás és Ach-felszabadulás esetén jelentős gátló hatást képesek kifejteni. Amíg azonban a clonidin csak minimális gátló hatást fejtett ki, az oxymetazolin már a bazális motilitást is szignifikánsan és tartósan gátolta - a tónus közel 20%-al, az amplitúdók nagysága pedig 42%-al csökkent.

A továbbiakban a két vegyület hatását a stimulált gyomormotilitásra vizsgáltam, a stimulációt pedig egyrészt inzulinnal, másrészt carbachollal végeztem. Ezen két vegyület egymástól teljesen eltérő mechanizmussal fokozza a gasztrointesztinális rendszer motoros aktivitását: előbbi centrális mechanizmussal, ugyanis az általa létrehozott hypoglikémia hatására csökken a NTS GABAerg gátló hatása a DMV neuronjaira és ezáltal a vágusz efferensek aktivitása fokozódik (Ferreira, Jr. és mtsai 2001), míg utóbbi (paraszimpatomimetikus hatása révén) közvetlenül a gyomor simaizmain lévő mACh-receptorokat aktiválja, vagyis perifériás hatásmechanizmussal rendelkezik.

Amint az eredmények mutatják, mind a clonidin, mind az oxymetazolin felfüggesztette az inzulin motilitást stimuláló hatását: intravénás beadásukat követően másodperceken belül a bazális értékre, vagy az alá csökkent a gyomor motoros aktivitása. A clonidin hatását a nem szelektív  $\alpha_2$ -adrenoceptor antagonistá yohimbin teljes mértékben gátolta, az oxymetazolin hatását azonban alig befolyásolta (a kontrakciók amplitúdója enyhén emelkedett, az intragasztrikus nyomás azonban alacsony maradt). Ez összhangban van Fülöp és mtsai (2005) megfigyelésével, ahol a yohimbin ugyancsak nem befolyásolta az

oxymetazolin 2-deoxy-D-glükóz által stimulált motilitásra kifejtett hatását. (Ez utóbbi az inzulinhoz hasonlóan centrális támadásponttal, a vágusz aktivitásának fokozásával stimulálja a gasztrointesztinális motilitást, de fontos különbség a két metodika között, hogy az inzulin hypoglikémiát indukál, a 2- deoxy-D-glükóz azonban a sejtekben gátolja a glükóz metabolizmusát, ezáltal funkcionális cytoglukopéniát okoz (Horton és mtsai 1973).

A clonidin hatását a szelektív  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor antagonistá BRL 44408 is gátolta, ami arra utal, hogy a motilitás gátlása preszinaptikus  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor aktivációján keresztül történik. Ezt a hatásmechanizmust támasztják alá az irodalmi adatok is (Colucci és mtsai 1998, Fulop és mtsai 2005, Liu és Coupar 1997a). Ugyanakkor viszont az oxymetazolin hatását - a yohimbinhez hasonlóan - a BRL 44408 sem volt képes antagonizálni, amiből arra következtethetünk, hogy az oxymetazolin hatásában egyéb mechanizmusok is szerepet játszanak.

Ezen mechanizmusok további vizsgálatához a motilitás stimulációját carbachollal végeztem. Ahogy korábban említettem, a carbachol egy direkt paraszimpatomimetikum, mely a gyomor simaizmainak muskarinos Ach receptorait aktiválja. Emellett azonban nikotinos receptorokat izgató hatása is van, ezért ezeket a receptorokat a ganglion-blokkoló hexamethoniummal gátoltam. (Természetesen a hexamethonium nemcsak a carbachol nikotinos hatásait védte ki kísérleteimben, de a preganglionáris kolinerg neuronok által közvetített esetleges központi idegrendszeri hatásokat is.) Ahogy azt várni lehetett, clonidin hatására nem csökkent a carbachol + hexamethonium által stimulált motilitás, ami ismételten amellet szól, hogy kizárólag preszinaptikus  $\alpha_2$ -adrenoceptorokat aktiváló hatással rendelkezik. Ennek némileg ellentmond Liu és Coupar (1997a) közleménye, akik patkány ileumon vizsgálták a clonidin hatását és esetükben a clonidin gátolta a carbachol-indukálta kontrakciókat. Felvetették az esetleges posztzinaptikus gátló  $\alpha_1$ -adrenoceptorok aktivációjának szerepét, bár ennek ellentmond egyrészt a clonidin 220-szor nagyobb szelektivitása az  $\alpha_2$ -adrenoceptorokkal szemben (Scheinin és mtsai 1989), másrészt azok a közlemények, melyekben a prazosin képtelen volt a clonidin hatását gátolni (Fulop és mtsai 2005, Ruwart és mtsai 1980).

A clonidinnal szemben ugyanakkor az oxymetazolin a carbachol által indukált motilitást is gátolta, ami posztzinaptikus mechanizmusok szerepére utal a motilitás gátlásában.



Felmerül a kérdés, hogy milyen posztszinaptikus receptorok lehetnek érintettek az oxymetazolin hatásában? Az egyik lehetőség a már előbb említett posztszinaptikus  $\alpha_1$ -adrenoceptorok aktivációja, hiszen ilyen receptorokat a gyomor fundusában is leírtak (Lefebvre és mtsai 1983, Verplanken és mtsai 1984) és az oxymetazolin az  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptorok mellett  $\alpha_{1A}$ -adrenoceptorokat is képes aktiválni (Bylund 1992). Ezen mechanizmus ellen szól azonban, hogy a prazosin nem befolyásolta az oxymetazolin hatását. Másik lehetőség a muszkarinos receptorok aktivációjának gátlása, hiszen az utóbbi években atropin-szerű hatást írtak le az oxymetazolinnal kapcsolatban humán m. ciliarisban illetve tengerimalac ileumon (Patil és Ishikawa 2004, Salazar-Bookaman és mtsai 2006). Ez megmagyarázná az oxymetazolin azonnali gátló hatását a carbachol-indukálta motilitásra, ennek bizonyításához azonban még további kísérletek szükségesek. Harmadik lehetőségként felmerül az 5HT-receptorok szerepe. A gasztrointesztinális rendszerben számos 5HT-receptor ( $5HT_1$ ,  $5HT_2$ ,  $5HT_3$ ,  $5HT_4$ ,  $5HT_7$ ) (Komada és Yano 2007) található a neuronokon és simaizom sejteken egyaránt, és bár különbségek lehetnek az általuk mediált hatásokban a vizsgált fajoktól függően (így pl. tengerimalacban és egérben a  $5HT_4$  receptorok aktivációja az antrum kontrakcióját fokozza (James és mtsai 2004a, Takemura és mtsai 1999), míg patkányban valószínűleg relaxáló hatású (Komada és Yano 2007), az  $5HT_1$ -es receptorok relaxáló hatása széleskörben elfogadott (Komada és Yano 2007, Tack és mtsai 2000). (Ez utóbbi következtében egyre nagyobb figyelem irányul az  $5HT_1$ -agonistákra, mint a gyomor akkomodációját javító jövőbeli gyógyszerekre) (Tack 2008). Az oxymetazolinról kimutatták, hogy a  $5HT_{1A}$ -,  $5HT_{1B}$ - és  $5HT_{1D}$ -receptorokon tiszta agonistaként, a  $5HT_{1C}$ -receptorokon pedig parciális agonistaként viselkedik (Schoeffter és Hoyer 1991), így elképzelhető lehet, hogy ezen receptorok aktivációja révén fejt ki jelentős motilitást gátló hatását. A legújabb közlemények szerint ugyanakkor a  $5HT_1$ -receptorok közül a plexus myentericus NOerg neuronjain található  $5HT_{1P}$  szubtypus aktivációja felelős a relaxációért, amely NO-felszabaduláshoz vezet (Tack és mtsai 2000), az pedig egyelőre kérdéses, hogy az oxymetazolin képes-e ezen szubtypust aktiválni.

Végezetül felvetődik az imidazolin-receptorok szerepe is az oxymetazolin hatásában (ezen receptorokról részletesebben írok a következő fejezetben), de ezekhez egyrészt a clonidin is képes kötődni, másrészt az előzetes eredményeim alapján az idazoxan (egy

kevert  $\alpha_2/I_1$ -antagonista vegyület) a yohimbinhez hasonlóan képtelen az oxymetazolin hatását antagonizálni.

Az eredményeket összefoglalva elmondható, hogy az oxymetazolin motilitást gátló hatása két komponensből áll, ugyanis a plexus myentericus neuronjain található preszinaptikus  $\alpha_{2A}$ -receptorok aktivációján kívül nagy valószínűséggel posztzinaptikus hatásokkal is rendelkezik. Ez utóbbi pontos természete egyelőre tisztázatlan, az irodalom alapján több lehetőség is felvetődik. Kifejezettebb és több mechanizmuson alapuló relaxáló hatása révén azonban az oxymetazolin új, hatékonyabb fundust relaxáló gyógyszerek kifejlesztéséhez nyújthat alapot.

#### **4.3.2. Az imidazolin receptorok szerepe a gasztrointesztinális motilitás szabályozásában**

Az imidazolin-receptorok a 80-as években kerültek a figyelem középpontjába, amikor Bousquet és mtsai (1984) felvetették esetleges szerepüket a clonidin (és a vele rokon vegyületek) centrális antihipertenzív hatásában. Mivel pontos szerkezetük azóta sem ismert, imidazolin-kötőhelyeknek (IBS) is nevezik őket, és jelenleg 3 szubtípust különítenek el belőlük (összefoglalóként ld. Dardonville és Rozas 2004, Eglen és mtsai 1998, Szabo 2002). Az  $I_1$  receptor (melyről mára tudjuk, hogy G-protein kapcsolt receptor) nagy affinitással köti az imidazolidineket (pl. clonidin) és aktivációja többek között antihipertenzív, natriuretikus illetve neuroprotektív hatásokat eredményez. Az  $I_2$  receptor ugyanakkor az imidazolinekkel szemben mutat nagy affinitást (pl. idazoxan) és további két al-altípusra osztható, melyek az amiloriddal szemben nagy ( $I_{2A}$ ) illetve kis ( $I_{2B}$ ) affinitásúak. Az  $I_2$  receptorok (kötőhelyek) többsége a MAO<sub>B</sub> enzimeken található, melyek működését feltehetően allosztérikusan gátolja. Az  $I_3$  receptorok a pancreas  $\beta$ -sejtjein találhatóak és aktivációjuk fokozza az inzulin-szekrúciót.

Ahogy a bevezetőben említettem, az imidazolin receptorok (leginkább az  $I_1$  receptorok) szerepe a gasztrointesztinális rendszer funkcióinak szabályozásában is felvetődött. Egyrészt imidazolin receptorokat gyomor és vékonybél szövetekben egyaránt kimutattak tengerimalacban (Houi és mtsai 1987, Wikberg és mtsai 1991), nyúlban (Tesson és mtsai 1992), patkányban és emberben (Molderings és mtsai 1999), másrészt

ezen receptorok endogén ligandja, az agmatin (Li és mtsai 1994) is megtalálható a gasztrointesztinális szövetekben (Raasch és mtsai 1995).

Az elmúlt években több közlemény is született, mely az imidazolin receptorok szerepével foglalkozik a motilitás (Colucci és mtsai 1998, Liu és Coupar 1997b), a savszekréció (Glavin és mtsai 1995, Glavin és Smyth 1995) vagy a gasztroprotekción (Glavin és mtsai 1995, Utkan és mtsai 2000) vonatkozásában, az eredmények azonban korántsem egyértelműek. Így például az  $I_1$  receptor agonista moxonidin i.c.v. gasztroprotektívnek bizonyult (Carlisle és mtsai 1995), ugyanakkor az endogén ligand agmatin súlyosbította a stressz- (Glavin és mtsai 1995) és alkoholos fekélyt egyaránt (Utkan és mtsai 2000). Bhandare és mtsai (1991) pedig imidazolin receptorok aktivációját feltételezték a nagy dózisu clonidin alkoholos léziókat súlyosbító hatásának hátterében. Az ilyen irányú kísérleteket és az eredményeik értékelését jelentősen nehezíti, hogy az imidazolin receptorok agonistái és antagonistái általában nem szelektívek és viszonylag jelentős affinitással kötődnek az  $\alpha_2$ -receptorokhoz is (Szabo 2002). Az imidazolin receptorok endogén ligandjának vélt agmatinról is bebizonyosodott, hogy számos egyéb receptoron, így pl. az  $\alpha_2$ - vagy NMDA-receptorokon is hat (összefoglalóért ld. Halaris és Plietz 2007). Ezért aztán az imidazolin receptorok pontos szerepe a gasztrointesztinális funkciók szabályozásában továbbra is tisztázatlan.

Mivel a kísérleteim előző csoportjában a clonidin és oxymetazolin gasztrointesztinális motilitásra gyakorolt hatását vizsgáltam, mely vegyületek az  $\alpha_2$ -adrenoceptorok mellett imidazolin receptorokat is képesek aktiválni, kísérleteim utolsó csoportjában ezen utóbbi receptorok motilitásban betöltött szerepét kezdtem el vizsgálni.

A kísérleteket tengeri malac vékonybélben (ileum és jejunum) végeztem, a 10 cm-es szegmensek perisztaltikus működésénél pedig 2 paramétert határoztam meg; az intraluminális nyomást (IP, mely a kontrakciókat követő minimális nyomásértékekkel azonos és ezáltal a bélszakasz kiürülési képességével korrelál) illetve a kontrakciók kiváltásához szükséges nyomásértéket (PPT) (Shahbazian és mtsai 2001).

Az eredmények arra utalnak, hogy az  $\alpha_2$ -receptorok mellett feltehetően az  $I_1$  receptorok is szerepet játszanak a gasztrointesztinális motilitás szabályozásában, ugyanis (1) az  $I_1$  receptor agonista rilmenidin (Gomez és mtsai 1991) koncentráció-függően gátolta a vékonybél szakaszok motoros tevékenységét, valamint (2) az imidazolidin struktúrával

rendelkező  $\alpha_2$ -agonista clonidin hatását (mely az  $\alpha_2$ -adrenoceptorok mellett szintén nagy affinitással kötődik az  $I_1$  és közepes affinitással az  $I_2$  receptorokhoz (Ernsberger és mtsai 1995, Miralles és mtsai 1993), az  $I_1$  receptor antagonistá efaroxan szignifikánsan gátolta.

Érdekes azonban megfigyelni, hogy a rilmenidin hatáserősség tekintetében messze elmarad a clonidin mögött, az  $IC_{50}$  értékei 897.4 (713.2-1129) nM illetve 572.3 (491.3-666.7) nM az IP és PPT esetében, megfelelően. Emellett a legnagyobb alkalmazott koncentrációban (3  $\mu$ M) is csupán körülbelül 85%-os gátlást fejtett ki a kontrakciókra, szemben a clonidinnal, mely már 100 - 300 nM-os koncentrációban is teljes gátlást okozott (vagyis a regisztrált nyomásérték elérte a rendszer kialakításából fakadó maximális 4 cmH<sub>2</sub>O-t. A rilmenidin csekély motilitást gátló hatékonyságát az irodalmi adatok is alátámasztják. Colucci és mtsai (1998) például tengeri malac ileum longitudinális izomszöveten végeztek kísérleteket, ahol az elektromosan indukált kontrakciókat clonidin és rilmenidin egyaránt gátolták, azonban míg előbbi  $IC_{50}$  és  $E_{max}(\%)$  értékei 170 nM és 88%, addig a rilmenidiné 2,5  $\mu$ M és 79%. Patkány ileumon végzett kísérleteken pedig a clonidin 52x volt hatékonyabb a rilmenidinnél ( $IC_{50}$  értékek 2.8 nM és 145 nM) (Liu és Coupar 1996, Liu és Coupar 1997b).

A rilmenidin vérnyomást csökkentő hatékonysága is csupán 1/8-a a clonidinének (Chan és Head 1996), ugyanakkor érdekes módon a rilmenidin alkoholos fekélymodellel hatékonyabbnak bizonyult a clonidinnél, hiszen az  $ED_{50}$  értékei 3.8, 3.1 illetve 0.01 nmol/kg p.os, s.c. valamint i.c.v. adagolás során, megfelelően, míg a clonidiné 32, 25 és 0.2 nmol/kg (Gyires és mtsai 2007). Ez esetleg arra utalhat, hogy a centrális gyomorvédelemben az imidazolin receptorok szerepe jelentősebb az  $\alpha_2$ -adrenoceptorokénál, míg a motilitás illetve vérnyomás szabályozása szempontjából az  $\alpha_2$ -receptorok a fontosabbak.

Az imidazolin receptorok motilitást gátló hatására utal az is, hogy efaroxannal történő előkezelést követően a clonidin hatása szignifikánsan gátlódott. Az  $IC_{50}$  értékek 1323 (873-2005) nM-ra illetve 1010 (572.2-1784) nM-ra emelkedtek az IP és PPT esetében, megfelelően, míg a legnagyobb alkalmazott clonidin koncentráció (3  $\mu$ M) is csupán 69 %-os gátlást fejtett ki a kontrakciókra. A görbék lefutásából azonban látszik, hogy a gátlás nem kompetitív jellegű, aminek az lehet a magyarázata, hogy a clonidin egyszerre

két receptor (nevezetesen az  $\alpha_2$ - és  $I_1$  receptorok) aktivációján keresztül fejt ki hatását, míg az efaroxan sokkal szelektívebb az  $I_1$  receptorokkal szemben (Head 1995).

Ezen kísérletek alapján tehát az imidazolin receptorok feltehetően szerepet játszanak a vékonybél-motilitás szabályozásában tengerimalacon. Hangsúlyozni szeretném, hogy ezek egyelőre előzetes eredmények, és további vizsgálatok szükségesek az imidazolin receptorok pontos szerepének feltérképezéséhez. Bár a rilmenidint és efaroxant a közlemények többsége szelektív  $I_1$  receptor agonistaként illetve antagonistaként említi, egyes szerzők szerint szelektivitásuk egyáltalán nem meggyőző (Szabo 2002). Éppen ezért egyelőre az sem zárható ki, hogy kísérleteimben a rilmenidin és efaroxan az  $\alpha_2$ -receptorok aktivitását befolyásolva fejtette ki hatását. A Freiburgi Egyetem Farmakológiai Intézetével (L. Hein professzorral) történő kollaboráció eredményeként laboratóriumunkban sikerrel folyik a  $\alpha_2$ -KO egerek tenyésztése, így az imidazolin receptorok funkcióinak vizsgálatát ezen állatokban fogom folytatni.

## **5. KÖVETKEZTETÉSEK**

1. Az endomorfín-1 és endomorfín-2 (a többi  $\mu$ -opioid receptor agonistához hasonlóan) egyaránt gasztroprotektív hatást fejt ki i.c.v. adagolás során, közel azonos hatékonysággal és hatáserősséggel.

2. Az endogén endomorfín rendszer szintén szerepet játszik a mukozális védelem kialakításában.

3. A centrálisan beadott endomorfínok hatását a klasszikus protektív faktorok (CGRP, NO és PG-ok) mediálják a periférián. A vágusz és a szimpatikus idegrendszer szerepe egyelőre kérdéses, de a nikotinos ganglionáris áttevődés valamint a mAChR-ok és  $\beta$ -adrenoceptorok szerepe kizárható az endomorfínok által indukált védelemben.

4. A N/OFQ mellett a NST is gasztroprotektív hatást fejt ki centrális adagolás során, a két peptid hatékonysága és hatáserőssége közel azonos. Hatását a N/OFQ-től függetlenül, saját receptorán keresztül fejt ki.

5. Az irodalomból ismert funkcionális antagonizmus a NST és N/OFQ között kísérleteimben is jelentkezett, de csak nagyobb dózisok együttes alkalmazása esetén. Ezzel szemben kisebb dózisoknál additív hatás volt megfigyelhető.

6. A N/OFQ és NST hatásának mediálásában részt vesz az opioid rendszer is – mindhárom opioid receptor ( $\mu$ ,  $\delta$  és  $\kappa$ ) centrális aktivációja révén.

7. A N/OFQ és NST hatásának a közvetítésében részt vesz a vágusz valamint perifériásan a NO és PG-ok.

8. Az oxymetazolin motilitást gátló hatása két komponensből áll, ugyanis a plexus myentericus neuronjain található preszinaptikus  $\alpha_{2A}$ -receptorok aktivációján felül nagy valószínűséggel posztszinaptikus hatásokkal is rendelkezik.

9. Az  $\alpha_2$ -adrenoceptorok mellett feltehetően az  $I_1$  receptorok is szerepet játszanak a gasztrointesztinális motilitás szabályozásában.

## **6. ÖSSZEFOGLALÁS**

A peptikus fekélyek egy része nem reagál kellőképpen a szekréciógátlókkal történő kezelésre, ezért különösen fontos a gyomornyálkahártya protektív faktorainak tanulmányozása. Doktori munkám első nagy témaköre az endomorfínok illetve a nociceptin (N/OFQ) és nocistatin (NST) gaszтроprotektív hatásával foglalkozik. A kísérleteket alkoholos fekély-modellen végeztem, mely savszekréciótól független modell és ezáltal lehetővé teszi a különböző vegyületek mukozális védelmet fokozó hatásának vizsgálatát. Munkám során kimutattam, hogy a többi opioid peptidhez hasonlóan mind az endomorfín-1, mind az endomorfín-2 gaszтроprotektív hatást fejt ki centrális (intracerebroventrikuláris, i.c.v.) alkalmazás során patkányban. Az endogén endomorfín rendszer mukozális védelemben betöltött szerepére utal, hogy az endomorfínok lebontását végző enzim gátlása szintén protektív hatásúnak bizonyult. Az endomorfínok hatását a periférián elsősorban a NO és a CGRP mediálja, de a prosztaglandinok is szerepet játszanak a védelemben. Szintén elsőként mutattam ki, hogy a N/OFQ-hez hasonlóan a NST is képes gaszтроprotektív hatást kifejteni i.c.v. alkalmazás során, vagyis a NST is biológiailag aktív peptid. Hatását a N/OFQ-től függetlenül, feltehetően saját (még ismeretlen) receptorának aktivációján keresztül fejt ki. A két peptid közötti interakció jellege kettős: nagyobb dózisok alkalmazása során a NST csökkentette, míg kisebb dózisok esetén fokozta a N/OFQ védőhatását. Mindkét peptid hatásának mediálásában részt vesz az endogén opioid rendszer, a vágusz, valamint a periférián a prosztaglandinok és az NO.

Doktori munkám második nagy témaköre az  $\alpha_2$ -adrenoceptorok illetve imidazolin receptorok gaszтроintesztinális motilitásra gyakorolt hatását vizsgálja. Eredményeim arra utalnak, hogy a gaszтроintesztinális funkciók vizsgálatára széles körben alkalmazott oxymetazolin, egy szelektív  $\alpha_{2A}$ -receptor szubttípus agonista vegyület motilitást gátló hatása két komponensből áll, ugyanis a plexus myentericus neuronjain található preszinaptikus  $\alpha_{2A}$ -receptorok aktivációján kívül nagy valószínűséggel posztszinaptikus hatásokkal is rendelkezik. Emellett kimutattam, hogy az  $\alpha_2$ -receptorok mellett feltehetően az  $I_1$  receptorok is szerepet játszanak a gaszтроintesztinális motilitás szabályozásában.



## **7. SUMMARY**

Treatment of peptic ulcers can raise difficulties even nowadays, therefore the investigation of mucosal protective factors is particularly important. In the first part of my doctoral work I analyzed the gastroprotective effect of endomorphins and that of nociceptin (N/OFQ) and nocistatin (NST). Gastric ulcers were induced by ethanol, which is an acid-independent ulcer model, thus suitable for the analysis of gastroprotection. It was found that both endomorphin-1 and endomorphin-2 induced mucosal protection after intracerebroventricular (i.c.v.) administration in the rat, similarly to other opioid peptides. Inhibition of the key enzyme responsible for degradation of endomorphins also induced protective effect, which indicates the role of endogenous endomorphin system in the maintenance of mucosal integrity. The central effect of endomorphins is mediated mainly by NO and CGRP, but partly also by prostaglandins in the periphery. Furthermore, it was first demonstrated that beside N/OFQ also centrally injected NST can induce gastroprotection, thus it is a biologically active peptide per se. NST exerts its effect irrespectively of N/OFQ, through activation of its own (and still unidentified) receptor. Two types of interaction were found between N/OFQ and NST: when higher doses were applied, NST reduced the protective effect of N/OFQ. In contrast, addition of their effects was observed, when lower doses were used. The effect of both peptides is mediated by the endogenous opioid system. The central effect is conveyed by the vagal nerve to the periphery, where prostaglandins and NO are likely to mediate the mucosal protection.

In the second part of my work I investigated the role of  $\alpha_2$ -adrenoceptors and imidazoline receptors in the regulation of gastrointestinal motility. The results indicate that oxymetazoline, a selective  $\alpha_{2A}$ -receptor subtype agonist, which is extensively used for the analysis of gastrointestinal functions, inhibits gastric motility through two distinct mechanisms: beside activation of presynaptic  $\alpha_{2A}$ -receptors on myenteric neurons also postsynaptic mechanisms may be involved. It was also found that beside  $\alpha_2$ -adrenoceptors  $I_1$  receptors may regulate the gastrointestinal motility as well.

## **8. IRODALOMJEGYZÉK**

Ahmadi S, Kotalla C, Guhring H, Takeshima H, Pahl A, Zeilhofer HU. (2001) Modulation of synaptic transmission by nociceptin/orphanin FQ and nocistatin in the spinal cord dorsal horn of mutant mice lacking the nociceptin/orphanin FQ receptor. *Mol Pharmacol*, 59: 612-618.

al Bekairi AM, al Rajhi AM, Tariq M. (1993) Effect of (+/-)-propranolol and clonidine on stress- and chemically induced gastric ulcers in rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 323: 97-113.

Allescher HD, Storr M, Brechmann C, Hahn A, Schusdziarra V. (2000a) Modulatory effect of endogenous and exogenous opioids on the excitatory reflex pathway of the rat ileum. *Neuropeptides*, 34: 62-68.

Allescher HD, Storr M, Piller C, Brantl V, Schusdziarra V. (2000b) Effect of opioid active therapeutics on the ascending reflex pathway in the rat ileum. *Neuropeptides*, 34: 181-186.

Alt A, Mansour A, Akil H, Medzihradsky F, Traynor JR, Woods JH. (1998) Stimulation of guanosine-5'-O-(3-[35S]thio)triphosphate binding by endogenous opioids acting at a cloned mu receptor. *J Pharmacol Exp Ther*, 286: 282-288.

Altman JD, Trendelenburg AU, MacMillan L, Bernstein D, Limbird L, Starke K, Kobilka BK, Hein L. (1999) Abnormal regulation of the sympathetic nervous system in alpha2A-adrenergic receptor knockout mice. *Mol Pharmacol*, 56: 154-161.

Asai T, Mapleson WW, Power I. (1997a) Differential effects of clonidine and dexmedetomidine on gastric emptying and gastrointestinal transit in the rat. *Br J Anaesth*, 78: 301-307.

Asai T, McBeth C, Stewart JI, Williams J, Vaughan RS, Power I. (1997b) Effect of clonidine on gastric emptying of liquids. *Br J Anaesth*, 78: 28-33.

Asakawa A, Inui A, Momose K, Ueno N, Fujino MA, Kasuga M. (1998) Endomorphins have orexigenic and anxiolytic activities in mice. *Neuroreport*, 9: 2265-2267.

Bagosi Z, Jaszberenyi M, Bujdosó E, Szabo G, Telegdy G. (2006) The effects of endomorphins and diprotin A on striatal dopamine release induced by electrical stimulation-an in vitro superfusion study in rats. *Neurochem Int*, 49: 665-668.

Bagosi Z, Jaszberenyi M, Telegdy G. (2008) The Effects of Endomorphins on Striatal [(3)H]Gaba Release Induced by Electrical Stimulation: An In vitro Superfusion Study in Rats. *Neurochem Res*,

Bardou M, Toubouti Y, Benhaberou-Brun D, Rahme E, Barkun AN. (2005) Meta-analysis: proton-pump inhibition in high-risk patients with acute peptic ulcer bleeding. *Aliment Pharmacol Ther*, 21: 677-686.

Baskin WN, Ivey KJ, Krause WJ, Jeffrey GE, Gemmell RT. (1976) Aspirin-induced ultrastructural changes in human gastric mucosa: correlation with potential difference. *Ann Intern Med*, 85: 299-303.

Baxter AJ, Edwards CA, Holden S, Cunningham KM, Welch IM, Read NW. (1987) The effect of two alpha 2-adrenoreceptor agonists and an antagonist on gastric emptying and mouth to caecum transit time in humans. *Aliment Pharmacol Ther*, 1: 649-655.

Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. (1990) Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87: 1620-1624.

Berk ML, Finkelstein JA. (1982) Efferent connections of the lateral hypothalamic area of the rat: an autoradiographic investigation. *Brain Res Bull*, 8: 511-526.

Bhandare PN, Rataboli PV, D'Souza RS. (1991) Dual action of clonidine on ethanol-induced gastric lesions: is the imidazoline-preferring receptor involved? *Eur J Pharmacol*, 199: 243-245.

Bhatia V, Tandon RK. (2005) Stress and the gastrointestinal tract. *J Gastroenterol Hepatol*, 20: 332-339.

Bhounsule SA, Diniz D'Souza RS, Dhume VG. (1992) Protective effect of morphine on ethanol-induced gastric lesions in rats: are ATP-dependent potassium channels involved? *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 318: 116-123.

Blandizzi C. (2007) Enteric alpha-2 adrenoceptors: pathophysiological implications in functional and inflammatory bowel disorders. *Neurochem Int*, 51: 282-288.

Blandizzi C, Natale G, Colucci R, Carignani D, Lazzeri G, Del Tacca M. (1995) Characterization of alpha 2-adrenoceptor subtypes involved in the modulation of gastric acid secretion. *Eur J Pharmacol*, 278: 179-182.

Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, Davis B, Day R, Ferraz MB, Hawkey CJ, Hochberg MC, Kvien TK, Schnitzer TJ. (2000) Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. VIGOR Study Group. *N Engl J Med*, 343: 1520-8, 2.

Boom A, Mollereau C, Meunier JC, Vassart G, Parmentier M, Vanderhaeghen JJ, Schiffmann SN. (1999) Distribution of the nociceptin and nocistatin precursor transcript in the mouse central nervous system. *Neuroscience*, 91: 991-1007.

Bousquet P, Feldman J, Schwartz J. (1984) Central cardiovascular effects of alpha adrenergic drugs: differences between catecholamines and imidazolines. *J Pharmacol Exp Ther*, 230: 232-236.

Brede M, Nagy G, Philipp M, Sorensen JB, Lohse MJ, Hein L. (2003) Differential control of adrenal and sympathetic catecholamine release by alpha 2-adrenoceptor subtypes. *Mol Endocrinol*, 17: 1640-1646.

Broccardo M, Guerrini R, Morini G, Polidori C, Agostini S, Petrella C, Improta G. (2007) The gastric effects of UFP-112, a new nociceptin/orphanin receptor agonist, in physiological and pathological conditions. *Peptides*, 28: 1974-1981.

Broccardo M, Guerrini R, Petrella C, Improta G. (2004) Gastrointestinal effects of intracerebroventricularly injected nociceptin/orphaninFQ in rats. *Peptides*, 25: 1013-1020.

Brown JF, Keates AC, Hanson PJ, Whittle BJ. (1993) Nitric oxide generators and cGMP stimulate mucus secretion by rat gastric mucosal cells. *Am J Physiol*, 265: G418-G422.

Brown TJ, Hooper L, Elliott RA, Payne K, Webb R, Roberts C, Rostom A, Symmons D. (2006) A comparison of the cost-effectiveness of five strategies for the prevention of non-steroidal anti-inflammatory drug-induced gastrointestinal toxicity: a systematic review with economic modelling. *Health Technol Assess*, 10: iii-xiii, 1.

Browning KN, Kalyuzhny AE, Travagli RA. (2002) Opioid peptides inhibit excitatory but not inhibitory synaptic transmission in the rat dorsal motor nucleus of the vagus. *J Neurosci*, 22: 2998-3004.

Browning KN, Kalyuzhny AE, Travagli RA. (2004) Mu-opioid receptor trafficking on inhibitory synapses in the rat brainstem. *J Neurosci*, 24: 7344-7352.

Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Kwiecien S, Drozdowicz D, Bielanski W, Pajdo R, Ptak A, Nikiforuk A, Pawlik WW, Hahn EG. (2004) Exogenous and endogenous ghrelin in gastroprotection against stress-induced gastric damage. *Regul Pept*, 120: 39-51.

Brzozowski T, Konturek PC, Pajdo R, Kwiecien S, Ptak A, Sliwowski Z, Drozdowicz D, Pawlik M, Konturek SJ, Hahn EG. (2001) Brain-gut axis in gastroprotection by leptin and cholecystokinin against ischemia-reperfusion induced gastric lesions. *J Physiol Pharmacol*, 52: 583-602.

Brzozowski T, Konturek PC, Sliwowski Z, Drozdowicz D, Hahn EG, Konturek SJ. (1997a) Importance of nitric oxide and capsaicin-sensitive afferent nerves in healing of stress lesions induced by epidermal growth factor. *J Clin Gastroenterol*, 25 Suppl 1: S28-S38.

Brzozowski T, Konturek SJ, Sliwowski Z, Pajdo R, Drozdowicz D, Stachura J. (1997b) Role of beta-adrenoceptors in gastric mucosal integrity and gastroprotection induced by epidermal growth factor. *Digestion*, 58: 319-331.

Bueno L, Fioramonti J. (1988) Action of opiates on gastrointestinal function. *Baillieres Clin Gastroenterol*, 2: 123-139.

Burks TF, Fox DA, Hirning LD, Shook JE, Porreca F. (1988) Regulation of gastrointestinal function by multiple opioid receptors. *Life Sci*, 43: 2177-2181.

Butour JL, Moisand C, Mazarguil H, Mollereau C, Meunier JC. (1997) Recognition and activation of the opioid receptor-like ORL 1 receptor by nociceptin, nociceptin analogs and opioids. *Eur J Pharmacol*, 321: 97-103.

Bylund DB. (1992) Subtypes of alpha 1- and alpha 2-adrenergic receptors. *FASEB J*, 6: 832-839.

Bylund DB, Eikenberg DC, Hieble JP, Langer SZ, Lefkowitz RJ, Minneman KP, Molinoff PB, Ruffolo RR, Jr., Trendelenburg U. (1994) International Union of Pharmacology nomenclature of adrenoceptors. *Pharmacol Rev*, 46: 121-136.

Calzada BC, De Artinano AA. (2001) Alpha-adrenoceptor subtypes. *Pharmacological Research*, 44: 195-208.

Carlisle MA, Smyth DD, Glavin GB. (1995) Efaroxan acts peripherally to block the antisecretory and gastroprotective effects of moxonidine in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 274: 598-601.

Carter DA, Lightman SL. (1985) Selective cardiovascular and neuroendocrine effects of a kappa-opioid agonist in the nucleus tractus solitarii of rats. *J Physiol*, 367: 363-375.

Champion HC, Zadina JE, Kastin AJ, Hackler L, Ge LJ, Kadowitz PJ. (1997) Endomorphin 1 and 2, endogenous ligands for the mu-opioid receptor, decrease cardiac output, and total peripheral resistance in the rat. *Peptides*, 18: 1393-1397.

Chan CK, Head GA. (1996) Relative importance of central imidazoline receptors for the antihypertensive effects of moxonidine and rilmenidine. *J Hypertens*, 14: 855-864.

Chavkin C, James IF, Goldstein A. (1982) Dynorphin is a specific endogenous ligand of the kappa opioid receptor. *Science*, 215: 413-415.

- Chen Y, Fan Y, Liu J, Mestek A, Tian M, Kozak CA, Yu L. (1994) Molecular cloning, tissue distribution and chromosomal localization of a novel member of the opioid receptor gene family. *FEBS Lett*, 347: 279-283.
- Cheng HC, Gleason EM, Nathan BA, Lachmann PJ, Woodward JK. (1981) Effects of clonidine on gastric acid secretion in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*, 217: 121-126.
- Chin JH, Harris K, MacTavish D, Jhamandas JH. (2002) Nociceptin/orphanin FQ modulation of ionic conductances in rat basal forebrain neurons. *J Pharmacol Exp Ther*, 303: 188-195.
- Ciccocioppo R, Panocka I, Polidori C, Regoli D, Massi M. (1999) Effect of nociceptin on alcohol intake in alcohol-preferring rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 141: 220-224.
- Claria J, Serhan CN. (1995) Aspirin triggers previously undescribed bioactive eicosanoids by human endothelial cell-leukocyte interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92: 9475-9479.
- Colgan SP, Serhan CN, Parkos CA, Delp-Archer C, Madara JL. (1993) Lipoxin A4 modulates transmigration of human neutrophils across intestinal epithelial monolayers. *J Clin Invest*, 92: 75-82.
- Colucci R, Blandizzi C, Carignani D, Placanica G, Lazzeri G, Del Tacca M. (1998) Effects of imidazoline derivatives on cholinergic motility in guinea-pig ileum: involvement of presynaptic alpha2-adrenoceptors or imidazoline receptors? *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 357: 682-691.
- Cook DJ, Fuller HD, Guyatt GH, Marshall JC, Leasa D, Hall R, Winton TL, Rutledge F, Todd TJ, Roy P, . (1994) Risk factors for gastrointestinal bleeding in critically ill patients. Canadian Critical Care Trials Group. *N Engl J Med*, 330: 377-381.
- Cooper SM, McRitchie B. (1985) Role of dopamine and alpha-adrenoreceptors in the control of gastric emptying in the rat: possible involvement in the mechanism of action of metoclopramide. *J Auton Pharmacol*, 5: 325-331.

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.

Coventry TL, Jessop DS, Finn DP, Crabb MD, Kinoshita H, Harbuz MS. (2001) Endomorphins and activation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *J Endocrinol*, 169: 185-193.

Cushing H. (1932) Peptic ulcers and the interbrain. *Surg Gynecol Obstet*, 55: 1-34.

Czapla MA, Gozal D, Alea OA, Beckerman RC, Zadina JE. (2000) Differential cardiorespiratory effects of endomorphin 1, endomorphin 2, DAMGO, and morphine. *Am J Respir Crit Care Med*, 162: 994-999.

Dardonville C, Rozas I. (2004) Imidazoline binding sites and their ligands: an overview of the different chemical structures. *Med Res Rev*, 24: 639-661.

Darland T, Heinricher MM, Grandy DK. (1998) Orphanin FQ/nociceptin: a role in pain and analgesia, but so much more. *Trends Neurosci*, 21: 215-221.

Davenport HW. (1965) Is the apparent hyposecretion of acid by patients with gastric ulcer a consequence of a broken barrier to diffusion of hydrogen ions into the gastric mucosa? *Gut*, 6: 513-

Del Tacca M, Soldani G, Selli M, Crema A. (1970) Action of catecholamines on release of acetylcholine from human taenia coli. *Eur J Pharmacol*, 9: 80-84.

Devine DP, Watson SJ, Akil H. (2001) Nociceptin/orphanin FQ regulates neuroendocrine function of the limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Neuroscience*, 102: 541-553.

Du LN, Wu GC, Cao XD. (1998) Modulation of orphanin FQ or electroacupuncture (EA) on immune function of traumatic rats. *Acupunct Electrother Res*, 23: 1-8.



Eglen RM, Hudson AL, Kendall DA, Nutt DJ, Morgan NG, Wilson VG, Dillon MP. (1998) 'Seeing through a glass darkly': casting light on imidazoline 'I' sites. *Trends Pharmacol Sci*, 19: 381-390.

Ehrlich K, Sicking C, Respondek M, Peskar BM. (2004) Interaction of cyclooxygenase isoenzymes, nitric oxide, and afferent neurons in gastric mucosal defense in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 308: 277-283.

Ernsberger P, Graves ME, Graff LM, Zakieh N, Nguyen P, Collins LA, Westbrooks KL, Johnson GG. (1995) I1-imidazoline receptors. Definition, characterization, distribution, and transmembrane signaling. *Ann N Y Acad Sci*, 763: 22-42.

Esplugues J, Lloris JM, Marti-Bonmati E, Morcillo EJ. (1982) Effects of beta-adrenoceptor drug stimulation on various models of gastric ulcer in rats. *Br J Pharmacol*, 76: 587-594.

Esplugues JV, Whittle BJ, Moncada S. (1992) Modulation by opioids and by afferent sensory neurones of prostanoid protection of the rat gastric mucosa. *Br J Pharmacol*, 106: 846-852.

Evangelista S, Maggi CA, Rovero P, Patacchini R, Giuliani S, Giachetti A. (1990) Analogs of neurokinin A(4-10) afford protection against gastroduodenal ulcers in rats. *Peptides*, 11: 293-297.

Evangelista S, Tramontana M, Maggi CA. (1992) Pharmacological evidence for the involvement of multiple calcitonin gene-related peptide (CGRP) receptors in the antisecretory and antiulcer effect of CGRP in rat stomach. *Life Sci*, 50: L13-L18.

Fairbanks CA, Stone LS, Kitto KF, Nguyen HO, Posthumus IJ, Wilcox GL. (2002) alpha(2C)-Adrenergic receptors mediate spinal analgesia and adrenergic-opioid synergy. *J Pharmacol Exp Ther*, 300: 282-290.

Faisy C, Guerot E, Diehl JL, Iftimovici E, Fagon JY. (2003) Clinically significant gastrointestinal bleeding in critically ill patients with and without stress-ulcer prophylaxis. *Intensive Care Med*, 29: 1306-1313.

Fantin M, Fischetti C, Trapella C, Morari M. (2007) Nocistatin inhibits 5-hydroxytryptamine release in the mouse neocortex via presynaptic Gi/o protein linked pathways. *Br J Pharmacol*, 152: 549-555.

Fargeas MJ, Fioramonti J, Bueno L. (1986) Central alpha 2-adrenergic control of the pattern of small intestinal motility in rats. *Gastroenterology*, 91: 1470-1475.

Ferguson AV, Marcus P, Spencer J, Wallace JL. (1988) Paraventricular nucleus stimulation causes gastroduodenal mucosal necrosis in the rat. *Am J Physiol*, 255: R861-R865.

Ferreira M, Jr., Browning KN, Sahibzada N, Verbalis JG, Gillis RA, Travagli RA. (2001) Glucose effects on gastric motility and tone evoked from the rat dorsal vagal complex. *J Physiol*, 536: 141-152.

Ferreira M, Jr., Sahibzada N, Shi M, Panico W, Niedringhaus M, Wasserman A, Kellar KJ, Verbalis J, Gillis RA. (2002) CNS site of action and brainstem circuitry responsible for the intravenous effects of nicotine on gastric tone. *J Neurosci*, 22: 2764-2779.

Ferri S, Arrigo-Reina R, Candeletti S, Costa G, Murari G, Speroni E, Scoto G. (1983) Central and peripheral sites of action for the protective effect of opioids of the rat stomach. *Pharmacol Res Commun*, 15: 409-418.

Ferri S, Speroni E, Candeletti S, Cavicchini E, Romualdi P, Govoni P, Marchini M. (1988) Protection by opioids against gastric lesions caused by necrotizing agents. *Pharmacology*, 36: 140-144.

File SE, Pearce JB. (1981) Benzodiazepines reduce gastric ulcers induced in rats by stress. *Br J Pharmacol*, 74: 593-599.

Fiorucci S, Antonelli E, Distrutti E, Rizzo G, Mencarelli A, Orlandi S, Zanardo R, Renga B, Di Sante M, Morelli A, Cirino G, Wallace JL. (2005) Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs. *Gastroenterology*, 129: 1210-1224.

- Fiorucci S, Distrutti E, Cirino G, Wallace JL. (2006) The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. *Gastroenterology*, 131: 259-271.
- Florin S, Suaudeau C, Meunier JC, Costentin J. (1997) Orphan neuropeptide NocII, a putative pronociceptin maturation product, stimulates locomotion in mice. *Neuroreport*, 8: 705-707.
- Fodor M, Pammer C, Gorcs T, Palkovits M. (1994) Neuropeptides in the human dorsal vagal complex: an immunohistochemical study. *J Chem Neuroanat*, 7: 141-157.
- Foschi D, Castoldi L, del Soldato P, Musazzi M, Callioni F, Rovati V, Trabucchi E, Montorsi W. (1989) Effects of autonomic nervous system on gastric damage by ethanol in the rat. *Dig Dis Sci*, 34: 688-693.
- Fox DA, Burks TF. (1988) Roles of central and peripheral mu, delta and kappa opioid receptors in the mediation of gastric acid secretory effects in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*, 244: 456-462.
- Fujita T, Kumamoto E. (2006) Inhibition by endomorphin-1 and endomorphin-2 of excitatory transmission in adult rat substantia gelatinosa neurons. *Neuroscience*, 139: 1095-1105.
- Fukada K, Shoda T, Morikawa H, Kato S, Mima H, Mori K. (1998) Activation of phospholipase A2 by the nociceptin receptor expressed in Chinese hamster ovary cells. *J Neurochem*, 71: 2186-92.
- Fulop K, Zadori Z, Ronai AZ, Gyires K. (2005) Characterisation of alpha2-adrenoceptor subtypes involved in gastric emptying, gastric motility and gastric mucosal defence. *Eur J Pharmacol*, 528: 150-157.
- Garrick T, Grijalva CV, Trauner M. (1993) Lateral hypothalamic lesions cause gastric injury by stimulating gastric contractility. *Am J Physiol*, 265: G138-G142.
- Gavin KT, Colgan MP, Moore D, Shanik G, Docherty JR. (1997) Alpha 2C-adrenoceptors mediate contractile responses to noradrenaline in the human saphenous vein. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 355: 406-411.

- Gavioli EC, Duarte FS, Guerrini R, Calo G, Rae GA, Lima TC MD. (2008) GABA(A) signalling is involved in N/OFQ anxiolytic-like effects but not in nocistatin anxiogenic-like action as evaluated in the mouse elevated plus maze. *Peptides*, 29: 1404-1412.
- Geisow MJ, Deakin JF, Dostrovsky JO, Smyth DG. (1977) Analgesic activity of lipotropin C fragment depends on carboxyl terminal tetrapeptide. *Nature*, 269: 167-168.
- Gilbert DA. (1990) Epidemiology of upper gastrointestinal bleeding. *Gastrointest Endosc*, 36: S8-13.
- Gintzler AR, Adapa ID, Toll L, Medina VM, Wang L. (1997) Modulation of enkephalin release by nociceptin (orphanin FQ). *Eur J Pharmacol*, 325: 29-34.
- Giuliani S, Tramontana M, Lecci A, Maggi CA. (1997) Effect of nociceptin on heart rate and blood pressure in anaesthetized rats. *Eur J Pharmacol*, 333: 177-179.
- Glavin GB. (1985) Effects of morphine and naloxone on restraint-stress ulcers in rats. *Pharmacology*, 31: 57-60.
- Glavin GB, Carlisle MA, Smyth DD. (1995) Agmatine, an endogenous imidazoline receptor agonist, increases gastric secretion and worsens experimental gastric mucosal injury in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 274: 741-744.
- Glavin GB, Smyth DD. (1995) Effects of the selective I1 imidazoline receptor agonist, moxonidine, on gastric secretion and gastric mucosal injury in rats. *Br J Pharmacol*, 114: 751-754.
- Goldberg IE, Rossi GC, Letchworth SR, Mathis JP, Ryan-Moro J, Leventhal L, Su W, Emmel D, Bolan EA, Pasternak GW. (1998) Pharmacological characterization of endomorphin-1 and endomorphin-2 in mouse brain. *J Pharmacol Exp Ther*, 286: 1007-1013.
- Gomez RE, Ernsberger P, Feinland G, Reis DJ. (1991) Rilmenidine lowers arterial pressure via imidazole receptors in brainstem C1 area. *Eur J Pharmacol*, 195: 181-191.

- Grandi D, Solenghi E, Guerrini R, Polidori C, Massi M, Morini G. (2007) Nociceptin/orphanin FQ prevents gastric damage induced by cold-restraint stress in the rat by acting in the periphery. *Peptides*, 28: 1572-1579.
- Greenwell TN, Martin-Schild S, Inglis FM, Zadina JE. (2007) Colocalization and shared distribution of endomorphins with substance P, calcitonin gene-related peptide, gamma-aminobutyric acid, and the mu opioid receptor. *J Comp Neurol*, 503: 319-333.
- Gregersen H, Kraglund K, Rittig S, Tottrup A. (1989) The effect of a new selective alpha 2-adrenoreceptor antagonist, idazoxan, and the agonist, clonidine, on fasting antroduodenal motility in healthy volunteers. *Aliment Pharmacol Ther*, 3: 435-443.
- Grijalva CV, Deregnaucourt J, Code CF, Novin D. (1980) Gastric mucosal damage in rats induced by lateral hypothalamic lesions: protection by propantheline, cimetidine, and vagotomy. *Proc Soc Exp Biol Med*, 163: 528-533.
- Grisel JE, Mogil JS, Belknap JK, Grandy DK. (1996) Orphanin FQ acts as a supraspinal, but not a spinal, anti-opioid peptide. *Neuroreport*, 7: 2125-2129.
- Guidobono F, Coluzzi M, Pagani F, Pecile A, Netti C. (1994) Amylin given by central and peripheral routes inhibits acid gastric secretion. *Peptides*, 15: 699-702.
- Gupta RK, Kulshrestha VK, Sharma ML. (1989) Effect of metoclopramide on gastric ulceration and secretion in albino rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 297: 158-165.
- Gyires K. (1990) Morphine inhibits the ethanol-induced gastric damage in rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 306: 170-181.
- Gyires K. (1994) The role of endogenous nitric oxide in the gastroprotective action of morphine. *Eur J Pharmacol*, 255: 33-37.
- Gyires K. (2004) Neuropeptides and gastric mucosal homeostasis. *Curr Top Med Chem*, 4: 63-73.
- Gyires K. (2005) Gastric mucosal protection: from prostaglandins to gene-therapy. *Curr Med Chem*, 12: 203-215.

- Gyires K, Furst S, Farczadi E, Marton A. (1985) Morphine potentiates the gastroucerogenic effect of indometacin in rats. *Pharmacology*, 30: 25-31.
- Gyires K, Mullner K, Ronai AZ. (2000a) Functional evidence that gastroprotection can be induced by activation of central alpha(2B)-adrenoceptor subtypes in the rat. *Eur J Pharmacol*, 396: 131-135.
- Gyires K, Mullner K, Ronai AZ. (2001) Activation of central opioid receptors may induce gastric mucosal defence in the rat. *J Physiol Paris*, 95: 189-196.
- Gyires K, Ronai AZ. (2001) Supraspinal delta- and mu-opioid receptors mediate gastric mucosal protection in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*, 297: 1010-1015.
- Gyires K, Ronai AZ, Mullner K, Furst S. (2000b) Intracerebroventricular injection of clonidine releases beta-endorphin to induce mucosal protection in the rat. *Neuropharmacology*, 39: 961-968.
- Gyires K, Zadori ZS, Shujaa N, Minorics R, Falkay G, Matyus P. (2007) Analysis of the role of central and peripheral alpha2-adrenoceptor subtypes in gastric mucosal defense in the rat. *Neurochem Int*, 51: 289-296.
- Habler H, Timmermann L, Stegmann J, Janig W. (1999) Effects of nociceptin and nocistatin on antidromic vasodilatation in hairless skin of the rat hindlimb in vivo. *Br J Pharmacol*, 127: 1719-1727.
- Hackler L, Zadina JE, Ge LJ, Kastin AJ. (1997) Isolation of relatively large amounts of endomorphin-1 and endomorphin-2 from human brain cortex. *Peptides*, 18: 1635-1639.
- Halaris A, Plietz J. (2007) Agmatine : metabolic pathway and spectrum of activity in brain. *CNS Drugs*, 21: 885-900.
- Harrison LM, Kastin AJ, Zadina JE. (1998) Differential effects of endomorphin-1, endomorphin-2, and Tyr-W-MIF-1 on activation of G-proteins in SH-SY5Y human neuroblastoma membranes. *Peptides*, 19: 749-753.

Hatakeyama Y, Matsuo M, Tomoi M, Mori J, Kohsaka M. (1993) Multiple mediators and mechanisms are involved in the adaptive cytoprotection provided by certain mild irritants. *Jpn J Pharmacol*, 63: 251-256.

Hayakawa T, Zheng JQ, Yajima Y. (1997) Direct synaptic projections to esophageal motoneurons in the nucleus ambiguus from the nucleus of the solitary tract of the rat. *J Comp Neurol*, 381: 18-30.

Head GA. (1995) Importance of imidazoline receptors in the cardiovascular actions of centrally acting antihypertensive agents. *Ann N Y Acad Sci*, 763: 531-540.

Hein L. (2006) Adrenoceptors and signal transduction in neurons. *Cell Tissue Res*, 326: 541-551.

Heinemann A, Shahbazian A, Bartho L, Holzer P. (1999) Different receptors mediating the inhibitory action of exogenous ATP and endogenously released purines on guinea-pig intestinal peristalsis. *Br J Pharmacol*, 128: 313-320.

Henagan JM, Smith GS, Seidel ER, Miller TA. (1984) Influence of vagotomy on mucosal protection against alcohol-induced gastric damage in the rat. *Gastroenterology*, 87: 903-908.

Hernandez DE, Nemeroff CB, Orlando RC, Prange AJ, Jr. (1983) The effect of centrally administered neuropeptides on the development of stress-induced gastric ulcers in rats. *J Neurosci Res*, 9: 145-157.

Hernandez DE, Xue BG. (1989) Imipramine prevents stress gastric glandular lesions in rats. *Neurosci Lett*, 103: 209-212.

Hiramatsu M, Inoue K. (1999a) Effects of nocistatin on nociceptin-induced impairment of learning and memory in mice. *Eur J Pharmacol*, 367: 151-155.

Hiramatsu M, Inoue K. (1999b) Nociceptin/orphanin FQ and nocistatin on learning and memory impairment induced by scopolamine in mice. *Br J Pharmacol*, 127: 655-660.

- Ho MM, Ogle CW, Dai S. (1986) Morphine enhances gastric mucus synthesis in rats. *Eur J Pharmacol*, 122: 81-86.
- Hogaboam CM, Bissonnette EY, Chin BC, Befus AD, Wallace JL. (1993) Prostaglandins inhibit inflammatory mediator release from rat mast cells. *Gastroenterology*, 104: 122-129.
- Holzer P. (1998) Neural emergency system in the stomach. *Gastroenterology*, 114: 823-839.
- Holzer P. (2002) Sensory neurone responses to mucosal noxae in the upper gut: relevance to mucosal integrity and gastrointestinal pain. *Neurogastroenterol Motil*, 14: 459-475.
- Holzer P, Lippe IT, Jocic M, Wachter C, Erb R, Heinemann A. (1993) Nitric oxide-dependent and -independent hyperaemia due to calcitonin gene-related peptide in the rat stomach. *Br J Pharmacol*, 110: 404-410.
- Horton RW, Meldrum BS, Bachelard HS. (1973) Enzymic and cerebral metabolic effects of 2-deoxy-D-glucose. *J Neurochem*, 21: 507-520.
- Horvath G. (2000) Endomorphin-1 and endomorphin-2: pharmacology of the selective endogenous mu-opioid receptor agonists. *Pharmacol Ther*, 88: 437-463.
- Horvath G, Szikszay M, Tomboly C, Benedek G. (1999) Antinociceptive effects of intrathecal endomorphin-1 and -2 in rats. *Life Sci*, 65: 2635-2641.
- Hosohata K, Burkey TH, Alfaro-Lopez J, Varga E, Hraby VJ, Roeske WR, Yamamura HI. (1998) Endomorphin-1 and endomorphin-2 are partial agonists at the human mu-opioid receptor. *Eur J Pharmacol*, 346: 111-114.
- Houi N, Kamisaki Y, Itoh T. (1987) Effects of histamine H2 receptor antagonists on acid secretion stimulated by imidazoline derivatives in isolated parietal cells. *Eur J Pharmacol*, 144: 67-76.



- Hsu WH. (1982) Xylazine-induced delay of small intestinal transit in mice. *Eur J Pharmacol*, 83: 55-60.
- Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, Fothergill LA, Morgan BA, Morris HR. (1975) Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature*, 258: 577-580.
- Hui R, Chen T, Li YQ. (2006) The reciprocal connections of endomorphin 1- and endomorphin 2-containing neurons between the hypothalamus and nucleus tractus solitarius in the rat. *Neuroscience*, 138: 171-181.
- Improta G, Broccardo M. (1994) Effect of selective mu 1, mu 2 and delta 2 opioid receptor agonists on gastric functions in the rat. *Neuropharmacology*, 33: 977-981.
- Inoue M, Kawashima T, Allen RG, Ueda H. (2003) Nocistatin and prepro-nociceptin/orphanin FQ 160-187 cause nociception through activation of Gi/o in capsaicin-sensitive and of Gs in capsaicin-insensitive nociceptors, respectively. *J Pharmacol Exp Ther*, 306: 141-146.
- Ishihara S, Minowa S, Tsuchiya S, Horie S, Watanabe K, Murayama T. (2002) Gastric acid secretion stimulated by centrally injected nociceptin in urethane-anesthetized rats. *Eur J Pharmacol*, 441: 105-114.
- Ito S, Lacy ER, Rutten MJ, Critchlow J, Silen W. (1984) Rapid repair of injured gastric mucosa. *Scand J Gastroenterol Suppl*, 101: 87-95.
- James AN, Ryan JP, Crowell MD, Parkman HP. (2004a) Regional gastric contractility alterations in a diabetic gastroparesis mouse model: effects of cholinergic and serotonergic stimulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 287: G612-G619.
- James AN, Ryan JP, Parkman HP. (2004b) Effects of clonidine and tricyclic antidepressants on gastric smooth muscle contractility. *Neurogastroenterol Motil*, 16: 143-153.
- Janig W. (2005) Non-nicotinic transmission in autonomic ganglia revisited--an important physiological function? *J Physiol*, 566: 1-2.

- Jenck F, Moreau JL, Martin JR, Kilpatrick GJ, Reinscheid RK, Monsma FJ, Jr., Nothacker HP, Civelli O. (1997) Orphanin FQ acts as an anxiolytic to attenuate behavioral responses to stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94: 14854-14858.
- Jessop DS, Major GN, Coventry TL, Kaye SJ, Fulford AJ, Harbuz MS, De Bree FM. (2000) Novel opioid peptides endomorphin-1 and endomorphin-2 are present in mammalian immune tissues. *J Neuroimmunol*, 106: 53-59.
- Jhamandas KH, Sutak M, Henderson G. (1998) Antinociceptive and morphine modulatory actions of spinal orphanin FQ. *Can J Physiol Pharmacol*, 76: 314-324.
- Kamei J, Morita K, Saitoh A, Nagase H. (2003) The antitussive effects of endomorphin-1 and endomorphin-2 in mice. *Eur J Pharmacol*, 467: 219-222.
- Kaneko H, Yang H, Ohning G, Tache Y. (1995) Medullary TRH is involved in gastric protection induced by low dose of kainic acid into the raphe pallidus. *Am J Physiol*, 268: G548-G552.
- Karamanolis G, Tack J. (2006) Proton pump inhibitors--now and in the future. *Dig Dis*, 24: 297-307.
- Kato K, Yang H, Tache Y. (1994) Role of peripheral capsaicin-sensitive neurons and CGRP in central vagally mediated gastroprotective effect of TRH. *Am J Physiol*, 266: R1610-R1614.
- Kato K, Yang H, Tache Y. (1995) Low doses of TRH analogue act in the dorsal motor nucleus to induce gastric protection in rats. *Am J Physiol*, 269: R1301-R1307.
- Kauffman GL. (1997) Stress, the brain, and the gastric mucosa. *Am J Surg*, 174: 271-275.
- Kihara N, Fujimura M, Yamamoto I, Itoh E, Inui A, Fujimiya M. (2001) Effects of central and peripheral urocortin on fed and fasted gastroduodenal motor activity in conscious rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 280: G406-G419.
- Kimura H. (2002) Hydrogen sulfide as a neuromodulator. *Mol Neurobiol*, 26: 13-19.

King M, Chang A, Pasternak GW. (1998) Functional blockade of opioid analgesia by orphanin FQ/nociceptin. *Biochem Pharmacol*, 55: 1537-1540.

King MA, Rossi GC, Chang AH, Williams L, Pasternak GW. (1997) Spinal analgesic activity of orphanin FQ/nociceptin and its fragments. *Neurosci Lett*, 223: 113-116.

Knaus A, Zong X, Beetz N, Jahns R, Lohse MJ, Biel M, Hein L. (2007a) Direct inhibition of cardiac hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated pacemaker channels by clonidine. *Circulation*, 115: 872-880.

Knaus AE, Muthig V, Schickinger S, Moura E, Beetz N, Gilsbach R, Hein L. (2007b) Alpha2-adrenoceptor subtypes--unexpected functions for receptors and ligands derived from gene-targeted mouse models. *Neurochem Int*, 51: 277-281.

Komada T, Yano S. (2007) Pharmacological characterization of 5-Hydroxytryptamine-receptor subtypes in circular muscle from the rat stomach. *Biol Pharm Bull*, 30: 508-513.

Konturek SJ, Brzozowski T, Majka J, Dembinski A, Slomiany A, Slomiany BL. (1992) Transforming growth factor alpha and epidermal growth factor in protection and healing of gastric mucosal injury. *Scand J Gastroenterol*, 27: 649-655.

Konturek SJ, Brzozowski T, Majka J, Pytko-Polonczyk J, Stachura J. (1993) Inhibition of nitric oxide synthase delays healing of chronic gastric ulcers. *Eur J Pharmacol*, 239: 215-217.

Konturek SJ, Brzozowski T, Pytko-Polonczyk J, Drozdowicz D. (1995) Exogenous and endogenous cholecystinin protects gastric mucosa against the damage caused by ethanol in rats. *Eur J Pharmacol*, 273: 57-62.

Kromer W. (1988) Endogenous and exogenous opioids in the control of gastrointestinal motility and secretion. *Pharmacol Rev*, 40: 121-162.

Kromer W. (1990) Endogenous opioids, the enteric nervous system and gut motility. *Dig Dis*, 8: 361-373.

- Krowicki ZK, Sivarao DV, Abrahams TP, Hornby PJ. (1999) Excitation of dorsal motor vagal neurons evokes non-nicotinic receptor-mediated gastric relaxation. *J Auton Nerv Syst*, 77: 83-89.
- Kunchandy J, Khanna S, Kulkarni SK. (1985) Effect of alpha2 agonists clonidine, guanfacine and B-HT 920 on gastric acid secretion and ulcers in rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 275: 123-138.
- Kwok YN, McIntosh CH. (1990) Release of substance P-like immunoreactivity from the vascularly perfused rat stomach. *Eur J Pharmacol*, 180: 201-207.
- Labuz D, Przewlocki R, Przewlocka B. (2002) Cross-tolerance between the different mu-opioid receptor agonists endomorphin-1, endomorphin-2 and morphine at the spinal level in the rat. *Neurosci Lett*, 334: 127-130.
- Lacy ER, Ito S. (1982) Microscopic analysis of ethanol damage to rat gastric mucosa after treatment with a prostaglandin. *Gastroenterology*, 83: 619-625.
- Laine L, Takeuchi K, Tarnawski A. (2008) Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Gastroenterology*, 135: 41-60.
- Lee TL, Fung FM, Chen FG, Chou N, Okuda-Ashitaka E, Ito S, Nishiuchi Y, Kimura T, Tachibana S. (1999) Identification of human, rat and mouse nocistatin in brain and human nocistatin in brain and human cerebrospinal fluid. *Neuroreport*, 10: 1537-1541.
- Lefebvre RA, Blancquaert JP, Willems JL, Bogaert MG. (1983) In vitro study of the inhibitory effects of dopamine on the rat gastric fundus. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 322: 228-236.
- Lefebvre RA, Hasrat J, Gobert A. (1992) Influence of NG-nitro-L-arginine methyl ester on vagally induced gastric relaxation in the anaesthetized rat. *Br J Pharmacol*, 105: 315-320.
- Leontiadis GI, McIntyre L, Sharma VK, Howden CW. (2004) Proton pump inhibitor treatment for acute peptic ulcer bleeding. *Cochrane Database Syst Rev*, CD002094-

Leontiadis GI, Sharma VK, Howden CW. (2005) Systematic review and meta-analysis of proton pump inhibitor therapy in peptic ulcer bleeding. *BMJ*, 330: 568-

Leontiadis GI, Sreedharan A, Dorward S, Barton P, Delaney B, Howden CW, Orhewere M, Gisbert J, Sharma VK, Rostom A, Moayyedi P, Forman D. (2007) Systematic reviews of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of proton pump inhibitors in acute upper gastrointestinal bleeding. *Health Technol Assess*, 11: iii-164.

Levine JE, Leontiadis GI, Sharma VK, Howden CW. (2002) Meta-analysis: the efficacy of intravenous H<sub>2</sub>-receptor antagonists in bleeding peptic ulcer. *Aliment Pharmacol Ther*, 16: 1137-1142.

Li G, Regunathan S, Barrow CJ, Eshraghi J, Cooper R, Reis DJ. (1994) Agmatine: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain. *Science*, 263: 966-969.

Ligumsky M, Golanska EM, Hansen DG, Kauffman GL, Jr. (1983) Aspirin can inhibit gastric mucosal cyclo-oxygenase without causing lesions in rat. *Gastroenterology*, 84: 756-761.

Link RE, Desai K, Hein L, Stevens ME, Chruscinski A, Bernstein D, Barsh GS, Kobilka BK. (1996) Cardiovascular regulation in mice lacking alpha<sub>2</sub>-adrenergic receptor subtypes b and c. *Science*, 273: 803-805.

Link RE, Stevens MS, Kulatunga M, Scheinin M, Barsh GS, Kobilka BK. (1995) Targeted inactivation of the gene encoding the mouse alpha<sub>2c</sub>-adrenoceptor homolog. *Mol Pharmacol*, 48: 48-55.

Lippl F, Schusdziarra V, Allescher HD. (2001) Effect of endomorphin on somatostatin secretion in the isolated perfused rat stomach. *Neuropeptides*, 35: 303-309.

Liu EH, Nishiuchi Y, Kimura T, Tachibana S. (2006) Supraspinal nocistatin and its amide derivative antagonize the hyperalgesic effects of nociceptin in mice. *Neurosci Lett*, 397: 59-63.

Liu L, Coupar IM. (1996) Evidence for functional alpha<sub>2D</sub>-adrenoceptors in the rat intestine. *Br J Pharmacol*, 117: 787-792.

Liu L, Coupar IM. (1997a) Characterisation of pre- and post-synaptic alpha-adrenoceptors in modulation of the rat ileum longitudinal and circular muscle activities. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 356: 248-256.

Liu L, Coupar IM. (1997b) Involvement of alpha-2 adrenoceptors in the effects of moxonidine on intestinal motility and fluid transport. *J Pharmacol Exp Ther*, 283: 1367-1374.

Long, D, Leonard AM, Chou SN, Ferenc LA. (1962) Hypothalamus and gastric ulceration. *Arch Neurol*, 7: 167-183.

Lopez-Belmonte J, Whittle BJ, Moncada S. (1993) The actions of nitric oxide donors in the prevention or induction of injury to the rat gastric mucosa. *Br J Pharmacol*, 108: 73-78.

Ma L, del Soldato P, Wallace JL. (2002) Divergent effects of new cyclooxygenase inhibitors on gastric ulcer healing: Shifting the angiogenic balance. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99: 13243-13247.

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.

Makaritsis KP, Handy DE, Johns C, Kobilka B, Gavras I, Gavras H. (1999) Role of the alpha2B-adrenergic receptor in the development of salt-induced hypertension. *Hypertension*, 33: 14-17.

Manela FD, Ren J, Gao J, McGuigan JE, Harty RF. (1995) Calcitonin gene-related peptide modulates acid-mediated regulation of somatostatin and gastrin release from rat antrum. *Gastroenterology*, 109: 701-706.

Mansour A, Fox CA, Akil H, Watson SJ. (1995) Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. *Trends Neurosci*, 18: 22-29.

Martin-Schild S, Gerall AA, Kastin AJ, Zadina JE. (1999) Differential distribution of endomorphin 1- and endomorphin 2-like immunoreactivities in the CNS of the rodent. *J Comp Neurol*, 405: 450-471.

Masini E, Gambassi F, Bianchi S, Mugnai L, Lupini M, Pistelli A, Mannaioni PF. (1991) Effect of nitric oxide generators on ischemia-reperfusion injury and histamine release in isolated perfused guinea pig heart. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 94: 257-258.

Matsumoto J, Takeuchi K, Ueshima K, Okabe S. (1992) Role of capsaicin-sensitive afferent neurons in mucosal blood flow response of rat stomach induced by mild irritants. *Dig Dis Sci*, 37: 1336-1344.

Mayer EA, Tillisch K, Bradesi S. (2006) Review article: modulation of the brain-gut axis as a therapeutic approach in gastrointestinal disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 24: 919-933.

McConalogue K, Grady EF, Minnis J, Balestra B, Tonini M, Brecha NC, Bunnett NW, Sternini C. (1999) Activation and internalization of the mu-opioid receptor by the newly discovered endogenous agonists, endomorphin-1 and endomorphin-2. *Neuroscience*, 90: 1051-1059.

Mercer DW, Cross JM, Castaneda AA, Gunter JA. (1998) Gastroprotective actions of bombesin, L-DOPA, and mild irritants: roles of prostaglandins and sensory neurons. *Surgery*, 124: 864-870.

Meunier JC. (1997) Nociceptin/orphanin FQ and the opioid receptor-like ORL1 receptor. *Eur J Pharmacol*, 340: 1-15.

Meunier JC, Mollereau C, Toll L, Suaudeau C, Moisand C, Alvinerie P, Butour JL, Guillemot JC, Ferrara P, Monsarrat B. (1995) Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL1 receptor. *Nature*, 377: 532-535.

Miralles A, Olmos G, Sastre M, Barturen F, Martin I, Garcia-Sevilla JA. (1993) Discrimination and pharmacological characterization of I2-imidazoline sites with

[<sup>3</sup>H]idazoxan and alpha-2 adrenoceptors with [<sup>3</sup>H]RX821002 (2-methoxy idazoxan) in the human and rat brains. *J Pharmacol Exp Ther*, 264: 1187-1197.

Mizoguchi H, Watanabe H, Hayashi T, Sakurada W, Sawai T, Fujimura T, Sakurada T, Sakurada S. (2006) Possible involvement of dynorphin A-(1-17) release via mu1-opioid receptors in spinal antinociception by endomorphin-2. *J Pharmacol Exp Ther*, 317: 362-368.

Mogil JS, Grisel JE, Reinscheid RK, Civelli O, Belknap JK, Grandy DK. (1996a) Orphanin FQ is a functional anti-opioid peptide. *Neuroscience*, 75: 333-337.

Mogil JS, Grisel JE, Zhangs G, Belknap JK, Grandy DK. (1996b) Functional antagonism of mu-, delta- and kappa-opioid antinociception by orphanin FQ. *Neurosci Lett*, 214: 131-134.

Molderings GJ, Burian M, Menzel S, Donecker K, Homann J, Nilius M, Gothert M. (1999) Imidazoline recognition sites and stomach function. *Ann N Y Acad Sci*, 881: 332-343.

Mollereau C, Parmentier M, Mailleux P, Butour JL, Moisand C, Chalon P, Caput D, Vassart G, Meunier JC. (1994) ORL1, a novel member of the opioid receptor family. Cloning, functional expression and localization. *FEBS Lett*, 341: 33-38.

Mollereau C, Simons MJ, Soularue P, Liners F, Vassart G, Meunier JC, Parmentier M. (1996) Structure, tissue distribution, and chromosomal localization of the prepronociceptin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93: 8666-8670.

Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. (1991) Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*, 43: 109-142.

Monnikes H, Tebbe J, Bauer C, Lauer G, Arnold R. (1996) Microinfusion of corticotropin-releasing factor into the locus coeruleus/subcoeruleus nuclei inhibits gastric acid secretion via spinal pathways in the rat. *Brain Res*, 728: 157-165.

Morgan MM, Grisel JE, Robbins CS, Grandy DK. (1997) Antinociception mediated by the periaqueductal gray is attenuated by orphanin FQ. *Neuroreport*, 8: 3431-3434.



- 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.
- Mozsik G, Moron F, Javor T. (1982) Cellular mechanisms of the development of gastric mucosal damage and of gastrocytoprotection induced by prostacyclin in rats. A pharmacological study. *Prostaglandins Leukot Med*, 9: 71-84.
- Mullner K, Gyires K, Furst S. (2001) Involvement of the opioid system in the central antisecretory action of alpha-2 adrenoceptor agonists in rat. *J Physiol Paris*, 95: 209-214.
- Murphy NP, Lee Y, Maidment NT. (1999) Orphanin FQ/nociceptin blocks acquisition of morphine place preference. *Brain Res*, 832: 168-170.
- Mutoh H, Ota S, Hiraishi H, Ivey KJ, Terano A, Sugimoto T. (1995) Adaptive cytoprotection in cultured rat gastric mucus-producing cells. Role of mucus and prostaglandin synthesis. *Dig Dis Sci*, 40: 872-878.
- Nakamura K, Rokutan K, Marui N, Aoike A, Kawai K. (1991) Induction of heat shock proteins and their implication in protection against ethanol-induced damage in cultured guinea pig gastric mucosal cells. *Gastroenterology*, 101: 161-166.
- Narita M, Ozaki S, Ioka M, Mizoguchi H, Nagase H, Tseng LF, Suzuki T. (2001) Different motivational effects induced by the endogenous mu-opioid receptor ligands endomorphin-1 and -2 in the mouse. *Neuroscience*, 105: 213-218.
- Neal CR, Jr., Mansour A, Reinscheid R, Nothacker HP, Civelli O, Akil H, Watson SJ, Jr. (1999a) Opioid receptor-like (ORL1) receptor distribution in the rat central nervous system: comparison of ORL1 receptor mRNA expression with (125)I-[(14)Tyr]-orphanin FQ binding. *J Comp Neurol*, 412: 563-605.
- Neal CR, Jr., Mansour A, Reinscheid R, Nothacker HP, Civelli O, Watson SJ, Jr. (1999b) Localization of orphanin FQ (nociceptin) peptide and messenger RNA in the central nervous system of the rat. *J Comp Neurol*, 406: 503-547.

- Nishimura E, Buchan AM, McIntosh CH. (1986) Autoradiographic localization of mu- and delta-type opioid receptors in the gastrointestinal tract of the rat and guinea pig. *Gastroenterology*, 91: 1084-1094.
- Noble EP, Wurtman RJ, Axelrod J. (1967) A simple and rapid method for injecting H<sup>3</sup>-norepinephrine into the lateral ventricle of the rat brain. *Life Sci*, 6: 281-291.
- Nothacker HP, Reinscheid RK, Mansour A, Henningsen RA, Ardati A, Monsma FJ, Jr., Watson SJ, Civelli O. (1996) Primary structure and tissue distribution of the orphanin FQ precursor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93: 8677-8682.
- Ohsawa M, Mizoguchi H, Narita M, Chu M, Nagase H, Tseng LF. (2000) Differential mechanisms mediating descending pain controls for antinociception induced by supraspinally administered endomorphin-1 and endomorphin-2 in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther*, 294: 1106-1111.
- Ohsawa M, Mizoguchi H, Narita M, Nagase H, Kampine JP, Tseng LF. (2001a) Differential antinociception induced by spinally administered endomorphin-1 and endomorphin-2 in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther*, 298: 592-597.
- Ohsawa M, Shiraki M, Mizoguchi H, Narita M, Kawai K, Nagase H, Cheng EY, Narita M, Tseng LF. (2001b) Release of [Met<sup>5</sup>]enkephalin from the spinal cord by intraventricularly administered endomorphin-2, but not endomorphin-1 in the anesthetized rat. *Neurosci Lett*, 316: 1-4.
- Okuda-Ashitaka E, Ito S. (2000) Nocistatin: a novel neuropeptide encoded by the gene for the nociceptin/orphanin FQ precursor. *Peptides*, 21: 1101-1109.
- Okuda-Ashitaka E, Minami T, Tachibana S, Yoshihara Y, Nishiuchi Y, Kimura T, Ito S. (1998) Nocistatin, a peptide that blocks nociceptin action in pain transmission. *Nature*, 392: 286-289.
- Olson GA, Olson RD, Vaccarino AL, Kastin AJ. (1998) Endogenous opiates: 1997. *Peptides*, 19: 1791-1843.

- Olszewski PK, Shaw TJ, Grace MK, Billington CJ, Levine AS. (2000) Nocistatin inhibits food intake in rats. *Brain Res*, 872: 181-187.
- Osinski MA, Bass P, Gaumnitz EA. (1999a) Peripheral and central actions of orphanin FQ (nociceptin) on murine colon. *Am J Physiol*, 276: G125-G131.
- Osinski MA, Pampusch MS, Murtaugh MP, Brown DR. (1999b) Cloning, expression and functional role of a nociceptin/orphanin FQ receptor in the porcine gastrointestinal tract. *Eur J Pharmacol*, 365: 281-289.
- Osumi Y, Aibara S, Sakae K, Fujiwara M. (1977) Central noradrenergic inhibition of gastric mucosal blood flow and acid secretion in rats. *Life Sci*, 20: 1407-1416.
- Ozaki S, Kawamoto H, Itoh Y, Miyaji M, Azuma T, Ichikawa D, Nambu H, Iguchi T, Iwasawa Y, Ohta H. (2000) In vitro and in vivo pharmacological characterization of J-113397, a potent and selective non-peptidyl ORL1 receptor antagonist. *Eur J Pharmacol*, 402: 45-53.
- Pajdo R, Brzozowski T, Konturek PC, Kwiecien S, Konturek SJ, Sliwowski Z, Pawlik M, Ptak A, Drozdowicz D, Hahn EG. (2001) Ischemic preconditioning, the most effective gastroprotective intervention: involvement of prostaglandins, nitric oxide, adenosine and sensory nerves. *Eur J Pharmacol*, 427: 263-276.
- Palkovits M. (1999) Interconnections between the neuroendocrine hypothalamus and the central autonomic system. Geoffrey Harris Memorial Lecture, Kitakyushu, Japan, October 1998. *Front Neuroendocrinol*, 20: 270-295.
- Palkovits M, Eskay RL. (1987) Distribution and possible origin of beta-endorphin and ACTH in discrete brainstem nuclei of rats. *Neuropeptides*, 9: 123-137.
- Parmar NS, Tariq M, Ageel AM. (1987) Studies on the possible mechanism of morphine-induced potentiation of the gastroucerogenic effect of indomethacin in rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 289: 149-160.
- Patil PN, Ishikawa H. (2004) Antimuscarinic action of oxymetazoline on human intraocular muscles. *J Ocul Pharmacol Ther*, 20: 328-332.

Paton WD, Vizi ES. (1969) The inhibitory action of noradrenaline and adrenaline on acetylcholine output by guinea-pig ileum longitudinal muscle strip. *Br J Pharmacol*, 35: 10-28.

Pierce TL, Grahek MD, Wessendorf MW. (1998) Immunoreactivity for endomorphin-2 occurs in primary afferents in rats and monkey. *Neuroreport*, 9: 385-389.

Polidori C, Massi M, Guerrini R, Grandi D, Lupo D, Morini G. (2005) Peripheral mechanisms involved in gastric mucosal protection by intracerebroventricular and intraperitoneal nociceptin in rats. *Endocrinology*, 146: 3861-3867.

Pomonis JD, Billington CJ, Levine AS. (1996) Orphanin FQ, agonist of orphan opioid receptor ORL1, stimulates feeding in rats. *Neuroreport*, 8: 369-371.

Przewlocka B, Mika J, Labuz D, Toth G, Przewlocki R. (1999) Spinal analgesic action of endomorphins in acute, inflammatory and neuropathic pain in rats. *Eur J Pharmacol*, 367: 189-196.

Raasch W, Regunathan S, Li G, Reis DJ. (1995) Agmatine is widely and unequally distributed in rat organs. *Ann N Y Acad Sci*, 763: 330-334.

Rainsford KD, Willis C. (1982) Relationship of gastric mucosal damage induced in pigs by antiinflammatory drugs to their effects on prostaglandin production. *Dig Dis Sci*, 27: 624-635.

Ray A, Henke PG, Sullivan RM. (1990) Effects of intra-amygdalar thyrotropin releasing hormone (TRH) and its antagonism by atropine and benzodiazepines during stress ulcer formation in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 36: 597-601.

Raybould HE, Jakobsen LJ, Novin D, Tache Y. (1989) TRH stimulation and L-glutamic acid inhibition of proximal gastric motor activity in the rat dorsal vagal complex. *Brain Res*, 495: 319-328.

Reinscheid RK, Ardati A, Monsma FJ, Jr., Civelli O. (1996) Structure-activity relationship studies on the novel neuropeptide orphanin FQ. *J Biol Chem*, 271: 14163-14168.

Reinscheid RK, Nothacker HP, Bourson A, Ardati A, Henningsen RA, Bunzow JR, Grandy DK, Langen H, Monsma FJ, Jr., Civelli O. (1995) Orphanin FQ: a neuropeptide that activates an opioidlike G protein-coupled receptor. *Science*, 270: 792-794.

Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Davis JP, Field SO, Hanchar AJ. (1983) Mild irritants prevent gastric necrosis through "adaptive cytoprotection" mediated by prostaglandins. *Am J Physiol*, 245: G113-G121.

Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Hanchar AJ. (1979) Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury. *Gastroenterology*, 77: 433-443.

Robert A, Nezamis JE, Phillips JP. (1967) Inhibition of gastric secretion by prostaglandins. *Am J Dig Dis*, 12: 1073-1076.

Rogers RC, Hermann GE. (1985) Vagal afferent stimulation-evoked gastric secretion suppressed by paraventricular nucleus lesion. *J Auton Nerv Syst*, 13: 191-199.

Rogers RC, Hermann GE, Travagli RA. (1999) Brainstem pathways responsible for oesophageal control of gastric motility and tone in the rat. *J Physiol*, 514 ( Pt 2): 369-383.

Ronai AZ, Gyires K, Barna I, Mullner K, Palkovits M. (2001) Neonatal monosodium glutamate treatment abolishes both delta opioid receptor-induced and alpha-2 adrenoceptor-mediated gastroprotection in the lower brainstem in rats. *J Physiol Paris*, 95: 215-220.

Ronai AZ, Timar J, Mako E, Erdo F, Gyarmati Z, Toth G, Orosz G, Furst S, Szekely JI. (1999) Diprotin A, an inhibitor of dipeptidyl aminopeptidase IV(EC 3.4.14.5) produces naloxone-reversible analgesia in rats. *Life Sci*, 64: 145-152.

Rosa-e-Silva, Troncon LE, Oliveira RB, Iazigi N, Gallo L, Jr., Foss MC. (1995) Treatment of diabetic gastroparesis with oral clonidine. *Aliment Pharmacol Ther*, 9: 179-183.

Ruwart MJ, Klepper MS, Rush BD. (1980) Clonidine delays small intestinal transit in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*, 212: 487-490.

Sakurada C, Sakurada S, Hayashi T, Katsuyama S, Tan-No K, Sakurada T. (2003) Degradation of endomorphin-2 at the supraspinal level in mice is initiated by dipeptidyl peptidase IV: an in vitro and in vivo study. *Biochem Pharmacol*, 66: 653-661.

Sakurada S, Zadina JE, Kastin AJ, Katsuyama S, Fujimura T, Murayama K, Yuki M, Ueda H, Sakurada T. (1999) Differential involvement of mu-opioid receptor subtypes in endomorphin-1- and -2-induced antinociception. *Eur J Pharmacol*, 372: 25-30.

Salazar-Bookaman MM, Miller DD, Patil PN. (2006) Antagonism by imidazoline-type drugs of muscarinic and other receptors in the guinea-pig ileum. *Auton Autacoid Pharmacol*, 26: 267-273.

Sallinen J, Haapalinna A, Viitamaa T, Kobilka BK, Scheinin M. (1998) Adrenergic alpha2C-receptors modulate the acoustic startle reflex, prepulse inhibition, and aggression in mice. *J Neurosci*, 18: 3035-3042.

Salvemini D, Misko TP, Masferrer JL, Seibert K, Currie MG, Needleman P. (1993) Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90: 7240-7244.

Sanchez-Blazquez P, DeAntoio I, Rodriguez-Diaz M, Garzon J. (1999) Antisense oligodeoxynucleotide targeting distinct exons of the cloned mu-opioid receptor distinguish between endomorphin-1 and morphine supraspinal antinociception in mice. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev*, 9: 253-260.

Sandin J, Georgieva J, Schott PA, Ogren SO, Terenius L. (1997) Nociceptin/orphanin FQ microinjected into hippocampus impairs spatial learning in rats. *Eur J Neurosci*, 9: 194-197.

Sandin J, Ogren SO, Terenius L. (2000) Endomorphin-2 but not Leu-enkephalin modulates spatial learning when microinjected in the CA3 region of the rat hippocampus. *Neuroreport*, 11: 3659-3662.

- Saunders C, Limbird LE. (1999) Localization and trafficking of alpha2-adrenergic receptor subtypes in cells and tissues. *Pharmacol Ther*, 84: 193-205.
- Sawamura S, Kingery WS, Davies MF, Agashe GS, Clark JD, Kobilka BK, Hashimoto T, Maze M. (2000) Antinociceptive action of nitrous oxide is mediated by stimulation of noradrenergic neurons in the brainstem and activation of [alpha]2B adrenoceptors. *J Neurosci*, 20: 9242-9251.
- Scheinin H, Virtanen R, MacDonald E, Lammintausta R, Scheinin M. (1989) Medetomidine--a novel alpha 2-adrenoceptor agonist: a review of its pharmacodynamic effects. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 13: 635-651.
- Scheinin M, Sallinen J, Haapalinna A. (2001) Evaluation of the alpha2C-adrenoceptor as a neuropsychiatric drug target studies in transgenic mouse models. *Life Sci*, 68: 2277-2285.
- Schoeffter P, Hoyer D. (1991) Interaction of the alpha-adrenoceptor agonist oxymetazoline with serotonin 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT1C and 5-HT1D receptors. *Eur J Pharmacol*, 196: 213-216.
- Schulz S, Schreff M, Nuss D, Gramsch C, Hollt V. (1996) Nociceptin/orphanin FQ and opioid peptides show overlapping distribution but not co-localization in pain-modulatory brain regions. *Neuroreport*, 7: 3021-3025.
- Scoto GM, Parenti C. (1993) Prevention of stress-induced gastric ulcers by mu- and delta-opioid agonists in the rat. *J Physiol Paris*, 87: 385-388.
- Scoto GM, Santangelo N, Parenti C. (2005) Effect of supraspinal Nocistatin on Nociceptin/Orphanin FQ antagonism of selective opioid analgesia. *Neurosci Lett*, 387: 126-129.
- Searcy DG, Lee SH. (1998) Sulfur reduction by human erythrocytes. *J Exp Zool*, 282: 310-322.

Seiler R, Rickenbacher A, Shaw S, Balsiger BM. (2005) alpha- and beta-adrenergic receptor mechanisms in spontaneous contractile activity of rat ileal longitudinal smooth muscle. *J Gastrointest Surg*, 9: 227-235.

Sen T, Abdulsalam CA, Pal S, Sen S, Karmakar S, Saravanan KS, Chaudhuri AK. (2002) Effect of amitriptyline on gastric ulceration. *Fundam Clin Pharmacol*, 16: 311-315.

Shahbazian A, Schuligoi R, Heinemann A, Peskar BA, Holzer P. (2001) Disturbance of peristalsis in the guinea-pig isolated small intestine by indomethacin, but not cyclooxygenase isoform-selective inhibitors. *Br J Pharmacol*, 132: 1299-1309.

Shane R, Wilk S, Bodnar RJ. (1999) Modulation of endomorphin-2-induced analgesia by dipeptidyl peptidase IV. *Brain Res*, 815: 278-286.

Shi M, Jones AR, Niedringhaus MS, Pearson RJ, Biehl AM, Ferreira M, Jr., Sahibzada N, Verbalis JG, Gillis RA. (2003) Glucose acts in the CNS to regulate gastric motility during hypoglycemia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 285: R1192-R1202.

Shimohigashi Y, Hatano R, Fujita T, Nakashima R, Nose T, Sujaku T, Saigo A, Shinjo K, Nagahisa A. (1996) Sensitivity of opioid receptor-like receptor ORL1 for chemical modification on nociceptin, a naturally occurring nociceptive peptide. *J Biol Chem*, 271: 23642-23645.

Shirasaka T, Kunitake T, Kato K, Takasaki M, Kannan H. (1999) Nociceptin modulates renal sympathetic nerve activity through a central action in conscious rats. *Am J Physiol*, 277: R1025-R1032.

Sibilia V, Rindi G, Pagani F, Rapetti D, Locatelli V, Torsello A, Campanini N, Deghenghi R, Netti C. (2003) Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology*, 144: 353-359.

Silverstein FE, Graham DY, Senior JR, Davies HW, Struthers BJ, Bittman RM, Geis GS. (1995) Misoprostol reduces serious gastrointestinal complications in patients with rheumatoid arthritis receiving nonsteroidal anti-inflammatory drugs. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med*, 123: 241-249.



- Sim LJ, Liu Q, Childers SR, Selley DE. (1998) Endomorphin-stimulated [35S]GTPgammaS binding in rat brain: evidence for partial agonist activity at mu-opioid receptors. *J Neurochem*, 70: 1567-1576.
- Singh J. (1980) Prostaglandin release from rat stomach following vagal stimulation or administration of acetylcholine. *Eur J Pharmacol*, 65: 39-48.
- Snyder SH. (1982) A multiplicity of opiate receptors and enkephalin neuronal systems. *J Clin Psychiatry*, 43: 9-12.
- Speroni E, Govoni P, Guizzardi S, Ferri S. (1996) The opioid peptide DAMME modulates histamine's content in gastric mucosa of the rat. *Peptides*, 17: 957-964.
- Stack WA, Atherton JC, Hawkey GM, Logan RF, Hawkey CJ. (2002) Interactions between *Helicobacter pylori* and other risk factors for peptic ulcer bleeding. *Aliment Pharmacol Ther*, 16: 497-506.
- Stalnikowicz R, Rachmilewitz D. (1993) NSAID-induced gastroduodenal damage: is prevention needed? A review and metaanalysis. *J Clin Gastroenterol*, 17: 238-243.
- Sternini C. (2001) Receptors and transmission in the brain-gut axis: potential for novel therapies. III. Mu-opioid receptors in the enteric nervous system. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 281: G8-15.
- Stone LS, Fairbanks CA, Laughlin TM, Nguyen HO, Bushy TM, Wessendorf MW, Wilcox GL. (1997) Spinal analgesic actions of the new endogenous opioid peptides endomorphin-1 and -2. *Neuroreport*, 8: 3131-3135.
- Storr M, Gaffal E, Schusdziarra V, Allescher HD. (2002) Endomorphins 1 and 2 reduce relaxant non-adrenergic, non-cholinergic neurotransmission in rat gastric fundus. *Life Sci*, 71: 383-389.
- Stroff T, Lambrecht N, Peskar BM. (1994) Nitric oxide as mediator of the gastroprotection by cholecystinin-8 and pentagastrin. *Eur J Pharmacol*, 260: R1-R2.

- Stroff T, Plate S, Ebrahim JS, Ehrlich KH, Respondek M, Peskar BM. (1996) Tachykinin-induced increase in gastric mucosal resistance: role of primary afferent neurons, CGRP, and NO. *Am J Physiol*, 271: G1017-G1027.
- Stroff T, Plate S, Respondek M, Muller KM, Peskar BM. (1995) Protection by gastrin in the rat stomach involves afferent neurons, calcitonin gene-related peptide, and nitric oxide. *Gastroenterology*, 109: 89-97.
- Sun RQ, Zhao CS, Wang HJ, Jing Z, Wang W, Yang K, Wang Y, Chang JK, Han JS. (2001) Nocistatin, a peptide reversing acute and chronic morphine tolerance. *Neuroreport*, 12: 1789-1792.
- Svanes K, Gislason H, Guttu K, Herfjord JK, Fevang J, Gronbech JE. (1991) Role of blood flow in adaptive protection of the cat gastric mucosa. *Gastroenterology*, 100: 1249-1258.
- Swanson LW, Kuypers HG. (1980) A direct projection from the ventromedial nucleus and retrochiasmatic area of the hypothalamus to the medulla and spinal cord of the rat. *Neurosci Lett*, 17: 307-312.
- Szabo B. (2002) Imidazoline antihypertensive drugs: a critical review on their mechanism of action. *Pharmacol Ther*, 93: 1-35.
- Szekely JI, Ronai AZ, Dunai-Kovacs Z, Graf L, Bajusz S. (1977) C-terminal fragment (residues 61-91) of beta-lipotropin: is it the natural opiate-like neurohormon of the brain? *Experientia*, 33: 54-55.
- Tache Y, Grijalva CV, Gunion MW, Walsh JH, Novin D. (1982) Stimulation of gastric secretion by acute lateral hypothalamic lesions and its reversal by intracisternal injection of bombesin. *Life Sci*, 31: 2485-2491.
- Tache Y, Yoneda M. (1993) Central action of TRH to induce vagally mediated gastric cytoprotection and ulcer formation in rats. *J Clin Gastroenterol*, 17 Suppl 1: S58-S63.
- Tack J. (2008) Prokinetics and fundic relaxants in upper functional GI disorders. *Curr Opin Pharmacol*, 8: 690-696.

Tack J, Caenepeel P, Corsetti M, Janssens J. (2004) Role of tension receptors in dyspeptic patients with hypersensitivity to gastric distention. *Gastroenterology*, 127: 1058-1066.

Tack J, Coulie B, Wilmer A, Andrioli A, Janssens J. (2000) Influence of sumatriptan on gastric fundus tone and on the perception of gastric distension in man. *Gut*, 46: 468-473.

Takahashi Y, Satoh K, Sakumoto T, Tohyama M, Shimizu N. (1979) A major source of catecholamine terminals in the nucleus tractus solitarius. *Brain Res*, 172: 372-377.

Takemura K, Takada K, Mameya S, Kaibara M, Taniyama K. (1999) Regional and functional differences of 5-hydroxytryptamine-receptor subtypes in guinea pig stomach. *Jpn J Pharmacol*, 79: 41-49.

Tanaka T, Guth P, Tache Y. (1993) Role of nitric oxide in gastric hyperemia induced by central vagal stimulation. *Am J Physiol*, 264: G280-G284.

Tanila H, Kauppila T, Taira T. (1993) Inhibition of intestinal motility and reversal of postlaparotomy ileus by selective alpha 2-adrenergic drugs in the rat. *Gastroenterology*, 104: 819-824.

Tarnawski A, Brzozowski T, Sarfeh IJ, Krause WJ, Ulich TR, Gergely H, Hollander D. (1988) Prostaglandin protection of human isolated gastric glands against indomethacin and ethanol injury. Evidence for direct cellular action of prostaglandin. *J Clin Invest*, 81: 1081-1089.

Tesson F, Limon I, Parini A. (1992) Tissue-specific localization of mitochondrial imidazoline-guanidinium receptive sites. *Eur J Pharmacol*, 219: 335-338.

Thumshirn M, Camilleri M, Choi MG, Zinsmeister AR. (1999) Modulation of gastric sensory and motor functions by nitrenergic and alpha2-adrenergic agents in humans. *Gastroenterology*, 116: 573-585.

Tian JH, Xu W, Fang Y, Mogil JS, Grisel JE, Grandy DK, Han JS. (1997a) Bidirectional modulatory effect of orphanin FQ on morphine-induced analgesia:

antagonism in brain and potentiation in spinal cord of the rat. *Br J Pharmacol*, 120: 676-680.

Tian JH, Xu W, Zhang W, Fang Y, Grisel JE, Mogil JS, Grandy DK, Han JS. (1997b) Involvement of endogenous orphanin FQ in electroacupuncture-induced analgesia. *Neuroreport*, 8: 497-500.

Tian JH, Zhang W, Fang Y, Xu W, Grandy DK, Han JS. (1998) Endogenous orphanin FQ: evidence for a role in the modulation of electroacupuncture analgesia and the development of tolerance to analgesia produced by morphine and electroacupuncture. *Br J Pharmacol*, 124: 21-26.

Till M, Gati T, Rabai K, Szombath D, Szekeley JI. (1988) Effect of [D-Met<sup>2</sup>,Pro<sup>5</sup>]enkephalinamide on gastric ulceration and transmucosal potential difference. *Eur J Pharmacol*, 150: 325-330.

Tonini M, Fiori E, Balestra B, Spelta V, D'Agostino G, Di Nucci A, Brecha NC, Sternini C. (1998) Endomorphin-1 and endomorphin-2 activate mu-opioid receptors in myenteric neurons of the guinea-pig small intestine. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 358: 686-689.

Travagli RA, Gillis RA, Vicini S. (1992) Effects of thyrotropin-releasing hormone on neurons in rat dorsal motor nucleus of the vagus, in vitro. *Am J Physiol*, 263: G508-G517.

Travagli RA, Hermann GE, Browning KN, Rogers RC. (2006) Brainstem circuits regulating gastric function. *Annu Rev Physiol*, 68: 279-305.

Tseng LF, Narita M, Suganuma C, Mizoguchi H, Ohsawa M, Nagase H, Kampine JP. (2000) Differential antinociceptive effects of endomorphin-1 and endomorphin-2 in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther*, 292: 576-583.

Ueda H, Amano H, Shiomi H, Takagi H. (1979) Comparison of the analgesic effects of various opioid peptides by a newly devised intracisternal injection technique in conscious mice. *Eur J Pharmacol*, 56: 265-268.

- Ueda H, Yamaguchi T, Tokuyama S, Inoue M, Nishi M, Takeshima H. (1997) Partial loss of tolerance liability to morphine analgesia in mice lacking the nociceptin receptor gene. *Neurosci Lett*, 237: 136-138.
- Ukai M, Watanabe Y, Kameyama T. (2001) Endomorphins 1 and 2, endogenous mu-opioid receptor agonists, impair passive avoidance learning in mice. *Eur J Pharmacol*, 421: 115-119.
- Umezawa T, Guo S, Jiao Y, Hisamitsu T. (2003) Effect of clonidine on colonic motility in rats. *Auton Neurosci*, 107: 32-36.
- Utkan T, Ulak G, Yildiran HG, Yardimoglu M, Gacar MN. (2000) Investigation on the mechanism involved in the effects of agmatine on ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Life Sci*, 66: 1705-1711.
- Verplanken PA, Lefebvre RA, Bogaert MG. (1984) Pharmacological characterization of alpha adrenoceptors in the rat gastric fundus. *J Pharmacol Exp Ther*, 231: 404-410.
- Vigano D, Rubino T, Parolaro D. (2005) Molecular and cellular basis of cannabinoid and opioid interactions. *Pharmacol Biochem Behav*, 81: 360-368.
- Waldum HL, Gustafsson B, Fossmark R, Qvigstad G. (2005) Antiulcer drugs and gastric cancer. *Dig Dis Sci*, 50 Suppl 1: S39-S44.
- Wallace JL. (2006) Nitric oxide, aspirin-triggered lipoxins and NO-aspirin in gastric protection. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 5: 133-137.
- Wallace JL, de LO, Jr., Fiorucci S. (2005) Lipoxins in gastric mucosal health and disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 73: 251-255.
- Wallace JL, Granger DN. (1996) The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. *FASEB J*, 10: 731-740.
- Wallace JL, McKnight W, Reuter BK, Vergnolle N. (2000) NSAID-induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology*, 119: 706-714.

- Wang JB, Johnson PS, Imai Y, Persico AM, Ozenberger BA, Eppler CM, Uhl GR. (1994) cDNA cloning of an orphan opiate receptor gene family member and its splice variant. *FEBS Lett*, 348: 75-79.
- Wang YQ, Zhu CB, Wu GC, Cao XD, Wang Y, Cui DF. (1999) Effects of orphanin FQ on endomorphin-1 induced analgesia. *Brain Res*, 835: 241-246.
- Wehkamp J, Schaubert J, Stange EF. (2007) Defensins and cathelicidins in gastrointestinal infections. *Curr Opin Gastroenterol*, 23: 32-38.
- Weingarten HP, Powley TL. (1980) Ventromedial hypothalamic lesions elevate basal and cephalic phase gastric acid output. *Am J Physiol*, 239: G221-G229.
- Whittle BJ, Lopez-Belmonte J, Moncada S. (1990) Regulation of gastric mucosal integrity by endogenous nitric oxide: interactions with prostanoids and sensory neuropeptides in the rat. *Br J Pharmacol*, 99: 607-611.
- Wikberg JE, Uhlen S, Chhajlani V. (1991) Medetomidine stereoisomers delineate two closely related subtypes of idazoxan (imidazoline) I-receptors in the guinea pig. *Eur J Pharmacol*, 193: 335-340.
- Wilson AM, Soignier RD, Zadina JE, Kastin AJ, Nores WL, Olson RD, Olson GA. (2000) Dissociation of analgesic and rewarding effects of endomorphin-1 in rats. *Peptides*, 21: 1871-1874.
- Wu HE, Hung KC, Mizoguchi H, Fujimoto JM, Tseng LF. (2001) Acute antinociceptive tolerance and asymmetric cross-tolerance between endomorphin-1 and endomorphin-2 given intracerebroventricularly in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther*, 299: 1120-1125.
- Xu IS, Hashemi M, Calo G, Regoli D, Wiesenfeld-Hallin Z, Xu XJ. (1999) Effects of intrathecal nocistatin on the flexor reflex and its interaction with orphanin FQ nociceptin. *Neuroreport*, 10: 3681-3684.
- Xu L, Okuda-Ashitaka E, Matsumura S, Mabuchi T, Okamoto S, Sakimura K, Mishina M, Ito S. (2007) Signal pathways coupled to activation of neuronal nitric oxide synthase in the spinal cord by nociceptin/orphanin FQ. *Neuropharmacology*, 52: 1318-1325.

- Xu XJ, Hao JX, Wiesenfeld-Hallin Z. (1996) Nociceptin or antinociceptin: potent spinal antinociceptive effect of orphanin FQ/nociceptin in the rat. *Neuroreport*, 7: 2092-2094.
- Yanagisawa K, Tache Y. (1990) Intracisternal TRH analogue RX 77368 stimulates gastric histamine release in rats. *Am J Physiol*, 259: G599-G604.
- Yang H, Kawakubo K, Tache Y. (1999) Intracisternal PYY increases gastric mucosal resistance: role of cholinergic, CGRP, and NO pathways. *Am J Physiol*, 277: G555-G562.
- Yazdani A, Takahashi T, Bagnol D, Watson SJ, Owyang C. (1999) Functional significance of a newly discovered neuropeptide, orphanin FQ, in rat gastrointestinal motility. *Gastroenterology*, 116: 108-117.
- Yelken B, Dorman T, Erkasap S, Dundar E, Tanriverdi B. (1999) Clonidine pretreatment inhibits stress-induced gastric ulcer in rats. *Anesth Analg*, 89: 159-162.
- Yokotani K, Osumi Y. (1998) Involvement of mu-receptor in endogenous opioid peptide-mediated inhibition of acetylcholine release from the rat stomach. *Jpn J Pharmacol*, 78: 93-95.
- Yoneda M, Tache Y. (1992) Central thyrotropin-releasing factor analog prevents ethanol-induced gastric damage through prostaglandins in rats. *Gastroenterology*, 102: 1568-1574.
- Yuan L, Han Z, Chang JK, Han JS. (1999) Accelerated release and production of orphanin FQ in brain of chronic morphine tolerant rats. *Brain Res*, 826: 330-334.
- Zadina JE, Hackler L, Ge LJ, Kastin AJ. (1997) A potent and selective endogenous agonist for the mu-opiate receptor. *Nature*, 386: 499-502.
- Zeilhofer HU, Selbach UM, Guhring H, Erb K, Ahmadi S. (2000) Selective suppression of inhibitory synaptic transmission by nocistatin in the rat spinal cord dorsal horn. *J Neurosci*, 20: 4922-4929.

Zhang JF, Zheng F. (1997) The role of paraventricular nucleus of hypothalamus in stress-ulcer formation in rats. *Brain Res*, 761: 203-209.

Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O, Luo CW, Rauch R, Klein C, Hsueh AJ. (2005) Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science*, 310: 996-999.

Zhao CS, Li BS, Zhao GY, Liu HX, Luo F, Wang Y, Tian JH, Chang JK, Han JS. (1999) Nocistatin reverses the effect of orphanin FQ/nociceptin in antagonizing morphine analgesia. *Neuroreport*, 10: 297-299.

Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. (2001) The vasorelaxant effect of H<sub>2</sub>S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. *The EMBO Journal*, 21: 6008-6016.



## **9. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE**

### **A doktori munka témájával összefüggő publikációk:**

Balogh B, Jojart B, Wágner Zs, Kovács P, Máté G, Gyires K, Zádori Z, Falkay Gy, Márki Á, Viskolcz B, Mátyus P. (2007) 3D QSAR models for  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonists. *Neurochemistry Int*, 51(5): 268-276.

Fulop K, Zadori Z, Ronai AZ, Gyires K. (2005) Characterisation of  $\alpha_2$ -adrenoceptor subtypes involved in gastric emptying, gastric motility and gastric mucosal defence. *Eur J Pharm*, 528(1-3): 150-157.

Gyires K, Zádori Z. (2008) Analysis of central mechanisms involved in gastric mucosal integrity. *Neuropsychopharmacol Hung*, 10(3): 121-125.

Gyires K, Zádori ZS, Rácz B, László J. (2008) Pharmacological analysis of inhomogeneous static magnetic field-induced antinociceptive action in the mouse. *Bioelectromagnetics*, 29(6): 456-462.

Gyires K, Zadori ZS, Shujaa N, Minorics R, Falkay G, Matyus P. (2007) Analysis of the role of central and peripheral  $\alpha_2$ -adrenoceptor subtypes in gastric mucosal defense in the rat. *Neurochem Int*, 51(5): 289-296.

Zádori ZS, Shujaa N, Köles L, Király KP, Tekes K, Gyires K. (2008) Nocistatin and nociceptin given centrally induce opioid-mediated gastric mucosal protection. *Peptides*, 29(12): 2257-2265.

Zadori ZS, Shujaa N, Fulop K, Dunkel P, Gyires K. (2007) Pre- and postsynaptic mechanisms in the clonidine- and oxymetazoline-induced inhibition of gastric motility in the rat. *Neurochem Int*, 51(5): 297-305.

### **A doktori munka témájához nem kapcsolódó publikációk:**

Gerevich Z, Zadori Z, Müller C, Wirkner K, Schröder W, Rubini P, Illes P. (2007) Metabotropic P2Y receptors inhibit P2X3 receptor-channels via G protein-dependent facilitation of their desensitization. *Br J Pharm*, 151(2): 226-236.

Gerevich Z, Zadori ZS, Köles L, Kopp L, Milius D, Wirkner K, Gyires K, Illes P. (2007) Dual effect of acid pH on purinergic P2X3 receptors depends on the histidine-206 residue. *J Biol Chem*, 282(47): 33949-33957.

Fischer W, Zadori Z, Kullnick Y, Groger-Arndt H, Franke H, Wirkner K, Illes P, Mager PP. (2007) Conserved lysin and arginin residues in the extracellular loop of P2X(3) receptors are involved in agonist binding. *Eur J Pharmacol*, 576(1-3): 7-17.

Köles L, Gerevich Z, Oliveira JF, Zadori ZS, Wirkner K, Illes P. (2008) Interaction of P2 purinergic receptors with cellular macromolecules. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 377(1): 1-33.

Wirkner K, Stanchev D, Milius D, Hartmann L, Kato E, Zadori ZS, Mager PP, Rubini P, Nörenberg W, Illes P. (2008) Regulation of the pH sensitivity of human P2X receptors by N-linked glycosylation. *J Neurochem*, 107(5):1216-1224.

### **Folyóiratban megjelent idézhető előadáskivonatok:**

Aricó G, Zádori Z, Shujaa N, Tekes K, Gyires K. (2007) Endogenous opioids may mediate the centrally-induced gastroprotective action of nociceptin and nocistatin. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, XLV: 5, A3.

Fülöp K, Nada SA, Müllner K, Zádori Z, Nyul Sz, Gyires K. (2002) Endomorphin-1 and endomorphin-2 induce gastroprotective effect in the rat. *Acta Physiologica Hungarica*, 89: 1-3.

Fülöp K, Zádori Z, Gyires K, Rónai AZ. (2004) The role of  $\alpha$ -2 adrenoceptors in gastric emptying in rats. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 18: Supp. 1.

Fülöp K, Zádori Z, Nada AS, Gyires K. (2002) Central GABA receptors mediate gastric mucosal defence in the rat. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, XL: 5, 20.

Fülöp K, Zádori Z, Rónai A, Gyires K. (2004) Different effect of clonidine on 2-deoxy-D-glucose-stimulated gastric motor function after central or peripheral administration in anesthetised rat. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, XLII: 5, 33.

Gyires K, Fülöp K, Zádori Z. (2005) I1-imidazoline receptor/ $\alpha$ 2-adrenoceptor mediated gastroprotection. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, XLIII: 5, 35.

Gyires K, Fülöp K, Zádori Z. (2004) Involvement of NMDA and AMPA receptors in opioid-induced central gastric mucosal protection in the rat. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 18: Supp. 1.

Gyires K, Fülöp K, Zádori Z. (2004) Role of central nitric oxide in gastroprotection. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, XLII: 5, 39.

Gyires K, Fülöp K, Zádori Z, Nyul Sz, Müllner K. (2002) N-methyl-D-aspartate (NMDA)-induced gastroprotective effect involves both opioid and GABAergic pathways. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, XL: 5, 20.

Shujaa N, Zádori Z, Gyires K. (2007) Pharmacological analysis of cannabinoid-induced inhibition of gastric mucosal damage and gastric motility. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, XLV: 5, A92.

Zádori Z, Fülöp K, Gyires K. (2004) Possible involvement of nitric oxide in the inhibition of gastric emptying induced by intracerebroventricular administration of clonidine in conscious rat. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, XLII: 5, 182.

Zádori Z, Fülöp K, Gyires K, Rónai AZ. (2004) Endogenous opioids may mediate the centrally induced gastroprotective effect of N-methyl-D-aspartate (NMDA). *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 18: Supp. 1.

Zádori Z, Fülöp K, Székács D, Fekete M, Tihanyi M, Kalász H, Gyires K. (2005) Role of adrenergic system in centrally induced gastroprotection of opioids. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, XLIII: 5, 168.

Zádori Z, Shujaa N, Rónai A, Gyires K. (2008) The role of central endogenous opioid system in the regulation of gastric mucosal integrity. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, XLVI: 5, A125.

## **10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

A kísérleteket a Semmelweis Egyetem Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézetében végeztem.

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik munkám során segítséget nyújtottak számomra:

Dr. Gyires Klára Professzor Asszonynak, aki kezdetben mint gyakorlatvezetőm, majd mint témavezetőm megismertette velem a farmakológia tudományát és mindvégig segítségemre volt,

Dr. Füst Zsuzsanna Professzor Asszonynak, a Farmakológiai Intézet korábbi igazgatójának, aki lehetővé tette, hogy doktori munkámat elkezdhessem az intézetben,

Dr. Peter Holzer Professzornak, akinek laborjában (Grazi Egyetem, Experimentális és Klinikai Farmakológiai Intézet) kísérleteim egy részét elvégezhettem,

Dr. Rónai Andrásnak a számos értékes szakmai és gyakorlati tanácsért,

Dr. Tímár Júliának a doktori munkámmal kapcsolatos értékes javaslataiért,

Shujaa Nashwannak, Dr. Fülöp Katalinnak és Szalai Istvánnának a kísérletek elvégzése során nyújtott segítségükért,

Balogh Jenőnek, Gulyás Antalnak, Péter Sámuelnek és az intézet valamennyi dolgozójának,

és végül, de nem utolsósorban családomnak türelmükért és bátorításukért.

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