

Farmakológiai vizsgálatok izolált vékonybélben

Mérési feladatok és a jegyzőkönyvbe kerülő adatok

A mérések célja:

A gyakorlaton Magnus-féle izolált bélkacs preparátum segítségével dózis-hatás vizsgálatokat végzünk muszkarinos acetilkolin-receptor agonista (acetilkolin; ACh) és kompetitív antagonistá (atropin) segítségével.

A mérések megvalósítása:

A mérések előtt előre kiszámoljuk az adagolandó drogok dózisaihoz tartozó térfogatokat. A megfelelő térfogatokat pipetta segítségével közvetlenül a Tyrode-oldattal feltöltött kamrába adjuk, amelyben a béldarabka is elhelyezkedik.

A kamra térfogatát 20 ml-nek vesszük.

Az acetilkolin molekulatömege 181,66 g/mol, 10^{-3} g/ml és 10^{-4} g/ml a törzsoldatok koncentrációja.

Az atropin molekulatömege 289,32 g/mol, 10^{-4} g/ml a törzsoldat koncentrációja.

A mérésekhez szükséges drogadagolások elvégzéséhez egészítse ki az alábbi táblázatot!

kamra térfogat (mikroliter)	ACh törzsoldat (10^{-4} g/ml) moláris koncentrációja (mikromol/ml)	ACh törzsoldat (10^{-3} g/ml) moláris koncentrációja (mikromol/ml)	kívánt kamrai ACh koncentráció (mikroM)	szükséges ACh anyagmennyiség (mikromol)	ACh térfogat a törzsoldatból (mikroliter)	adagolandó térfogat (mikroliter)
20000	0,550		0,0625	0,00125	2,3	2,3
			0,125	0,0025		
			0,25	0,005		
			0,5	0,01		
			1	0,02		
			2	0,04		
			4	0,08		
	8	0,16				
	16	0,32	58,1	58,1		
	32	0,64				
	64	1,28				
128	2,56					
256	5,12					
kamra térfogat (mikroliter)	atropin törzsoldat (10^{-4} g/ml) moláris koncentrációja (mikromol/ml)	kívánt kamra atropin koncentráció (mikroM)	szükséges atropin anyagmennyiség (mikromol)	atropin térfogat a törzsoldatból (mikroliter)		
20000	0,346	0,025	0,0005	1,4		
		0,1				

A drogok hozzáadásával a kamrában lévő folyadéktérfogat nő, ami miatt a kamrában valóságosan kialakuló droggkoncentrációk némileg kisebbek lesznek a táblázatban szereplőknél. Ettől a pontatlanságtól jelen esetben eltekintünk.

1. Acetilcolin (ACh) kumulatív dózis-hatás görbéjének felvétele atropin nélkül:

1 percenként történő adagolással az alábbi kumulatív acetilcolin-dózisokat alakítjuk ki a kamrában: 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32 μM .

A különböző dózisok beadásának időpontját az Analyze programban a „marker” gomb megnyomásával rögzítjük.

A mérés végeztével a kamrát kétszer, mindkét alkalommal 50 ml Tyrode-oldattal átmoszuk és 10 percet várakozunk, hogy a preparátum regenerálódjon.

2. ACh kumulatív dózis-hatás görbéjének felvétele atropinnal történt előkezelés után:

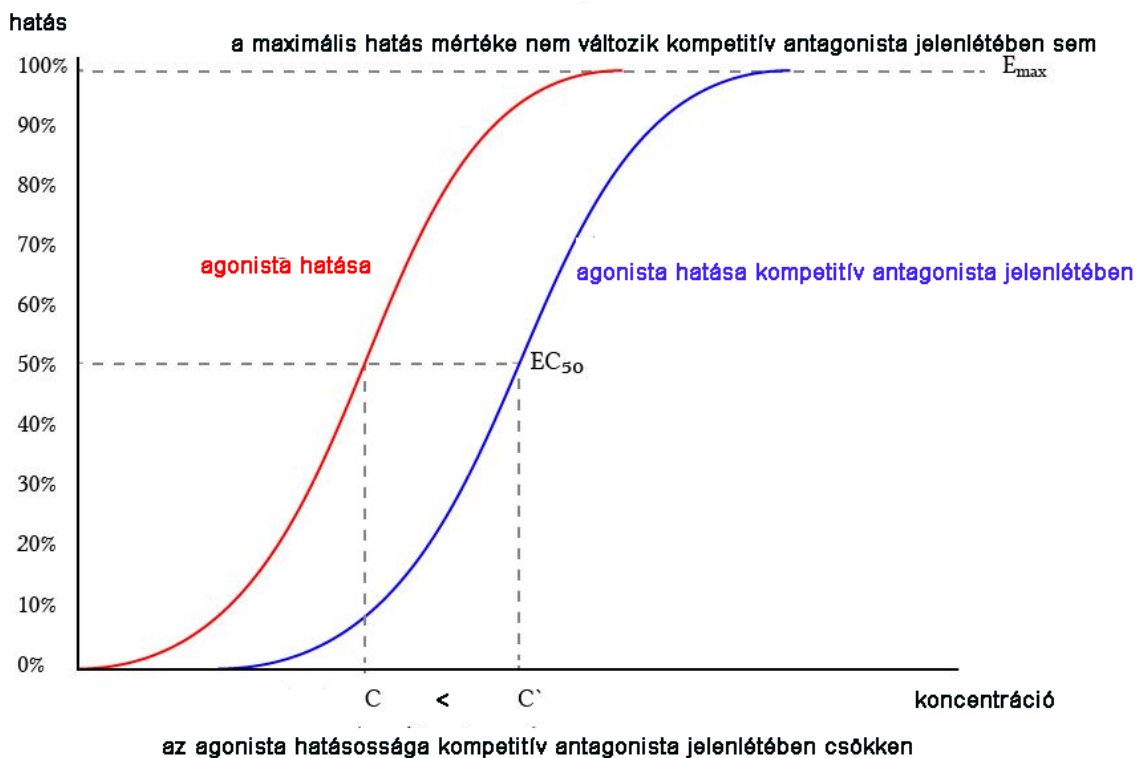
- a) A kamrában előzetesen 0,025 μM atropin koncentrációt alakítunk ki. Ezt követően az 1. feladatnak megfelelő módon adagoljuk az acetilcolint, az egyes anyagadások időpontját itt is rögzítjük. *Az atropin hatása miatt nagyobb koncentrációk alkalmazására is szükség lehet (lásd táblázat).*

A mérés végeztével a kamrát kétszer, mindkét alkalommal 50 ml Tyrode-oldattal átmoszuk és 10 percet várakozunk, hogy a preparátum regenerálódjon.

- b) A kamrában előzetesen 0,1 μM atropin koncentrációt alakítunk ki. Ezt követően az 1. feladatnak megfelelő módon adagoljuk az acetilcolint, az egyes anyagadások időpontját itt is rögzítjük.

Kiértékelés:

A kiértékelés során a mért változó („hatás”) a **tónus változása** lesz. Az 1. feladatban az első acetilcolin-beadást megelőző (kezeletlen) alapszakaszhoz képest, a 2. a) és 2.b) feladatban pedig az atropinnal előkezelt állapothoz, mint alapszakaszhoz képest határozza meg a tónus változását!



1. ábra Antagonista hatása az agonista dózis-hatás görbéjére

Határozza meg az alapszakaszok tónusértékeit, majd határozza meg a tónus értékeket minden egyes acetilkolin-adagolást követő 1 perces időszakból. Határozza meg minden egyes agonista dózisonál az alapszakaszhoz képest látható tónuskülönbséget!

Közös grafikonon ábrázolja a μmol -ban megadott dózis függvényében a tónus változását az agonista önmagában történt alkalmazásakor és a két különböző koncentrációjú antagonistával történt előkezelés utáni agonista hatáskor!

Az antagonistával történt előkezelés után az agonista dózis-hatás görbéje jobbra tolódik (**1. ábra**), tehát a maximális hatás felét létrehozó dózis (EC_{50}) értéke nagyobb lesz, arányosan az előkezelés során kialakított antagonistá dózissal.

Egy online kalkulátor segítségével mindhárom esetben határozza meg az agonista EC_{50} értékét! Ehhez keresse fel az alábbi oldalt:

<https://www.aatbio.com/tools/ec50-calculator>

Az oldalon a „*Data1*” mezőbe másolja be az adatokat két oszlopba (dózis és hatás) rendezve, majd nyomja meg a „*Calculate EC50*” gombot! Jegyezze fel az EC_{50} értéket, és az oldal által kirajzolt dózis-hatás grafikont is mellékelje a jegyzőkönyvhöz! A grafikonra kattintva a „*Kép másolása*” opciót választva a grafikon tetszőleges helyre beilleszthető a jegyzőkönyvben.

A kalkulátor használatára azért van szükség, mert a hallgatók által elérhető táblázatkezelő-adatábrázoló programokban a mérési adatokra történő szigmoid görbeillesztés és az EC_{50} érték kiszámítása csak bonyolultan valósítható meg.

Határozza meg az agonista EC_{50} értékét mindhárom feladat (1., 2a és 2b) esetében! Szövegesen értelmezze a kapott változásokat, vesse össze azokat a várt eredményekkel!