

A noradrenalin szerepe a gerincvelő sérülése
és érzéstelenítése kapcsán kialakuló neurotoxicitásban
és a fogpulpa homeosztázisában

Doktori értekezés

Dr. Borbély Zoltán

Semmelweis Egyetem
Klinikai orvostudományok Doktori Iskola



- Témavezető: Dr. Varga Gábor, az MTA doktora, egyetemi tanár
Konzulens: Dr. Vizi E. Szilveszter, az MTA r. tagja, egyetemi tanár
Hivatalos bírálók: Dr. Hársing László, az MTA doktora,
tudományos tanácsadó
Dr. Szalma József, PhD, egyetemi docens
Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Fábián Tibor, CSc, egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Rakonczay Zoltán, DSc, egyetemi tanár
Dr. Rózsa Noémi Katinka, PhD, egyetemi docens

Budapest
2017

TARTALOMJEGYZÉK

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	5
2. BEVEZETÉS	6
2.1. Noradrenerg ingerületátvitel	8
2.2. A noradrenalin szerepe a gerincvelői sérülésben.....	12
2.2.1. A gerincvelő anatómiája és noradrenerg beidegzése	12
2.2.2. A gerincvelői sérülés primer és szekunder tényezői	13
2.2.3. Neurotoxicitás	14
2.2.4. A noradrenalin potenciális szerepe az excitotoxicitásban.....	14
2.2.5. Glutamát okozta excitotoxicitás a gerincvelőben.....	15
2.2.6. A noradrenalin bomlástermékeinek neurotoxicitása	16
2.3. Helyi érzéstelenítő szerek hatása a noradrenalin felszabadulására.....	17
2.3.1. A helyi érzéstelenítő szerek hatásmechanizmusa.....	17
2.3.2. A helyi érzéstelenítők lokális mellékhatásai	19
2.3.3. A helyi érzéstelenítők noradrenalin felszabadulást serkentő hatása	19
2.3.4. A noradrenalin hatása a gerincvelői fájdalomérző pályára	19
2.4. A noradrenalin szerepe a fogpulpa homeosztázisában	20
2.4.1. A fogpulpa fejlődése, anatómiája és beidegzése	21
2.4.2. A noradrenalin szerepe a pulpa véráramlásának szabályozásában	25
2.4.3. A noradrenalin szerepe a pulpa gyulladósos folyamataiban	26
2.4.4. A noradrenalin szerepe a pulpa fájdalomérzetének módosításában.....	27
3. CÉLKITŰZÉSEK	28
4. MÓDSZEREK	29
4.1. Gerincvelői sértés	29
4.1.1. Kísérleti állatok	29

4.1.2. Műtéti eljárás.....	30
4.1.3. Gerincvelői szövet preparálása.....	30
4.1.4. [³ H]noradrenalin jelölés	31
4.1.5. Noradrenalin felvétel mérése és számítása.....	31
4.1.6. Stimulált noradrenalin felszabadulás	32
4.1.7. Frakcionális noradrenalin felszabadulás mérése és számítása	33
4.1.8. Elektronmikroszkópos vizsgálatok	33
4.1.9. Statisztikai elemzés	34
4.2. Helyi érzéstelenítés	34
4.3. Fogpulpa	35
4.3.1. Fogpulpa izolálása.....	35
4.3.2. [³ H]noradrenalin jelölés	36
4.3.3. Stimulált noradrenalin felszabadulás	36
4.3.4. Noradrenalin felvétel és frakcionális felszabadulás mérése és számítása.....	36
5. EREDMÉNYEK	37
5.1. Gerincvelői sértés	37
5.1.1. Funkciós és makroszkópos változások.....	37
5.1.2. [³ H]noradrenalin felvétel.....	37
5.1.3. [³ H]noradrenalin felszabadulás a kontroll kísérletekben	38
5.1.4. Gerincvelői sértés hatása a [³ H]noradrenalin felszabadulásra	39
5.1.5. Uptake gátlás hatása a [³ H]noradrenalin felszabadulásra	40
5.1.6. Elektronmikroszkópos felvételek.....	42
5.2. Helyi érzéstelenítés	42
5.2.1. [³ H]noradrenalin felszabadulás a kontroll kísérletekben	42
5.2.2. Ioncsatorna gátlás hatása a [³ H]noradrenalin felszabadulásra	43
5.3. Fogpulpa	44

6. MEGBESZÉLÉS	47
6.1. Gerincvelői sértés	47
6.1.1. Noradrenalin felszabadulás változása	47
6.1.2. Noradrenalin felvétel változása	48
6.1.3. Kölcsönhatás a noradrenalin és glutamát felszabadulás között	49
6.2. Helyi érzéstelenítés	50
6.2.1. A lidocain koncentrációja a gerincvelő érzéstelenítésekor	50
6.2.2. A Na ⁺ - és K ⁺ -csatornák szerepe	50
6.2.3. A magas noradrenalin koncentráció jelentősége	52
6.3. Fogpulpa	52
7. KÖVETKEZTETÉSEK	55
8. ÖSSZEFOGLALÁS	56
9. SUMMARY	57
10. IRODALOMJEGYZÉK	58
11. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE	79
12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	80

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

[³ H]NA	trícium-noradrenalin
4-AP	4-aminopiridin
AMPA	α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-izoxazolpropionsav
ATP	adenozin-trifoszfát
CGRP	calcitonin-gén függő peptid
COMT	katekol-O-metil-transzferáz
DOPAL	3,4-dihidroxifenilacetaldehid
DOPEGAL	3,4-dihidroxifenilglikolaldehid
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav
EGTA	etilén-glikol-tetraecetsav
FR	fractional release (frakcionális transzmitter felszabadulás)
FRR	fractional release resting (nyugalmi frakcionális felszabadulás)
FRS	fractional release stimulated (stimulált frakcionális felszabadulás)
GABA	gamma-amino-vajsav
IP ₃	inozitol-triszfoszfát
L1	lumbalis 1. (csigolya vagy gerincvelői szegmens)
MAO	monoamin-oxidáz
n.	nervus
NET	noradrenalin transzporter
NMDA	N-metil-D-aszpartát
NPY	neuropeptid Y
NRI	noradrenaline reuptake inhibitor
nucl.	nucleus
PLC	foszfolipáz C
S1	sacralis 1. (csigolya vagy gerincvelői szegmens)
SD	standard deviáció (szórás)
TTX	tetrodotoxin

2. BEVEZETÉS

A noradrenalinnek fontos szerepe van testünk homeosztázisában mint központi és vegetatív idegrendszeri neurotranszmitter és a véráram útján terjedő hormon. Elsődleges feladata az ember ébrenléti, készenléti állapotának, illetve stressz- és veszélyhelyzetekre adott reakcióinak szabályozása (Berridge és mtsai 2012, Sara és Bouret 2012).

A számtalan fiziológias hatása mellett a noradrenalinnek azonban neurotoxikus hatása is ismert, vagyis a transzmitter túlzott mértékű felszabadulása a környező idegsejtek károsodásához, elhalásához vezethet (Burke és mtsai 2004). Ilyen túlzott noradrenalin-felszabadulást okozhat például, mint a jelen értekezésben bemutatott vizsgálataink bizonyítják, a gerincvelő traumás sérülése, illetve rosszul kivitelezett érzéstelenítése is.

Az idegrendszeri betegségek kezelése egyre nagyobb hányadát teszi ki az egészségügyi ellátásnak. A növekvő prevalencia egyik indoka az állandósuló stressz és a várható élettartam kitolódása, melynek köszönhetően néhány, korábban ritkábbnak számító betegség, mint az Alzheimer-kór, ma már az idősebb generáció tömegeit érinti. Csak Európában közel 800 milliárd euróra (\approx 250 billió forint) becsülik ezen betegségek gyógyításából és a munkakiesésből eredő éves költségét, ami több, mint az összes többi betegség költségei együttvéve (Gustavsson és mtsai 2011). Ezekre a kihívásokra keresnek megoldást az olyan nagyszabású kutatási programok, mint az európai Human Brain Project (\approx 370 milliárd forint), az USA BRAIN Initiative (\approx 850 milliárd forint) és a magyar Nemzeti Agykutatási Program (12 milliárd forint).

A gerincvelő baleseti sérüléseinek ugyancsak folyamatosan növekvő incidenciája van. Világszinten 180 000-re becsülik az új sérülések számát évente (Lee és mtsai 2014, Jazayeri és mtsai 2015). A növekedés oka azonban másban keresendő, mint a legtöbb idegrendszeri betegségnél. Elsősorban arra vezethető vissza, hogy világszerte egyre többen közlekednek autóval vagy motorral, így a közlekedési balesetek száma is egyre magasabb, amely a gerincvelői sérülések közel felét okozza. A sérülésben érintettek kétharmada ráadásul 30 év alatti, így a baleset következményei az egész életüket végigkísérik, több évtizeden keresztül ellátásra szorulnak (Park és mtsai 2004, Cripps és mtsai 2011). A balesetet szenvedettek számára a legnagyobb probléma azonban az, hogy a jelenleg elérhető terápiás beavatkozások, bár javítanak az érintettek túlélési esélyein és

életminőségén, az idegi funkciókban nem tudnak érdemi javulást elérni (Yilmaz és mtsai 2015). A gerincvelő sérültek így egész életükben ágyhoz vagy kerekesszékekhez kötötté válnak.

A gerincvelői sérülés gyógyítását az idegszövet korlátozott regenerációs képességén túl számos szekunder károsító tényező nehezíti, mint az ischaemia, a gyulladás és a neurotranszmitterek túlzott mértékű felszabadulásából adódó úgynevezett excitotoxikus hatás (Liu és mtsai 1990, Woiciechowsky és mtsai 1998, Liu és mtsai 1999, Nakai és mtsai 1999, Elenkov és mtsai 2000, Sumiya és mtsai 2001, Zhang és mtsai 2013). Mindezek szoros kölcsönhatásban állnak a noradrenalin felszabadulásával, ezért a transzmitternek fontos szerepe lehet a gerincvelői sérülés patomechanizmusában, így a terápiás beavatkozásoknak is potenciális célpontja lehet.

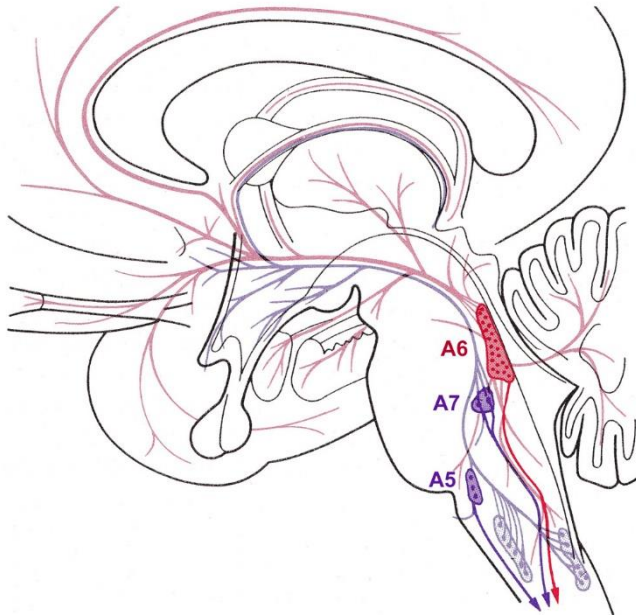
A helyi érzéstelenítésben ugyancsak fontos lehet az érzéstelenítő szer hatása a noradrenalin felszabadulására. Gerincvelő preparátumon végzett vizsgálatok bizonyították, hogy a Na^+ - és K^+ -csatornákat blokkoló lidocain jelentősen megnövelheti a noradrenalin felszabadulását, ami a K^+ -csatorna gátlásával van összefüggésben (Uchihashi és mtsai 1998). Ez egyrészt elősegítheti annak érzéstelenítő és érszűkítő hatását, másrészt viszont toxikus hatása is lehet a környező idegszövetekre és hozzájárulhat a szisztémás mellékhatásaihoz, ami indikáció lehet a szer alternatívája, pl. az artocain használatára (Kamisaki és mtsai 1993, Moller és Covino 1993, Burke és mtsai 2004, Szabó és mtsai 2007).

A noradrenalinnak a vegetatív idegrendszeri és hormonális szabályozás révén fontos szerepe van a szájüregi szövetek, így a fogpulpa homeosztázisának szabályozásában is. A pulpának nincsen „szelektív” szimpatikus beidegzése, vagyis csak egy szisztémás szimpatikus tónus részeként szabadul fel benne noradrenalin, ami nyugalmi, fiziológiai körülmények között minimális mértékű (Tønder és Naess 1978, Aars és mtsai 1992, Olgart 1996). A fog és a parodontium gyulladással járó folyamataiban azonban fontos szerepet játszhat a noradrenalin, hiszen bizonyítottan hatással van a pulpa vérkeringésére, a periapikális elváltozás méretére és a terciér dentin termelésére, de még a fogszabályozás közbeni gyökérfelszívódás mértékére is (Haug és Heyeraas 2006).

2.1. Noradrenerg ingerületátvitel

A noradrenalint termelő sejtek lokalizációjuk szerint három csoportra oszthatóak:

1) A központi idegrendszeri noradrenerg sejtek az alsó agytörzsben helyezkednek el. Bár a központi idegrendszer neuronjainak kevesebb, mint egymilliomod részét teszik ki, felszálló és leszálló rostjaik az agy és a gerincvelő valamennyi területét beidegzik. Három ponto-spinalis pálya adja a gerincvelő azonos oldali noradrenerg beidegzését, ezek az A5, A6 (locus coeruleus) és A7 sejtcsoportokból erednek (Clark és Proudfit 1991, Bruinstroop és mtsai 2012) (1. ábra). A noradrenerg sejtek közel fele, kb. 36 300 darab a locus coeruleusban helyezkedik el (Mouton és mtsai 1994).

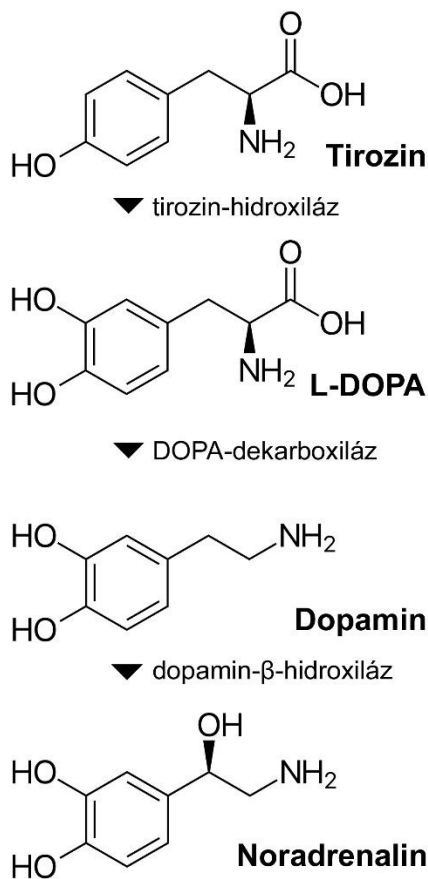


1. ábra. A központi idegrendszer noradrenerg sejtcsoportjai. Élénk színnel jelöltek a gerincvelőbe rostokat küldő sejtcsoportok: A5, A6 (locus coeruleus) és A7. (Forrás: Vizi 2002, módosításokkal)

2) A perifériás idegrendszeri noradrenerg sejtek a szimpatikus idegrendszer postganglionaris neuronjai, melyek a legtöbb szervnek, így a fogpulpának is szimpatikus beidegzést biztosítanak.

3) Noradrenalin ezen kívül a mellékvesevelő kromaffin sejtjei termelnek, melyek fejlődésüket és beidegzésüket tekintve is szimpatikus postganglionaris neuronokhoz hasonlóak, a noradrenalin azonban hormonként, a véráramba ürítik.

A noradrenalin többlépéses folyamat során egy nem-esszenciális aminosavból, a tirozinból keletkezik. Szintézisének első lépései a citoszolban történnek, itt alakul át a tirozin L-DOPA-vá, majd dopaminná. A dopamin transzport útján a transzmitter vezikulumokba kerül és itt történik meg a dopamin - noradrenalin átalakulás (2. ábra). A vezikulumok mérete 10-100 nm között változik annak függvényében, hogy található-e benne neuropeptid kotranszmitter is, ami a noradrenalin mellett a neuropeptid Y (NPY) szokott lenni. (Vizi 2002, Ádám 2004).



2. ábra. A noradrenalin szintézise tirozinból. Az első két lépés a citoszolban, a harmadik a noradrenerg vezikulumokban történik. (A szerző ábrája)

A neurotranszmitter felszabadulása ezt követően két módon történhet a központi idegrendszerben és a periférián egyaránt: szinaptikusan vagy nem-szinaptikusan (Vizi 1984, Jackson és Cunnane 2001, Vizi és mtsai 2010).

Szinaptikus ingerületátvitel esetén az idegsejten végigterjedő depolarizációs hullám Ca^{2+} -beáramlást indít meg, amelynek hatására a vezikulumok átmenetileg egybeolvadnak a plazmamembránnal és a transzmitter egy jól körülhatárolt szinaptikus részbe ürülve kötődik a posztszinaptikus idegsejt receptoraihoz, így továbbítva az ingerületet. Ez a folyamat pontos, gyors jelátvitelt biztosít.

Nem-szinaptikus ingerületátvitel esetén a transzmitter a szinapszisoktól távolabb, az extracelluláris térbe ürül, majd diffúzióval jut el a környező idegsejtekhez. A felszabadulás helyei az idegsejt ágszerkezete mentén található varicositasok, melyek rendelkeznek a szinapszisokban végződő végkészülékek jellemző sejtösszetevőivel, és amelyekből például a hippocampust beidegző minden egyes noradrenerg sejtnek 170 000 darab van (Vizi és Kiss 1998). Ennek köszönhetően az ingerület hatására felszabaduló noradrenalin nem csak egyetlen posztszinaptikus sejtre van hatással, hanem egy nagyobb területen elhelyezkedő neuronhálózat működését szabályozza, és a szinaptikus ingerületátvitelhez képes lényegesen tartósabb hatást fejt ki.

A nem-szinaptikus transzmitter felszabadulásnak három fő mechanizmusa létezik:

1) A depolarizációs hullám, Ca^{2+} -beáramlás és vezikuláris ürítés által megvalósuló transzmitter felszabadulás a szinaptikus folyamathoz hasonló, elsősorban lokalizációjában különbözik attól. A noradrenalin esetében az NPY kotranszmitter tartalmú vezikulumok jellemzően így ürülnek. Ilyen nem-szinaptikus, vezikuláris transzmitter felszabadulás a periférián is előfordul, például a simaizomkontrakció szabályozásában, és feltehetőleg a fogpulpában is.

2) A noradrenalin uptake-ért (felvételért) felelős transzporter reverz működése következtében szintén kijuthat a transzmitter az extracelluláris térbe. Ez a folyamat az extracelluláris Ca^{2+} -koncentrációtól független. Elsősorban patológiás, pl. ischaemiás folyamatokban fontos, de fiziológias szerepe is lehet.

3) Nagy mennyiségű szinaptikus transzmitter felszabadulásnál a noradrenalin egy része „túlfolyhat” a szinaptikus részből, így a transzmitter a szinapszisban szabadul fel, de hatását már extraszinaptikus receptorokon fejti ki.

A noradrenalin a központi idegrendszerben elsősorban nem-szinaptikusan szabadul fel. Így lehetséges, hogy a noradrenerg sejtek viszonylag alacsony számuk ellenére az egész agy ébrenléti, készenléti tónusát szabályozzák és olyan szempontból is logikusnak mondható, hogy a noradrenalin által közvetített hatások nem igényelnek gyors, pontos ingerületátvitelt.

A receptor kötődés ezt követően szintén lehetséges szinaptikusan vagy nem-szinaptikusan (Vizi 2000). Az adrenerg receptoroknak α_1 , α_2 , β_1 , β_2 és β_3 típusai ismertek, mindegyik metabotrop, G-fehérje kapcsolt.

- Az α_1 típusú receptoroknak van vélhetően a legfontosabb szerepük a vizsgálatunkban leírt gerincvelői folyamatokban. Ezek PLC \rightarrow IP₃ jeltávitel révén Ca²⁺-ot szabadítanak fel főleg az endoplazmás retikulumból, így növelve az intracelluláris Ca²⁺-szintet.

- Az α_2 receptoroknak ezzel szemben gátló hatása van, az adenil cikláz enzim inaktiválásával csökkentik a cAMP-szintet, ezáltal a Ca²⁺-csatornák vezetőképességét is. Ennek, mint később látni fogjuk, fontos szerepe van a noradrenalin fájdalomcsillapító hatásában. Preszinaptikusan elhelyezkedve az α_2 receptorok negatív visszacsatolás útján gátolják a noradrenalin felszabadulását.

- A β receptorok mind aktiválják az adenil cikláz enzimet, így növelve a cAMP-szintet. Az α receptorok mellett többek között a pulpa véráramlásában játszanak szerepet (Kim és mtsai 1989).

A felszabadult noradrenalint uptake 1 útján a szinapszis környezetében elhelyezkedő noradrenalin transzporter (angolul norepinephrine transporter, NET) Na⁺-Cl⁻-kotranszport útján veszi fel újra az idegsejtbe a Na⁺-grádiens terhére. A transzporter működése patológiás viszonyok között megfordulhat, aminek később látni fogjuk a jelentőségét. A noradrenalint a környező szövetek (pl. endothel és simaizom) is felvehetik, ezt uptake 2-nek hívjuk. A sejten belül végül újra felhasználódik a transzmitter, vagy lebontják a monoamin-oxidáz (MAO) illetve katekol-O-metil-transzferáz (COMT) enzimek (Vizi 2002).

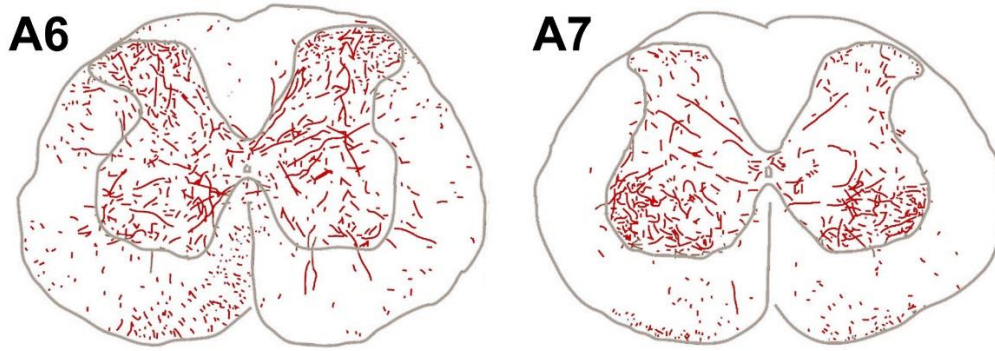
2.2. A noradrenalin szerepe a gerincvelői sérülésben

2.2.1. A gerincvelő anatómiája és noradrenerg beidegzése

A gerincvelő a központi idegrendszer koponyán kívüli része, melynek elsődleges feladata az agy és a perifériás idegrendszer közötti összeköttetés és a perifériás reflexívek biztosítása, illetve a közvetített ingerület módosítása. Felnőttekben kb. kisujjni vastagságú és 45 cm hosszan húzódik a gerincsatornában. A felső, illetve alsó végtagokat ellátó idegágak kilépésének magasságában egy-egy kiszélesedés található a gerincvelőn, ezek az intumescentia cervicalis és lumbalis. Az emberi gerincvelő 31 szegmensből áll: 8 cervicalis, 12 thoracalis, 5 lumbalis, 5 sacralis és 1 coccygealis. Ezek a csigolyákhoz képest eltolódva helyezkednek el, ami annak köszönhető, hogy a gerincvelő hossznövekedése elmarad a gerincoszlopétól (Réthelyi 2002, Hajdu 2004).

Keresztmetszeti képen a gerincvelő külső részét alkotja a fehérállomány, melyben az afferens (felszálló) és efferens (leszálló) idegpályák futnak, a belső részt pedig a pillangó alakú szürkeállomány foglalja el, melyben a neuronok sejttestjei találhatóak. A szürkeállomány hátsó szarva elsősorban érző beidegzést, az elülső szarva pedig motoros beidegzést közvetít. A közöttük található kisebb, oldalsó szarv és a centrális szürkeállomány szerteágazó funkcióval bír, itt találhatóak a szimpatikus praeganglionaris neuronok is (ezek transzmittere az acetilkolin, noradrenalint a postganglionaris neuronok szabadítanak fel). Akárcsak az agyban, a noradrenalin a gerincvelőben is többségében nem-szinaptikusan szabadul fel (Ridet 1993, Vizi 2010).

A gerincvelőt beidegző noradrenerg idegrostok az agytörzs azonos oldali A5, A6 és A7 sejtcsoportjaiból erednek és a szürkeállomány nagy részéhez adnak idegvégződéseket (Clark és Proudfit 1991, Holstege és Bongers 1991, Shapiro 1997, Hajdu 2004, Bruinstroop és mtsai 2012, Kuraishi 2015). A sejtcsoportok eltérő arányban küldenek rostokat a gerincvelő egyes részeihez (3. ábra). Az A6 sejtcsoport (locus coeruleus) adja a hátsó szarv noradrenerg rostjainak nagy részét, ezért ennek lehet a legnagyobb szerepe a fájdalomérzet módosításában, míg az A7 sejtcsoport rostjai az elülső szarvon végződve a motoros működést befolyásolják (Howorth és mtsai 2009, Bruinstroop és mtsai 2012). Az A5 sejtcsoport elsősorban a szimpatikus praeganglionaris neuronokat befolyásolja, ezért a lumbalis szegmensekhez már kevés idegrost jut.



3. ábra. *Noradrenerg idegrostok eloszlása a gerincvelő lumbalis szakaszán. Megfigyelhető az egyes noradrenerg sejtcsoportok (A6 és A7, vö. 1. ábra) eltérő végződési területe a szürkeállományban. (Forrás: Bruinstroop és mtsai 2012, módosításokkal)*

2.2.2. A gerincvelői sérülés primer és szekunder tényezői

A gerincvelő primer sérülését az idegszövet zúzódása, kompressziója, az éles csonttörmelék általi szakadása és a vér-agy gát sérülése jellemzi (Tator 1995). A primer, mechanikai sérülésen felül azonban számos másodlagos tényező is hozzájárul a gerincvelő funkcióvesztéséhez és a krónikus fájdalomhoz. Ezek közé tartozik az ischaemia, a lokális gyulladás és ödéma, a szabadgyökök felszabadulása és a túlzott neurotranszmitter-felszabadulás excitotoxikus hatása (Tator és Fehlings 1991, Wrathall és mtsai 1992, Sumiya és mtsai 2001, Park és mtsai 2004, Liu és Xu 2012, Padro és Sanders 2014, Yilmaz és mtsai 2015), melyek nekrozis vagy apoptózis útján sejtelhaláshoz vezetnek.

A szekunder károsító tényezők közül a gyulladás, az ischaemia és az excitotoxicitás erős kölcsönhatásban állnak a noradrenalin felszabadulásával, és a transzmitter lokális és szisztémás immunmoduláns hatással is bír (Woiciechowsky és mtsai 1998, Elenkov és mtsai 2000, Vizi és mtsai 2002, Prass és mtsai 2003, Meisel és mtsai 2005, Zhang és mtsai 2013, Zuo és mtsai 2016). Korábbi in vitro vizsgálatok kimutatták, hogy ischaemiás körülmények között a gerincvelői noradrenalin felszabadulás sokszorosára nő (Uchihashi és mtsai 1998, Nakai és mtsai 1999, Sumiya és mtsai 2001). Az így kialakuló túlzottan magas extracelluláris noradrenalin koncentráció a gyulladás befolyásolásán túl két feltételezett mechanizmus útján járulhat hozzá a gerincvelő szekunder sérüléséhez:

1) A glutamát felszabadulás serkentésével erősítheti annak excitotoxikus hatását (Wohlberg és mtsai 1987)

2) Bomlástermékeinek túlzottan magas koncentrációja miatt neurotoxikus hatása lehet (Burke és mtsai 2004)

Mint később látni fogjuk, mindkét mechanizmus az intracelluláris Ca^{2+} -szint kórosan magas szintjének előidézésével vezet végül az idegszövet sejtjeinek apoptózisához.

Összefoglalva tehát a noradrenalin mind a gyulladás lokális és szisztémás befolyásolásával, mind pedig az ischaemia következtében fokozott felszabadulása és potenciális neurotoxikus hatása által fontos szerepet játszhat a gerincvelő szekunder sérülésének patomechanizmusában.

2.2.3. Neurotoxicitás

Minden olyan anyagot, amely az idegsejteket károsítja vagy elpusztítja, neurotoxinnak nevezünk. A legtöbb neurotoxin külső eredetű, ilyenek például egyes növényvédő szerek, nehézfémek és ipari oldószerek. Sok gyógyszernek is létezik neurotoxikus mellékhatása, többek között egyes kemoterápiás szereknek, antibiotikumoknak és érzéstelenítő szereknek. Neurotoxikus hatása lehet azonban néhány, a szervezetben természetesen előforduló anyagnak is. Ezek közül a legfontosabb a glutamát, amely a legfontosabb központi idegrendszeri neurotranszmitter, túlzottan magas koncentrációban azonban a környező idegsejtek elhalásához vezethet. Ez utóbbi folyamatot, vagyis a fokozott transzmitter felszabadulás hatására fellépő idegkárosodást *excitotoxicitásnak* nevezzük.

2.2.4. A noradrenalin potenciális szerepe az excitotoxicitásban

A glutamát excitotoxikus hatása általánosan elfogadott tény, és a gerincvelői sérülés mellett számos gyakori betegség, például az Alzheimer-kór, Parkinson-kór és sclerosis multiplex patogenezisében vizsgálták a jelentőségét (Faden és Simon 1988, Liu és mtsai 1991, Regan és Choi 1991, Wrathall és mtsai 1992, Lipton és Rosenberg, 1994, Sohn és mtsai 1998, Liu és mtsai 1999, McAdoo és mtsai 2000, Kostic és mtsai 2013, Ambrosi és mtsai 2014, Brassai és mtsai 2015, Acosta és mtsai 2017). Egyelőre nem alátámasztott,

hogy a noradrenalinnak önmagában is hasonló szerepe lehetne, de több vizsgálat bizonyítja a glutamát és a noradrenalin egymás felszabadulását serkentő kölcsönhatását az agy és a gerincvelő excitotoxikus folyamataiban (Nelson és mtsai 1980, Wohlberg és mtsai 1987, Arvin és mtsai 1992, Dawson és Wallace 1992, Halonen és mtsai 1995, Klarica és mtsai 1996, Sundström és mtsai 1998), így a noradrenalinnak feltehetőleg közvetett hatása van az excitotoxicitás előidézésében.

2.2.5. Glutamát okozta excitotoxicitás a gerincvelőben

A központi idegrendszer traumás sérülés hatására vagy attól függetlenül kialakuló ischaemiája összetett patológias mechanizmust indít be, amely a környező ideg- és gliasejtek elhalásához vezet. Ennek a excitotoxicitáshoz kapcsolódó fő vonalai a következők (Stys és mtsai 1992, Lipton és Rosenberg 1994, Lipton 1999, Lu és mtsai 2000, McAdoo és mtsai 2000, Li és Stys 2001, Park és mtsai 2004):

- Vérellátás hiányában szöveti hypoxia lép fel
- Oxigén és glükóz nélkül a Na^+/K^+ -ATPáz működése leáll, a sejt depolarizálódik
- A külső Ca^{2+} beáramlása révén az intracelluláris Ca^{2+} -szint megnő
- Ennek hatására (többek között) glutamát szabadul fel, ami az intracelluláris Ca^{2+} -raktárak felszabadítása és a külső Ca^{2+} további beáramlása (elsősorban N-metil-D-aszpartát [NMDA] receptor ioncsatornák) által excitotoxikus szintre növeli az intracelluláris Ca^{2+} -szintet
- A magas Ca^{2+} -szint szabadgyökök és reaktív oxigén fajták felszabadulásához, Ca^{2+} -függő bontó enzimek (calpain, endonukleázok, foszfolipázok, ATPázok) aktiválásához vezet és további glutamátot szabadít fel, ami a környező sejtekre is kihat
- A glutamát felvétel leáll vagy megfordul, ami tovább növeli az extracelluláris (szinaptikus és nem-szinaptikus) glutamát koncentrációt
- A foszfolipázok a sejtmembránt permeábilissá teszik
- A mitokondriumok szétesnek, toxinokat és apoptotikus faktorok bocsátanak ki
- Kaszpázok közvetítésével apoptózis indul be

A gerincvelői sérülés szekunder károsító folyamatai már percekkel a baleset után beindulnak (Banik és mtsai 1982, Schumacher és mtsai 1999, Schumacher és mtsai 2000), beleértve a glutamát hatását is, amely percek alatt neurotoxikus koncentrációt érhet el (Liu és mtsai 1991, Farooque és mtsai 1996, Liu és mtsai 1999, McAdoo és mtsai 1999). Az apoptózis és idegszöveti degeneráció viszont jellemzően hosszú folyamat, amely körülbelül 1 nap után válik kiterjedtebbé a sérüléstől disztálisan és 2-4 hét után éri el a maximumát (Coleman és mtsai 1998, Warden és mtsai 2001).

A glutamát excitotoxikus hatása elsősorban az ionotrop NMDA-receptorokon keresztül valósul meg. Ezek megnyílása esetén Na^+ és Ca^{2+} áramlik a sejtbe, aminek tartós fennállása további intracelluláris Ca^{2+} -szint növekedéshez vezet az extracelluláris Ca^{2+} beáramlása és az intracelluláris Ca^{2+} -raktárak felszabadulása által (MacDermott és mtsai 1986, Regan és Choi 1991, Lipton és Rosenberg 1994, Liu és mtsai 1999, Traynelis és mtsai 2010). Ez a folyamat glutamát közvetítésével a szomszédos ideg- és gliasejtekre is átterjed és azokban apoptotikus folyamatokat indukálhat. Patkány gerincvelői sértés in vitro modelljében a sértéstől 6-9 mm-re még mérhető volt ez az intracelluláris Ca^{2+} -emelkedés (Mills és mtsai 2004).

Több vizsgálat megerősítette, hogy a gerincvelői sérülést követően a túlzott mennyiségű glutamát elsősorban nem-szinaptikusan szabadul fel, részben a glutamát transzporter reverz működésének köszönhetően (Waxman és mtsai 1991, McAdoo és mtsai 2000, Li és Stys 2001, Vizi és mtsai 2010, Sperlággh és Vizi 2011). Ez a Na^+ - K^+ pumpa funkciókiesésének és a Na^+ -grádiens következményes gyengülésének a következménye, fiziológias körülmények között a transzporter ugyanis glutamát- Na^+ kotranszportot hajt végre a Na^+ -grádiens terhére (Danbolt 2001). A szekunder sérülés következtében keletkező szabadgyökök a környező asztrocitákban is gátolhatják a glutamát felvételt, így súlyosbítva annak excitotoxikus hatását (Volterra és mtsai 1994).

2.2.6. A noradrenalin bomlástermékeinek neurotoxicitása

Az excitotoxicitáson túl, melyet a glutamát magas koncentrációja okoz, a fent leírt ischaemiás kaszkádhoz a neurotranszmitterek más módon is hozzájárulhatnak. A noradrenalin monoamin-oxidáz (MAO) enzim által képzett bomlástermékei,

a 3,4-dihidroxifenilglikolaldehid (DOPEGAL) és a 3,4-dihidroxifenilacetaldehid (DOPAL) szintén megnövelhetik az intracelluláris Ca^{2+} -szintet a mitokondriumban és endoplazmás retikulumban tárolt Ca^{2+} felszabadításával, ami a kaszpázok aktivitásának növelésével apoptózishoz vezet (Burke és mtsai 1998, Burke és mtsai 2004).

2.3. Helyi érzéstelenítő szerek hatása a noradrenalin felszabadulására

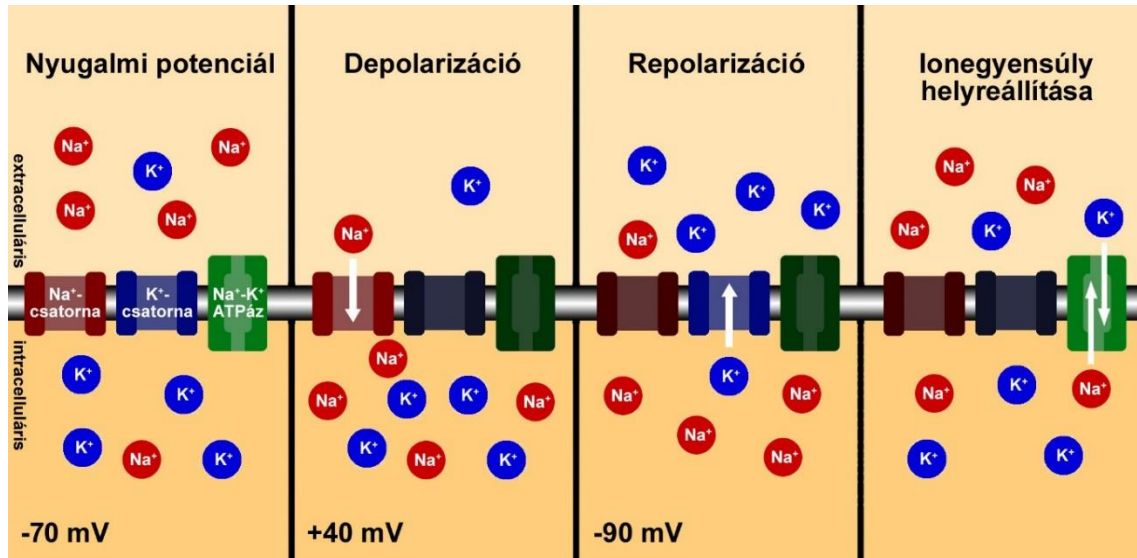
Neurotoxicitás azonban nem csak olyan patológiás viszonyok, mint az idegszövet sérülése után léphet fel, hanem minden olyan tényező kapcsán felmerül, amely a noradrenalin vagy a glutamát fokozott felszabadulásához vezet. Több vizsgálat bizonyítja, hogy egyes helyi érzéstelenítő szerek spinális, epidurális (dura mater és a gerincoszlop közé adott) vagy perifériás alkalmazás esetén olyan szöveti koncentrációt érhetnek el, ami preszinaptikus zavarok kiváltásán keresztül többek között a noradrenalin károsan magas extraneuronális koncentrációjához vezethet (Bromage és mtsai 1963, Berde és Strichartz 2010).

2.3.1. A helyi érzéstelenítő szerek hatásmechanizmusa

Helyi érzéstelenítőknek nevezzük azokat a gyógyszereket, amelyek reverzibilisen képesek gátolni az idegsejtekben az ingerület kifejlődését és terjedését. A klinikumban széles körben alkalmazzák őket sebészeti érzéstelenítésre és rövid, illetve hosszú távú fájdalomcsillapításra, például posztoperatív vagy neuropátiás fájdalom esetén (Berde és Strichartz, 2010).

Ingerületvezetés vázlatosan a következő módon történik: Egy kiváltó inger hatására depolarizációs hullám fut végig a sejten, melynek következtében a -70 mV-os nyugalmi potenciál a feszültségfüggő Na^+ -csatornák megnyílásának hatására pozitívabb irányba változik (a küszöbérték -55 mV). Először Na^+ áramlik be az idegsejtbe (depolarizáció, kb. 0,3 ezredmásodperc), majd a K^+ -csatornák megnyílnak és a K^+ kiáramlása állítja vissza a nyugalmi potenciált (repolarizáció, kb. 0,7 ezredmásodperc) (4. ábra).

Ez a hullám továbbítódik a szomszédos membránszakaszra, velőhüvelyes axonok esetében pedig „tovább ugrik” a következő befűződéshez. Az eredeti ionegyensúly ezután iontranszport útján áll helyre, ATP terhére (Vizi 2002).



4. ábra Az ingerületvezetés leegyszerűsített lépései. Akciós potenciál hatására a feszültségfüggő Na^+ -csatornák megnyílnak, a koncentrációgradiensnek megfelelően Na^+ áramlik a sejtbe, a sejt depolarizálódik. Ezt követően a K^+ -csatornák nyílnak meg, a K^+ szintén a koncentrációgradiensnek megfelelően kiáramlik a sejtől, a sejt visszanyeri negatív potenciálját. Az eredeti ionegyensúlyt ezután a Na^+ - K^+ -ATPáz állítja helyre. (A szerző ábrája)

A klinikumban használt érzéstelenítő szerek a nátrium és kálium csatornákat egyaránt blokkolni tudják, érzéstelenítő hatásuk viszont a Na^+ ioncsatornák gátlásának köszönhető. A myelinhüvely nélküli rostnak legalább 2 mm-es szakaszán, egy velőhüvelyes rostnak 3 befűződésnyi szakaszán kell megvalósulnia a gátlásnak ahhoz, hogy a depolarizációs hullám ne tudja „átugrani” a szakaszt. Bár mindegyik idegrost gátlható helyi érzéstelenítő szerrel, az idegrost és a velőhüvely vastagságának függvényében a gátlás nem egyszerre valósul meg. Leghamarabb a szimpatikus beidegző rostok gátlódnak, ezt követően a velőhüvely nélküli, majd a velőhüvelyes fájdalomérző rostok, és ezt követi csak a többi érző és motoros idegrost gátlása.

2.3.2. A helyi érzéstelenítők lokális mellékhatásai

Spinális és epidurális érzéstelenítésnél a hátsó szarv neuronjai az érzéstelenítő szerek viszonylag nagy koncentrációjának vannak kitéve, mert azok közvetlenül oda tudnak diffundálni (Bromage és mtsai 1963, Berde és Strichartz 2010). Ennek káros hatásai is lehetnek, mint a konvulzió (Agarwal és mtsai 1992) és a cauda equina szindróma (Rigler és mtsai 1991). Bár a helyi érzéstelenítéshez kapcsolódó káros mellékhatások száma az elmúlt évtizedekben jelentősen csökkent (Faccenda és Finucane 2001) és a tartós toxicitás nagyon ritka (0,01-0,07%) (Berde és Strichartz 2010, Bouwman és Morre 2013), átmeneti zavarok előfordulnak.

A helyi érzéstelenítők központi idegrendszert károsító mechanizmusa kevésbé ismert (Berde és Strichartz 2010). Általánosan elfogadott, hogy a helyi érzéstelenítők (pl. lidocain) érzéstelenítő, fájdalomcsillapító, gyulladáscsökkentő és antihyperalgesziás hatásukat Na^+ - és K^+ -csatorna blokkoló hatásuknak köszönhetik (Scholz 2002, Lenkey és mtsai 2011, Wolff és mtsai 2014, van der Wal és mtsai 2015).

2.3.3. A helyi érzéstelenítők noradrenalin felszabadulást serkentő hatása

Korábbi vizsgálatok bizonyították, hogy a Na^+ - és K^+ -csatorna blokkoló szerek jelentősen befolyásolják a gerincvelői noradrenalin felszabadulást normál és ischaemiás körülmények között is (Uchihashi és mtsai 1998, Sumiya és mtsai 2001). Ezekben a vizsgálatokban a mindkét csatornát blokkoló lidocain koncentrációfüggő módon akár többszörösére növelte a noradrenalin felszabadulását normál és ischaemiás viszonyok között egyaránt.

2.3.4. A noradrenalin hatása a gerincvelői fájdalomérző pályára

A gerincvelői noradrenalin felszabadulás fontos szerepet játszik a szomatoszenzoros neurotranszmisszió szabályozásában (Bruinstroop és mtsai 2012, Llorca-Torralba és mtsai 2016). Irodalmi adatok bizonyítják, hogy a noradrenerg beidegzés 3 mechanizmus útján képes csökkenteni a fájdalominger továbbítását (Reddy és Yaksh 1980, Jones 1991,

Kamisaki és mtsai 1993, Feng és mtsai 2001, Pertovaara 2006, Di Cesare Mannelli és mtsai 2017):

- 1) Gátolja a primer afferens nociceptorok jelátvitelét α_{2A} -receptorokon keresztül (preszinaptikusan).
- 2) Gátolja a szekunder, fájdalmat továbbító interneuronokat α_2 -receptorokon keresztül (posztoszínaptikusan).
- 3) Serkenti a gátló interneuronokat α_1 -receptorokon keresztül.

A klinikumban a fájdalomcsillapító hatást α_2 agonisták, például klonidin epiduralis adásával használják ki krónikus fájdalom kezelésében (Rauck és mtsai 1993, Fürst 1999). A noradrenalin felszabadulás serkentésének tehát fájdalomcsillapító hatása is lehet.

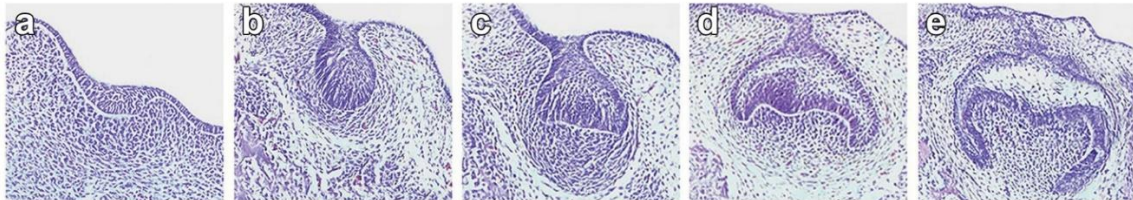
Ezért tűnt érdekesnek megvizsgálni, hogy klinikailag releváns koncentrációban milyen hatással van a helyi érzéstelenítő lidocain a noradrenalin nyugalmi és stimulált felszabadulására, és a transzmitter megnövekedett extracelluláris koncentrációja hogyan befolyásolhatja az érzéstelenítő hatást és a környező szövetek épségét.

2.4. A noradrenalin szerepe a fogpulpa homeosztázisában

A legtöbb szövethez hasonlóan a fogpulpa homeosztázisában is fontos szerepe van a szimpatikus hatásnak, amely vegetatív beidegzés és hormonális szabályozás útján valósul meg. A szimpatikus beidegzés transzmittere a noradrenalin, amely hormonként is befolyásolja szövet vérellátását, bár ebben már az adrenalin szerepe dominál. A fognak és a környező szöveteknek különlegessége továbbá, hogy a leggyakrabban érzéstelenített szövetek közé tartoznak, és az érszűkítőként adott adrenalin nem csak a vérellátást, hanem a fájdalomingerületet is módosíthatja.

2.4.1. A fogpulpa fejlődése, anatómiája és beidegzése

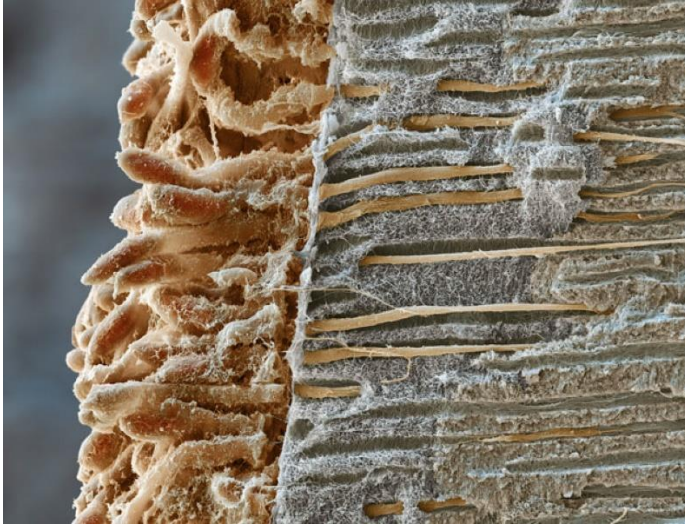
A pulpa a fogak belsejében lévő laza rostos kötőszövet, melynek feladata az odontoblastok és az általuk termelt dentin táplálása, a védekezés és a fogak érző beidegzésének biztosítása (Gallatz 2001, Varga 2007). Fejlődésének lépéseit az 5. ábra mutatja.



5. ábra. A fogcsíra fejlődésének stádiumai. (a.) Fogléc megjelenése. (b.) bimbóstádium. (c-d.) Sapkastádium. Jól megfigyelhető az ectomesenchyma betüremkedése. (e.) Harangstádium. (Forrás: Cobourne és Sharpe 2017, módosításokkal)

A fogléc, melyből később a fogzománc is fejlődik, egyértelműen bőrectodermális eredetű. Vitatott azonban, hogy az alatta elhelyezkedő mesenchyma, melyből többek között a pulpa is fejlődik, mesodermális vagy ectodermális eredetű-e, vagy esetleg a velósáncnak egy önálló, nem-neuronális sejtszövetéből alakul ki (Weston és mtsai 2004, Breau és mtsai 2008). Az fogpulpa eredetű összejtek idegi irányú differenciálthatósága (Kádár és mtsai 2009, Király és mtsai 2009, Király és mtsai 2011) mindenesetre az idegectodermális eredetre enged következtetni és ígéretes terápiás lehetőséget nyújthat különböző neurodegeneratív betegségek, például a gerincvelői sérülések gyógyításában (Sakai és mtsai 2012, Földes és mtsai 2016).

A kifejődött pulpa külső rétegét az odontoblastok alkotják, azok a hengeres vagy köb alakú sejtek, melyek a dentin termeléséért, táplálásáért és a dentinérzékenység fenntartásáért felelősek. Az odontoblastok cytoplaszmaanyúlványai, a Tomes-rostok a dentinacsatornáknak futnak (6. ábra).



6. ábra. Az odontoblastok és a dentin (színezett pásztázó elektronmikroszkópos felvétel). Jól megfigyelhetők a Tomes-rostok. Ezek mellett 100-200 μm mélységig érzőidegek is beterjedhetnek a dentin tubulusaiba. (Forrás: Bosshardt és mtsai 2015/Eye of science)

Az odontoblastok alatt található a stratum subodontoblasticum vagy Weil-zóna, mely elsősorban idegrostok gazdag hálózatából, a plexus subodontoblasticusból (Raschkow-plexus) áll. Az idegrostok között kapillárisok futnak, melyek az az odontoblastok közé is beterjednek.

A pulpa belseje felé haladva találhatjuk az ún. sejtes zónát, majd a centrális pulpát. Ezek számos sejtet, kollagén- és retikuláris rostokat, illetve gazdag kapilláris- és nyirokérhálózatot tartalmaznak. A felső fogak az arteria infraorbitalisból, az alsók az arteria alveolaris inferiorból kapják vérellátásukat (Gallatz 2001, Varga 2007).

A pulpa szövete számos beidegző rostot tartalmaz, egy premoláris fogba átlagosan 2000 velőhüvelyes és 300 velőtlen axon fut (Nair 1995). A legtöbb idegrostnak csak a pulpán kívüli szakaszát borítja myelinhüvely, a pulpakamrába belépve a rostok 15-20%-ának marad csak meg a myelin borítása (Fehér és mtsai 1977, Lisney 1978, Fried és mtsai 2011).

A velőhüvelyes axonok jórészt A δ típusú fájdalomérző rostok. Szabad idegvégződéseik a Weil-zónában, az odontoblastok mellett és a predentinben találhatóak, illetve 100-200 μm mélységig a dentin tubulusaiba is eljutnak és a dentinérzékenységért felelősek. A legtöbb idegvégződés a pulpaszarvak körüli dentintubulusokban található (Byers és Dong 1983, Närhi 1990, Abd-Elmeguid és Yu 2009, Fried és mtsai 2011).

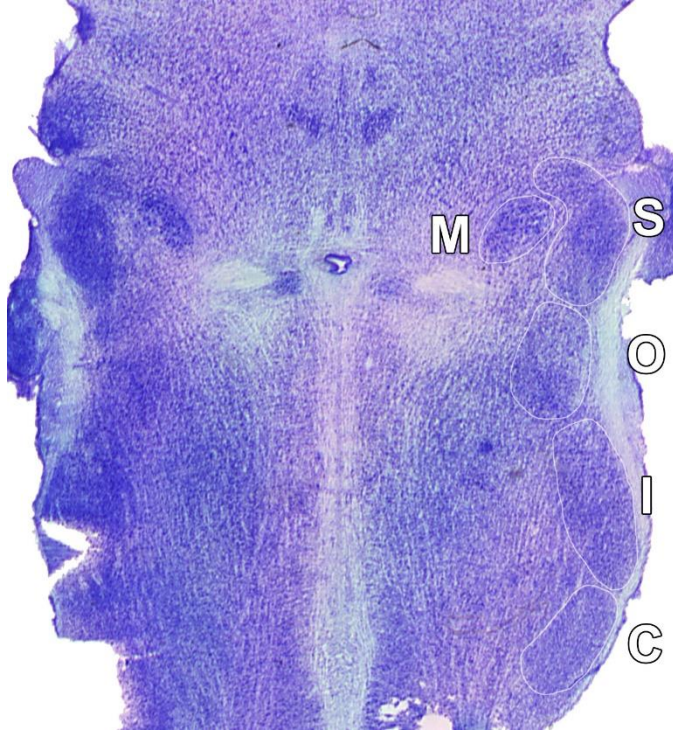
A velőtlen axonok nagy része C típusú és szintén fájdalomingereket közvetít. Ezek inkább a centrális pulpában és a Weil-zónában végződnek és a mélyebbre ható fájdalmas impulzusokat továbbítják (Byers és Dong 1983, Närhi 1990, Abd-Elmeguid és Yu 2009). Néhány A β -rost is található a pulpában, de ezek nem nociceptorok, hanem alacsony ingerküszöbű mechanoreceptorok. Egy elmélet szerint ezek a rostok közvetíthetik a legelső, éles és lokalizálható fájdalmat, melyet már olyan ingerek is ki tudnak váltani, amelyek a nociceptorok ingerküszöbét nem érnék el (Fried és mtsai 2011).

A fentiekén kívül szimpatikus beidegzést biztosító idegrostok jelenlétét is bizonyították a fogpulpában (Christensen 1940, Pohto és Antila 1968), melyeknek fontos szerepe van a patológiás folyamatainak szabályozásában. Szimpatikus rostokat legnagyobb számban a gyökér pulpájában, az erek körül találunk (Uddman és mtsai 1984), ugyanis a szimpatikus beidegzés elsősorban a vérerek simaizom-kontrakciójáért felelős. Transzmitterei a noradrenalin és a NPY (Tønder és Naess 1978, Edwall és mtsai 1985, Kim 1985, Casasco és mtsai 1995).

Egyes vizsgálatok szerint a pulpában paraszimpatikus idegrostok is találhatóak, ezek száma és fiziológiás jelentősége azonban viszonylag csekély, a vasodilatáció elsődleges mediátorai inkább az érző idegvégződésekből felszabaduló neuropeptidek (calcitonin-gén függő peptid [CGRP], substance P, NPY) és a nitrogén-monoxid (Weiss és mtsai 1972, Uddman és mtsai 1980, Fazekas és mtsai 1992, Lohinai és mtsai 1995, Olgart 1996, Varga 2007, Caviedes-Bucheli és mtsai 2008), és az esetleges paraszimpatikus beidegzésnek is inkább a szimpatikus jelátvitel preszinaptikus módosításában lehet szerepe (Parker és mtsai 1998).

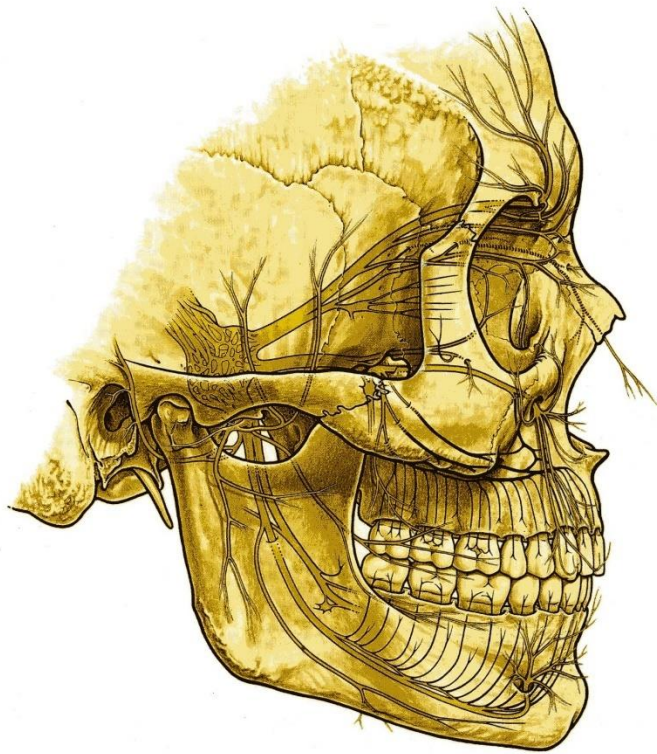
Az összes fog érző beidegzését a V. agyideg, a nervus trigeminus biztosítja. Négy központi idegrendszeri magja az agytörzsben elszórva található (7. ábra). A középgyagban van a nucleus mesencephalicus nervi trigemini. Az egyetlen motoros mag, a nucleus motorius nervi trigemini (M) a híd tegmentumában található, tőle laterálisan fekszik a nucleus sensorius principalis nervi trigemini (S). A nyúltvelőn húzódik végig és egészen a gerincvelőig fut el a nucleus tractus spinalis nervi trigemini, melynek három subnucleusa van: oralis (O), interpolaris (I) és caudalis (C). A nucleus sensorius principalis az epicriticus szenzibilitást adó rostok végződési területe,

a nucleus tractus spinalis pedig a protopathias érzékelése, tehát a fájdalomingereké is, szerkezete a gerincvelő hátsó szarváéhoz hasonló (Palkovits 2000, Hajdu 2004).



7. ábra. Patkány agytörzs szövettani metszete, Nissl festés. Jobb oldalt vannak jelölve a n. trigeminus magjai: (M) nucl. motorius (S) nucl. sensorius principalis (O,I,C) nucl. tractus spinalis; subnucleus oralis, interpolaris és caudalis. (A szerző metszete)

A n. trigeminus érző rostjai a radix sensoria formájában a híd és a hídkarok határán lépnek ki az agyból. A pseudounipolaris sejttestüket magába foglaló érző dúc, a ganglion trigeminale valamivel előrébb található a dura mater által alkotott cavum trigeminaléban. Az agyideg itt oszlik három ágára: a n. ophtalmicusra, a n. maxillarisra és a n. mandibularisra, melyek közül az utóbbi kettő felel a fogak beidegzéséért. A felső fogakat a n. maxillaris → n. infraorbitalis → rami alveolares superiores anteriores, medii és posteriores látják el, az alsókat pedig a n. mandibularis → n. alveolaris inferior → rami dentales (8. ábra).



8. ábra. *A nervus trigeminus ágai.* (Forrás: Evers és Heagerstam 1990)

A pulpa a szimpatikus beidegzését a ganglion cervicale superiorból induló, a ganglion trigeminalénál a nervus trigeminus ágaihoz csatlakozó szimpatikus idegrostokon keresztül kapja (Matthews és Robinson 1980).

2.4.2. A noradrenalin szerepe a pulpa véráramlásának szabályozásában

A szimpatikus beidegzésnek ép szövetek és nyugalmi körülmények között kevés hatása van a pulpa véráramlására, vagyis nincs folyamatos szerepe az értónus szabályozásában, csak stresszhatás esetén aktív (Tønder és Naess 1978, Aars és mtsai 1992), és feltehetőleg ekkor sem kap szelektív beidegzést, csak a szisztémás szimpatikus tónus érvényesül (Olgart 1996). A szimpatikus hatásra fellépő érösszehúzódás elsősorban α_1 -receptorokon keresztül valósul meg, és a pulpában is érvényesül a noradrenalin felszabadulásának negatív visszacsatolása α_2 -receptorok preszinaptikus gátló hatása által (Edwall és Kindlová 1971, Ibricevic és mtsai 1991, Parker és mtsai 1999). Ezt megerősítik Kerezoudis és mtsai (1992) eredményei, melyek szerint a szimpatikus idegrostok

ingerlésének hatására a pulpa véráramlása 65%-kal csökken, és ez a hatás α -adrenerg blokkolókkal gátolható.

A véráramlás másik fontos szabályozása az érzőidegek közvetítésével valósul meg. Az érző rostokon elinduló ingerület axon reflex révén neuropeptidok (NPY, CGRP, substance P) felszabadulásához vezethet, ami értágulatot okoz (Uddman és mtsai 1980, Olgart és mtsai 1989, Olgart 1996, Varga 2007, Caviedes-Bucheli és mtsai 2008). A CGRP és substance P magas szintje neurogén gyulladáshoz, és ennek keretében a fogpulpa károsan magas vérnyomásához is vezethet (Fazekas és mtsai 1990, Gyórfi és mtsai 1992, Chiu és mtsai 2012, Wang és mtsai 2012, Chavarría-Bolaños és mtsai 2014). A noradrenalin viszont gátolja a CGRP felszabadulását, ami hozzájárulhat az érösszehúzó hatásához (Hargreaves és mtsai 2003).

2.4.3. A noradrenalin szerepe a pulpa gyulladáisos folyamataiban

A szimpatikus idegrendszer szoros kölcsönhatásban áll az immunrendszerrel. Ezt a hatást a noradrenalin közvetíti, amelynek gyulladást serkentő és csökkentő hatása is lehet, többek között a szövettől és a gyulladás típusától függően (Elenkov és mtsai 2000). A fogban és az alveoláris csontban inkább a gyulladást csökkentő hatása dominál (Haug és Heyeraas 2006).

Parodontálisan gyulladt fogban a pulpa noradrenalin tartalma háromszorosára emelkedik (Nagy és mtsai 2000). Ha a szimpatikus beidegzést kiiktatjuk szimpatectomiával, kevesebb reparatív dentin termelődik, fokozódik a kísérletes fogmozgatás közbeni gyökérfelszívódás és megnő a pulpakamra fertőzése következtében fellépő periapikális csontfelszívódás mérete (Haug és mtsai 2003, Haug és Heyeraas 2003, Haug és Heyeraas 2006). A pulpa gyulladáisos folyamataiban a szimpatikus idegrendszer serkenti a gyulladást csökkentő citokinek termelődését, a gyulladást serkentő citokinekét pedig gátolja (Haug és Heyeraas 2006). Mindez azt mutatja, hogy a szimpatikus beidegzés általában véve csökkenti a fog és a parodontium keményszöveteinek a felszívódását.

A noradrenalin kotranszmittere, a NPY szintén szerepet játszik a szimpatikus idegrendszer érösszehúzó és immunmoduláns hatásában (Bedoui és mtsai 2003).

2.4.4. A noradrenalin szerepe a pulpa fájdalomérzetének módosításában

A noradrenalinnak a fogpulpa és általában a szájüregi szövetek fájdalmának modulációjában is fontos szerepe van a következő mechanizmusok útján:

1) A gerincvelői fájdalominger gátlásával analóg módon (lásd 2.3.4. A noradrenalin hatása a gerincvelői fájdalomérző pályára) a nucleus tractus spinalis nervi trigeminiben (7. ábra) gátolja a fájdalominger terjedését pre- és posztzinaptikusan, az α -receptorok közvetítésével.

2) Az agy összes fájdalomfeldolgozó struktúrájának ad beidegzést (Westlund és mtsai 1991, Pertovaara 2013). A stresszhatás megnöveli a noradrenalin felszabadulást a limbikus rendszer részét képező amygdalában, ez gátolja az ide érkező fájdalomingereket, ezáltal csökken a megélt fájdalom érzelmi dimenziója (Tanaka és mtsai 1998, Delaney és mtsai 2007, Strobel és mtsai 2014).

3) Az α_{2A} receptor kötése lokálisan, vagyis a fájdalominger kialakulásának a helyén is gátolni tudja annak létrejöttét, ezeken a receptorokon hat ezért néhány, lokálisan alkalmazott fájdalomcsillapító szer (Sawynok 2014). A noradrenalin ezen lokális hatását igazolja, hogy a fogpulpában a szimpatikus idegrostok stimulálása csökkenti az érző idegek ingerelhetőségét (Edwall és Scott 1971, Olgart 1996).

A szájüregi fájdalomérzet csillapításában mindhárom mechanizmus szerepet játszik, ezért a noradrenalin központi idegrendszeri transzmitterként a fájdalomingerület továbbításának gátlásával, illetve a megélt fájdalom enyhítésével; szimpatikus idegrendszeri transzmitterként és az adrenalinnel együtt hormonként lokálisan hatva pedig a fájdalom kialakulásának gátlásával csökkenti a fájdalomérzetet.

A NPY receptorok aktivációja szintén csökkenti a fájdalomérzetet a pulpában (Gibbs és Hargreaves 2008).

3. CÉLKITŰZÉSEK

- 1) Gerincvelői sértéssel modellben ex vivo mikroperfúziós kísérletekkel vizsgálni, hogy miként változik a gerincvelői noradrenalin felszabadulás a művi sértéstől caudalisan, az azt követő 1., 3. és 14. napon.
- 2) Ugyancsak gerincvelői sértés után vizsgálni a noradrenalin felvételért felelős transzporter funkcióját, amelynek fontos szerepe van a nem-szinaptikus noradrenalin felszabadulásban patológiás viszonyok között.
- 3) Gerincvelői szeleteken meghatározni a helyi érzéstelenítő hatású, Na⁺- és K⁺-csatornákat blokkoló lidocain noradrenalin felszabadulásra kifejtett hatását és összevetni a szelektív Na⁺-csatorna blokkoló tetrodotoxin és a szelektív K⁺-csatorna blokkoló 4-aminopiridin hatásával.
- 4) Egy olyan fogpulpa kísérleti modellt tesztelni, mely alkalmas lehet annak vizsgálatára, hogy a pulpában a neurotranszmitterek felszabadulása hogyan módosul különböző gyógyszerek vagy patológiás változások hatására.

4. MÓDSZEREK

4.1. Gerincvelői sértés

Klinikai körülmények között viszonylag ritka a gerincvelő tökéletes transectiója (Park és mtsai 2004), ezért kísérleteinkben a gerincvelő sérülését művi, steril körülmények között végzett féloldali átmetszéssel, azaz hemisectióval szimuláltuk. Mivel az idegszöveti degeneráció körülbelül 1 nap után válik kiterjedtebbé a sérüléstől disztálisan és 2-4 hét után éri el a maximumát (Coleman és mtsai 1998, Warden és mtsai 2001), a hemisectiótól caudalisan fekvő szövetet 1, 3, illetve 14 nappal később távolítottuk el a [³H]noradrenalin felszabadulás mérése végett. A kísérletek egy részében a szelektív noradrenalin újrafelvétel gátló (selective noradrenaline reuptake inhibitor, NRI) nisoxetin segítségével gátoltuk a transzmitter újrafelvételét. Ezen felül elektronmikroszkópos felvételeket készítettünk az ép és sértett gerincvelőről.

4.1.1. Kísérleti állatok

A nőstény Wistar patkányokat a Semmelweis Egyetem Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézetében műtöttük és tartottuk 12 órás világosság-sötétség ciklus és ad libitum táplálás mellett. Átlagos életkoruk 137 nap volt, átlagos tömegük pedig 256 g.

Uptake kísérletek: 16 állatot 4 csoportba osztottunk:

- Kontroll
- Kontroll + nisoxetin
- Gerincvelői sértés után 3 nappal
- Gerincvelői sértés után 3 nappal + nisoxetin

Frakcionális felszabadulás kísérletek: 49 állatot a következő csoportokba osztottunk:

- Kontroll
- Gerincvelői sértés után 1 nappal
- Gerincvelői sértés után 3 nappal
- Gerincvelői sértés után 14 nappal

Az első három csoportban a kísérletek felénél nisoxtinnel gátoltuk a noradrenalin újrafelvételét. A negyedik csoportban a szöveti degenerációból adódó mérési nehézségek miatt ezt nem tettük meg.

Elektronmikroszkópos felvételekhez a mintákat kontroll állatokból és gerincvelői sértés után 3 nappal izoláltuk.

4.1.2. Műtéti eljárás

A gerincvelő féloldali átmetszését a negyedik lumbalis gerincvelői szegmens (L4) magasságában végeztük Nosrat és mtsai (2001) protokolljának átdolgozásával: A patkányokat ketamin (80 mg/kg, Calypsol, Richter Gedeon, Budapest) és xylazin (8 mg/kg, CP-Xylazine, CP-Pharma, Burgdorf, Németország) intramuscularisan adott oldatával altattuk el. Az első ágyéki csigolya (L1) alatt fekszik az L4-es gerincvelői szegmens (a gerincvelő lumbalis kiszélesedése, az intumescencia lumbalis magasságában), ezt az előkísérleteink során erősítettük meg.

A csigolya feletti bőrt és környékét leborotváltuk, fertőtlenítettük, majd steril szikével felmetsztettük. A gerincoszlop melletti izmokat kipreparáltuk és félrehajtottuk. Ezt követően az L1 csigolya gerincvelő feletti részét csontcsípővel részlegesen eltávolítottuk úgy, hogy rálátást kapjunk a gerincvelőre. Horgas szikével átmetsztettük a gerincvelő jobb felét, a középvonal felől haladva. Ezután az izmokat és a bőrt rétegenként öltöttük össze. A műtött patkányok a feláldozásig egyedi tartásba kerültek.

4.1.3. Gerincvelői szövet preparálása

1, 3, illetve 14 nappal a gerincvelői sértés után a patkányokat dekapitáltuk. Ollóval kipreparáltuk és kiemeltük a gerincoszlop lumbalis szakaszát. A csigolyák oldalának átvágásával feltártuk a gerincvelőt. A sértés után 1 és 3 nappal a hemisectio környékén egy kisebb bevérzéstől eltekintve nem volt szabad szemmel látható elváltozás. Átvágtuk az idegeket, majd a gerincvelő lumbalis szakaszát jéggel hűtött, karbogén gázzal (95% O₂ és 5% CO₂) buborékolatott Krebs-oldatba helyeztük (113 mM NaCl; 4,7 mM KCl; 2,5 mM CaCl₂; 1,2 mM KH₂PO₄; 1,2 mM MgSO₄; 2,5 mM NaHCO₃; 11,5 mM glükóz;

0,3 mM aszkorbinsav; 0,03 mM Na₂EDTA), így szállítottuk a mérés helyszínére, kb. 20 perc alatt. Ezt követően a gerincvelőt megtisztítottuk az agyhártyától és az idegektől, majd kivágtuk az L5-S1-es gerincvelői szegmenseket. Az izolált szövet a gerincvelői sértéstől 2-5 mm-re volt, ami beleesett abba a 6-9 mm-es zónába, melyben Mills és mtsai (2004) a művi sértés után jelentős intracelluláris Ca²⁺-szint változásokat mértek. A szövetet egy McIlwain szeletelő segítségével 400 µm vastag szeletekre vágtuk. Egy kísérlethez négy szeletet használtunk, össztömegük átlagosan 13,1 ± 2,9 mg volt, n=65.

4.1.4. [³H]noradrenalin jelölés

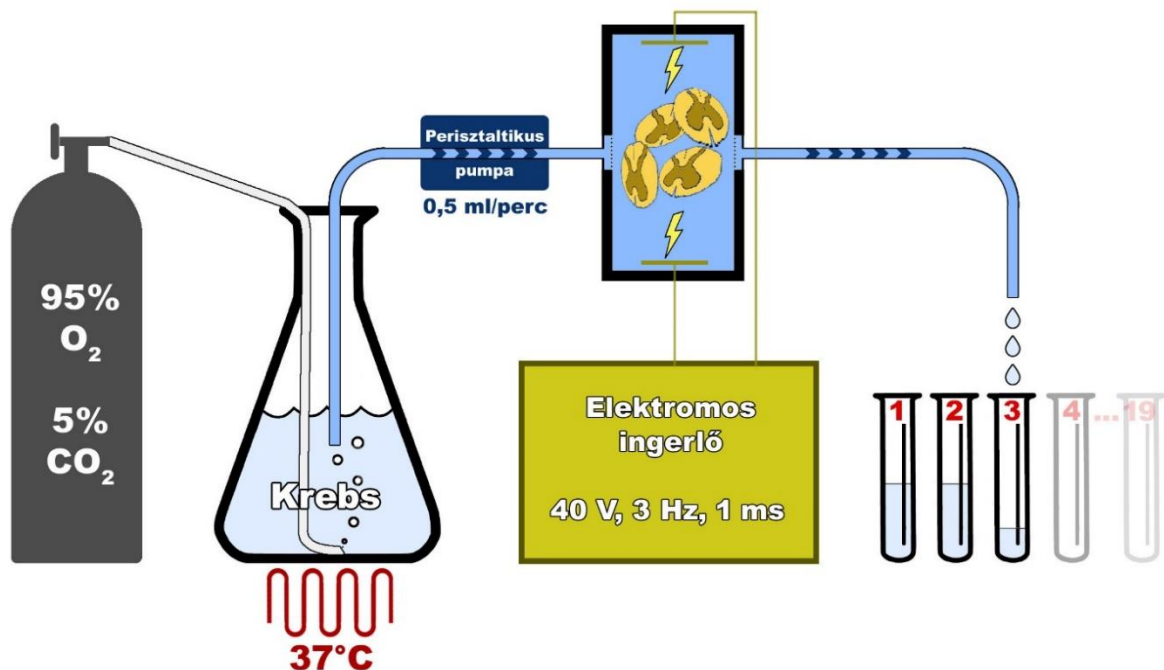
A gerincvelői szeleteket 20 percig karbogén gázzal buborékolgatott Krebs-oldatban preinkubáltuk 37 °C-on, ehhez és az inkubációs oldathoz az uptake kísérletek felénél 1 µM nisoxetint (Tocris Bioscience, Bristol, Egyesült Királyság) adtunk. Ezután hozzáadtunk 5 µCi/ml radioaktív [³H]noradrenalint ([³H]NA) (PerkinElmer, Waltham, MA, USA) és további 45 percig inkubáltuk (Umeda és mtsai, 1997). A radioaktív izotóppal jelölt transzmittert a noradrenerg idegvégződések specifikusan veszik fel a transzporterek működésének köszönhetően (Moron és mtsai 2002). Ezt követően a szeleteket háromszor átmostuk izotópmentes Krebs-oldattal, majd mikroperfúziós kamrákba helyeztük őket (Vizi és mtsai, 1985) (9. ábra). A kamrákon 37 °C-os, karbogén gázzal buborékolgatott Krebs-oldatot keringettünk át 0,5 ml/perc sebességgel. 60 perces preperfúzióval mostuk ki a szövetből a fel nem vett [³H]NA-t.

4.1.5. Noradrenalin felvétel mérése és számítása

A perfúziós kísérlet után lemértük a szövetszeletek tömegét, majd 0,5 ml triklóracetát oldatban homogenizáltuk őket. Az oldatból 0,1 ml-t vortexeltünk 2 ml szcintillációs koktéllal (Ultima Gold, PerkinElmer, Waltham, MA, USA). A minták radioaktivitását Packard 1900 Tricarb folyadék szcintillációs spektrométerrel határoztuk meg (Packard, Canberra, Ausztrália). A radioaktivitás mértékét Bq/g-ban fejeztük ki (radioaktív bomlás/másodperc/szövet tömeg).

4.1.6. Stimulált noradrenalin felszabadulás

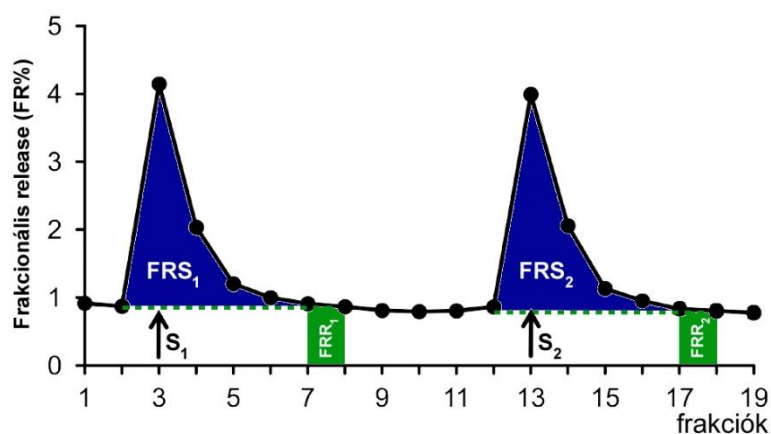
A frakcionális felszabadulás kísérletekben a preperfúziót követően a mikroperfúziós kamrákból kiáramló folyadékot elkezdjük gyűjteni 19 darab, egyenként 200 másodperces frakcióban (9. ábra). A harmadik (S₁) és tizenharmadik (S₂) frakciók első 80 másodpercében elektromos téringertést (40 V, 3 Hz, 1 ezredmásodperc) alkalmaztunk Grass S88 stimulátorral (Grass Medical Instruments, Quincy, MA, USA), a mikroperfúziós kamra falába helyezett platina elektródokon keresztül. Az elvégzett frakcionális felszabadulás kísérletek felében 1 μ M nisoxtint adtunk a perfúziós oldathoz a nyolcadik frakciótól kezdődően (kivéve a gerincvelői sértés után 14 nappal).



9. ábra. Frakcionális transzmitter felszabadulás kísérleti technika vázlata. A vizsgálandó szövetet (ez esetben gerincvelői szeleteket) a mikroperfúziós kamrába helyeztük. Ezen 0,5 ml/perc sebességgel melegített (37°C), karbogén gázzal (95% O₂, 5% CO₂) buborékoltatott Krebs-oldatot keringettünk át. A kamrából kiáramló folyadékot 19 kémcsőben gyűjtöttük, ezek felelnek meg egy-egy frakciónak, melyek hossza egyenként 200 másodperc. A kísérlet során két alkalommal elektromosan ingereltük a kamrában lévő szövetet (40 V, 3 Hz, 1 ms, 80 másodpercig). (A szerző ábrája)

4.1.7. Frakcionális noradrenalin felszabadulás mérése és számítása

A frakciók gyűjtése után mindegyik frakcióból kipipettáztunk 0,5 ml perfúziós oldatot és 2 ml folyékony szcintillációs koktéllal vortexeltük. A radioaktivitást a fent részletezett módszerrel határoztuk meg. A frakcionális felszabadulás érték azt fejezi ki, hogy a szövet az adott frakció elején benne lévő [³H]NA mekkora hányadát bocsátja ki az adott frakcióban. Stimulált release-nek (FRS₁ és FRS₂) tekintettük azt a [³H]NA felszabadulást, amely a nyugalmi felszabaduláson felül az elektromos stimulációt követő négy frakcióban (3-6. és 13-16.) valósult meg. Az ezt követő két frakció átlagát (7-8. és 17-18.) tekintettük nyugalmi felszabadulásnak (10. ábra).



10. ábra. A nyugalmi és stimulált felszabadulás számítása. Stimulált transzmitter felszabadulásnak (fractional release stimulated, FRS) tekintjük az elektromos stimuláció (S) hatására a nyugalmi felszabaduláson felüli transzmitter felszabadulást a 3-6. illetve 13-16. frakcióban. Nyugalmi transzmitter felszabadulásnak (Fractional release resting, FRR) tekintjük a 7-8. illetve 17-18. frakciók átlagát.

4.1.8. Elektronmikroszkópos vizsgálatok

Transzmissziós elektronmikroszkópos felvételeket készítettünk kontroll, illetve a gerincvelői sértés után 3 nappal nyert mintákról. A minta a gerincvelői sértés oldaláról, az L5-ös gerincvelői szegmensből származott, ami a sértéstől kb. 2 mm-re volt. A noradrenerg axonok az elülső szarvban végződnek a legnagyobb számban (vö. 3. ábra), ezért a felvételeket erről a területről készítettük (Clark és Proudfit, 1991, Shapiro 1997, Bruinstroop és mtsai 2012). A műtéti eljárás és a szövetpreparáció a fent részletezett

módon történt. A gerincvelői szeleteket 4%-os paraformaldehidben fixáltuk, 20 percre 1%-os OsO₄-be (Taab, Aldermaston, Berkshire, Egyesült Királyság) helyeztük, majd fokozatosan növekvő koncentrációjú etanol oldattal dehidratáltuk, végül Taab 812-be (Taab, Aldermaston, Berkshire, Egyesült Királyság) ágyasztuk. A dehidratáció közben a szeleteket 1% uranil acetát és 50% alkohol oldatban kezeltük 20 percig. Leica EM UC6 ultramikrotómmal (Leica Microsystems, Bécs, Ausztria) ultravékony metszeteket preparáltunk, melyekről egy Veleta TEM CCD kamerával (Olympus, Tokió, Japán) felszerelt Hitachi 7100 transzmissziós elektronmikroszkóppal (Hitachi, Tokió, Japán) készítettünk felvételeket. A fényerőt és kontrasztot az Adobe Photoshop CS3 (Adobe Systems, San Jose, CA, USA) segítségével korrigáltuk.

4.1.9. Statisztikai elemzés

A [³H]NA felvételt és felszabadulást jellemző radioaktivitás értékeken a RopStat statisztikai szoftver segítségével végeztünk variancia-analízist (ANOVA). A mérési értékek átlagát és standard deviációját (SD) jelöltük. A statisztikai szignifikanciát $p < 0,05$ esetén *-gal, $p < 0,01$ esetén ** -gal jelöltük.

4.2. Helyi érzéstelenítés

A klinikumban a gerincvelő érzéstelenítése során a Na⁺- és K⁺-csatorna blokkoló lidocain akár 5 mM-os koncentrációt is elérhet lokálisan, ezért ebben a koncentrációban alkalmaztuk kísérleteink során. A szelektív Na⁺-csatorna blokkoló tetrodotoxin és a szelektív K⁺-csatorna blokkoló 4-aminopiridin koncentrációját korábbi kísérleteink alapján határoztuk meg (Sircuta és mtsai 2016).

Az érzéstelenítő szerekekkel végzett vizsgálataink protokollja jórészt megegyezett a fent leírt, a gerincvelői sértéses kísérletek során alkalmazottakkal, ezért itt csak a különbségeket tárgyaljuk.

A kontroll csoport a gerincvelői kísérletekével közös volt, ezen felül 12 állatot használtunk fel, így a következő 4 vizsgálati csoport alakult:

- Kontroll
- Lidocain (5 mM)
- Tetrodotoxin (TTX) (1 μ M)
- 4-aminopiridin (4-AP) (300 μ M)

Az ioncsatorna blokkoló szerek gyártója a Tocris Bioscience (Bristol, Egyesült Királyság).

Egy kísérlethez használt 4 darab gerincvelői szelet össztömege átlagosan $13,9 \pm 2,9$ mg volt. (n=12)

Az elektromos stimulációt megelőző két frakció átlagát (1-2. és 11-12.) tekintettük nyugalmi felszabadulásnak (FRR₁ és FRR₂).

4.3. Fogpulpa

Humán fogpulpán végzett méréseink protokollja szintén hasonló volt az előbbieken leírtakhoz, ezeket Parker és mtsai. (1994, 2013) vizsgálatai alapján módosítottuk.

4.3.1. Fogpulpa izolálása

A pulpát egészséges, impaktált vagy retineált bölcsességfogakból izoláltuk, melyek a Semmelweis Egyetem Arc-, Állcsont- és Szájsebészeti Klinikáján kerültek eltávolításra. Kiválasztási kritérium volt a páciens 25 év alatti életkora, a fog környékének gyulladásmertessége (például ne legyen pericoronitis) és a fog egy darabban történő extractiója. A rutin szájsebészeti beavatkozást követően a fogat kettétörtük, majd steril csipesz segítségével a pulpát (rendszerint egy vagy két darabban) eltávolítottuk és karbogén gázzal (95% O₂, 5% CO₂) buborékoltatott, jéghideg Krebs-oldatba helyeztük (120 mM NaCl; 4,7 mM KCl; 2,6 mM CaCl₂; 1 mM KH₂PO₄; 1,2 mM MgSO₄; 2,5 mM NaHCO₃; 6,3 mM glükóz; 0,01 mM Na₂EDTA). Így szállítottuk a mérés helyszínére,

kb. 30 perc alatt. A pulpát ezt követően egy McIllwain szeletelő segítségével 400 µm vastag szeletekre vágtuk.

4.3.2. [³H]noradrenalin jelölés

A pulpa szeleteket 30 percig karbogén gázzal buborékolattott, 4 µCi/ml radioaktív [³H]NA-t tartalmazó Krebs-oldatban inkubáltuk 37 °C-on. Háromszori átmosás után 4 szeletet helyeztünk egy mikroperfúziós kamrába. Ezek összömege átlagosan 12,3 ± 4,6 mg volt. A kamrákon karbogén gázzal buborékolattott Krebs-oldatot keringettünk át 1 ml/perc sebességgel, 37 °C-on.

4.3.3. Stimulált noradrenalin felszabadulás

A mikroperfúziós kamrákból kiáramló folyadékot 32 darab, egyenként 5 perces frakcióba gyűjtöttük. A 7. frakció kezdeténél végeztük az első elektromos téringerlést (S₀), mely 30 másodperc hosszú volt (40 V, 1 ezredmásodperces impulzusok 5 Hz frekvenciával). A 17. és 27. frakció kezdeténél végzett stimulációk (S₁ és S₂) 100 másodperc hosszúak voltak.

4.3.4. Noradrenalin felvétel és frakcionális felszabadulás mérése és számítása

A felvétel és frakcionális felszabadulás értékek meghatározása a gerincvelői kísérletekéhez hasonló módon történt. Stimulált felszabadulásnak (FRS₁ és FRS₂) tekintettük azt a NA-felszabadulást, amely a nyugalmi felszabaduláson felül az elektromos stimulációt követő négy frakcióban (17-20. és 27-30.) történt. A stimulációt megelőző négy frakció átlagát (13-16. és 23-26.) tekintettük nyugalmi felszabadulásnak (FRR₁ és FRR₂). A fogpulpán végzett kísérleteknél a gerincvelői kísérletekkel ellentétben, Parker és mtsai. (1994, 2013) protokolljához hasonlóan nem végeztünk preperfúziót, vagyis a szövet által fel nem vett [³H]NA kimosását. Az ebből adódó kezdeti, magas felszabadulást és az első, rövid ingerlést (S₀) a számításainknál nem vettük figyelembe.

5. EREDMÉNYEK

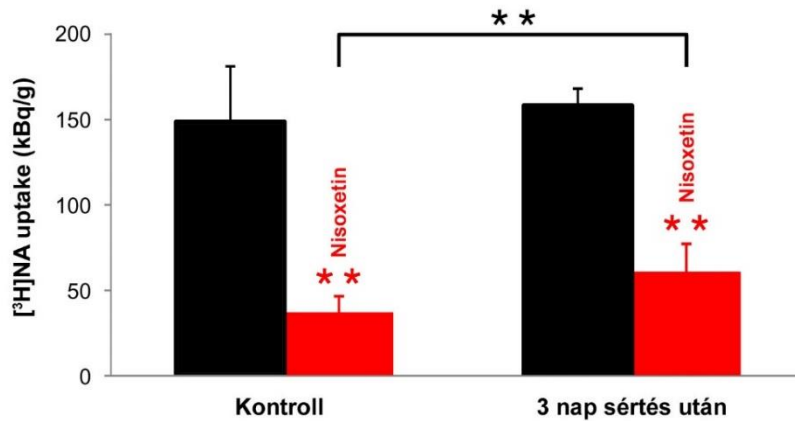
5.1. Gerincvelői sértés

5.1.1. Funkciós és makroszkópos változások

A hemisectio után a patkányok a hemiplegia jellegzetes tüneteit mutatták, jobb hátsó végtagjuk teljes bénulásával. A patkányok gerincvelői sértése utáni motoros regeneráció kvantifikálására széles körben alkalmazzák az ún. BBB locomotor recovery scale-t (Basso és mtsai 1995). A műtött patkányok jobb hátsó végtagjának mozgása ebben az osztályozásban minden esetben 0-s értéknek felel meg (végtag teljes mozdulatlansága), a bal hátsó végtag mozgása pedig 10 vagy a feletti értéknek (lépésnél ráterhel a végtagra). 1, illetve 3 nappal a művi sértés után a gerincvelő makroszkópos megjelenése az egészséges szövetéhez hasonló volt. Csak 14 nappal a sértés után volt makroszkópos jele a szövet lokális gyulladásának, ekkorra a gerincvelő jellemzően rugalmatlanná, szakadékonnyá vált.

5.1.2. [³H]noradrenalin felvétel

[³H]NA-jelölés után a gerincvelői szeletek átlagos transzmitter felvétele a kontroll csoportban 149 ± 32 kBq/g volt (11. ábra). Érdekes módon a gerincvelői sértés után 3 nappal ez az érték hasonló volt, 158 ± 10 kBq/g. A noradrenalin újrafelvételt gátló nisoxtin a jelölés és preinkubáció ideje alatt $1 \mu\text{M}$ -os koncentrációban alkalmazva hatékonyan gátolta a [³H]NA felvételét, így az átlagos radioaktivitás 37 ± 9 kBq/g volt a kontroll + nisoxtin kísérletekben, ami 75%-os csökkenés a kontroll kísérletekhez képest. Gerincvelői sértés után 3 nappal ez a csökkenés szignifikánsan kisebb mértékű volt (61 ± 16 kBq/g), ami 62%-os csökkenésnek felel meg (11. ábra) (n=16).



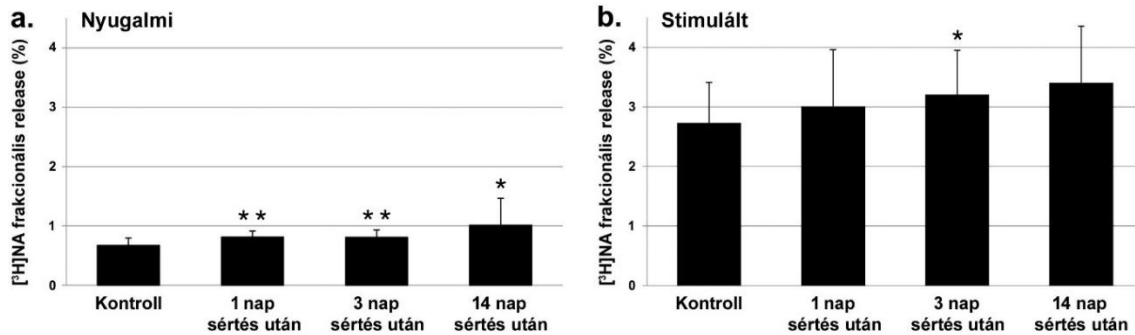
11. ábra. *A gerincvelői hemisectio és nisoxetin hatása gerincvelői szelet preparátum [³H]NA felvételére. 1 μM nisoxetint adtunk a szeletekhez a preinkubációtól kezdődően, ennek hatására mindkét csoportban szignifikánsan lecsökkent a [³H]NA felvétel. A gerincvelői sértés hatására ez a csökkenés szignifikánsan kisebb mértékű volt. (átlag ± SD; ***p*<0,01 a kontroll és kontroll + nisoxetin; a gerincvelői sértés után 3 nappal és gerincvelői sértés után 3 nappal + nisoxetin; illetve a kontroll + nisoxetin és gerincvelői sértés után 3 nappal + nisoxetin összehasonlításában; n=16)*

5.1.3. [³H]noradrenalin felszabadulás a kontroll kísérletekben

Frakcionális felszabadulás kísérleteinkben egy 200 másodperces nyugalmi frakcióban az átlagos felszabadulás a teljes radioaktivitás $0,67 \pm 0,13\%$ -a volt (FRR₁). Elektromos stimuláció (S₁) (3 Hz, 240 stimulus) hatására a szövetben lévő [³H]NA-nak ezen felül $2,73 \pm 0,68\%$ -a szabadult fel (FRS₁), majd lassan visszatért a nyugalmi értékére (13.a ábra). A második elektromos stimuláció hatására (S₂) kisebb mértékben nőtt meg a felszabadulás (FRS₂ = $1,94 \pm 0,57\%$), így az FRS₂/FRS₁ hányados $0,73 \pm 0,21$ lett.

5.1.4. Gerincvelői sértés hatása a [³H]noradrenalin felszabadulásra

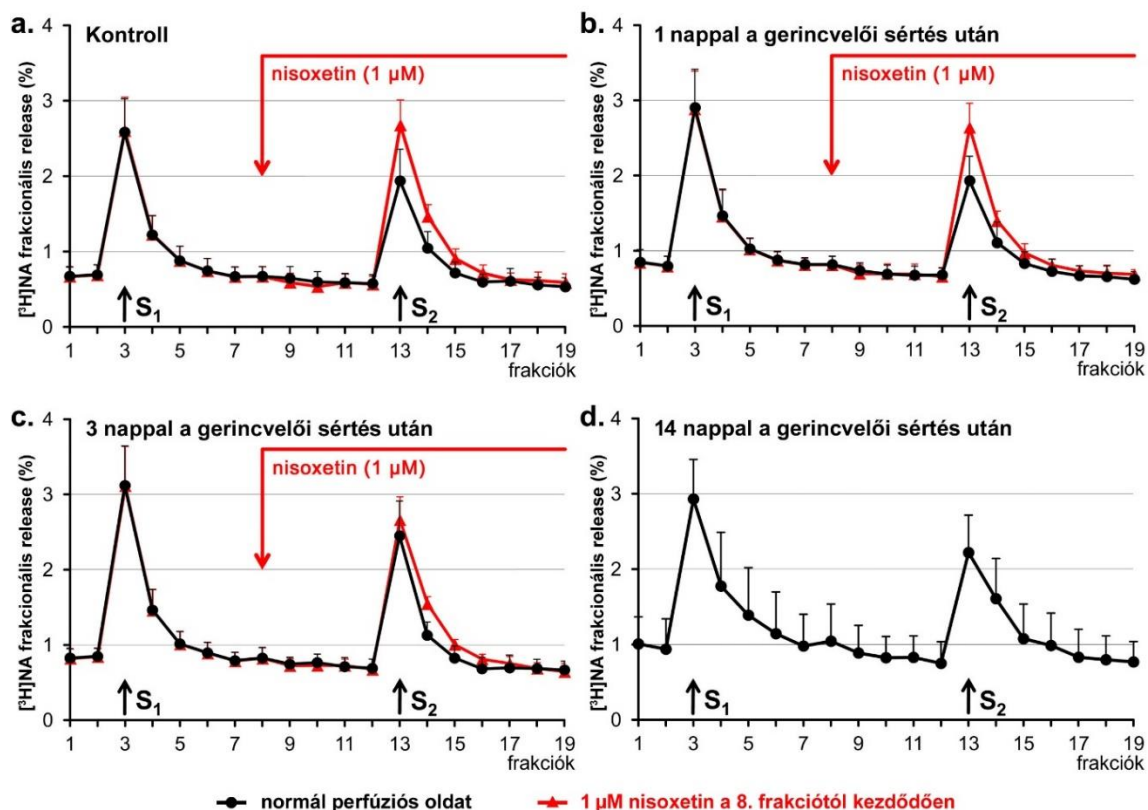
A gerincvelő művi sértése után mind a nyugalmi, mind a stimulált [³H]NA felszabadulás fokozatos emelkedést mutatott (12. ábra).



12. ábra. A nyugalmi (FRR_1) (a) és a stimulált (FRS_1) (b) [³H]NA felszabadulás fokozódása a gerincvelői sértés után. (átlag \pm SD; ** $p < 0,01$ és * $p < 0,05$ a kontrollal való összehasonlításban; $n = 49$)

A nyugalmi felszabadulást jellemző FRR_1 értéke a gerincvelői sértés után 1 nappal $0,81 \pm 0,09\%$, a sértés után 3 nappal $0,81 \pm 0,12\%$, a sértés után 14 nappal pedig $1,01 \pm 0,46\%$ volt. Mindhárom szignifikánsan magasabb a kontroll értékénél, a sértés utáni értékek között azonban nincs statisztikailag szignifikáns különbség. A stimulált felszabadulást jellemző FRS_1 a gerincvelői sértés után 1 nappal $3,01 \pm 0,95\%$, a sértés után 3 nappal $3,21 \pm 0,74\%$, a sértés után 14 nappal pedig $3,40 \pm 0,95\%$ volt. Utóbbiak közül azonban csak a sértés után 3 nappal mért érték volt szignifikánsan magasabb a kontrollnál ($p < 0,05$).

A kísérletek frakciónkénti felszabadulás értékeit az 13. ábrán láthatjuk összehasonlítva.

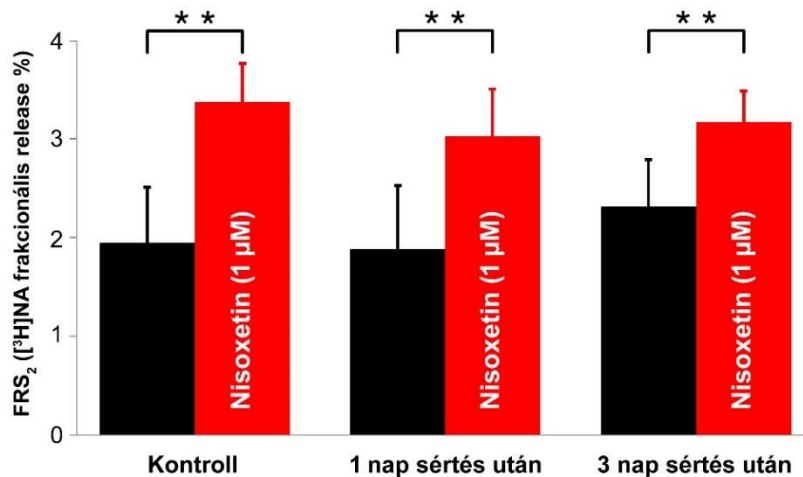


13. ábra. $[^3\text{H}]$ NA frakcionális felszabadulás gerincvelői szövet preparátumból a 3. és 13. frakció kezdetén alkalmazott elektromos stimuláció hatására. A kísérletek felében $1 \mu\text{M}$ nisoxtint adtunk a perfúziós oldathoz a 8. frakciótól kezdődően. (átlag \pm SD; $n=49$)

A mérési eredményeket úgy foglalhatjuk össze, hogy gerincvelői hemisektio hatására a harmadik nappal 20%-kal nő a nyugalmi felszabadulás, ezen felül pedig további 18%-kal a stimulált $[^3\text{H}]$ NA felszabadulás a kontrollhoz képest.

5.1.5. Uptake gátlás hatása a $[^3\text{H}]$ noradrenalin felszabadulásra

A felszabadulás kísérletek felében nisoxtint adtunk a perfúziós oldathoz a 8. frakciótól kezdve a $[^3\text{H}]$ NA újrafelvétel gátlása céljából (13.a-c ábra). Ennek következtében a második elektromos stimuláció után (FRS_2) több transzmitter maradt a perfúziós oldatban (vö. 20.b ábra), így a $[^3\text{H}]$ NA felszabadulás mért értéke szignifikánsan ($p < 0.01$) magasabb lett mindegyik csoportban (14. ábra).



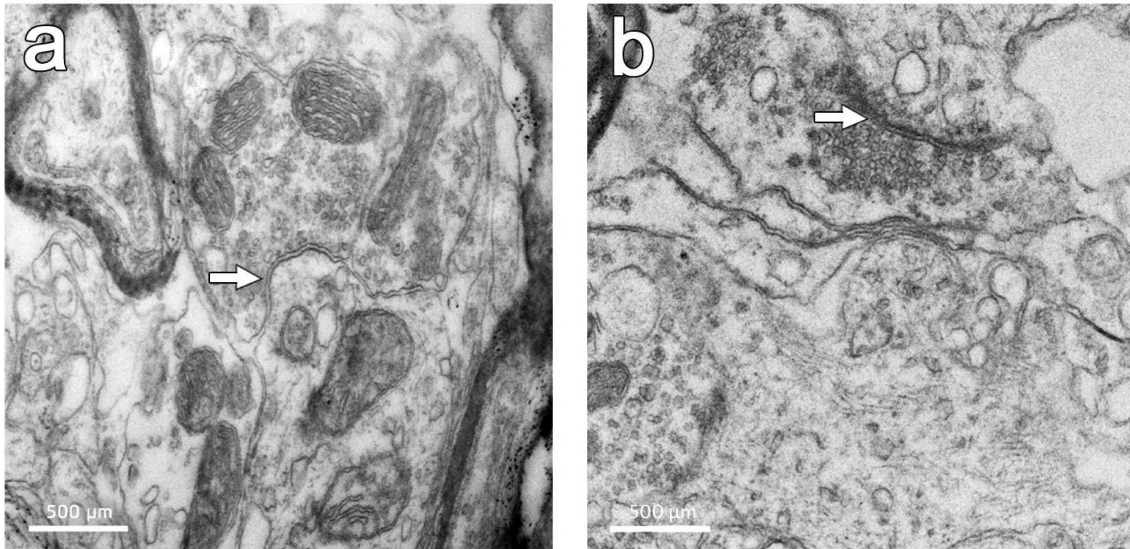
14. ábra. *FRS₂ változása gerincvelői hemisectio és 1 µM nisoxetin hatására. A 8. frakciótól kezdődően adott, noradrenalin újrafelvételét gátló nisoxetin mindhárom csoportban szignifikánsan növelte a mért [³H]NA frakcionális felszabadulást. A gerincvelői sértés után 3 nappal ez a növekedés szignifikánsan ($p < 0,05$) kisebb mértékű volt, mint a kontroll csoportban. (átlag \pm SD; $**p < 0,01$ a csoportokon belüli összehasonlításban; $n=42$)*

Megfigyelhetjük azonban, hogy miként az uptake kísérleteknél is, a nisoxetin a gerincvelői sértés után kevésbé volt hatásos a noradrenalin felvétel gátlásában. Míg a kontroll csoportban 73%-kal nőtt az FRS₂ értéke nisoxetin hatására, a gerincvelői sértés után 1 nappal csak 61%-os, a sértés után 3 nappal pedig csak 37%-os növekedés történt (utóbbi szignifikáns különbség a kontrollhoz képest, $p < 0,05$).

A gerincvelői sértés után 14 nappal nagy variációk mutatkoztak a frakcionális felszabadulás értékekben és 7 kísérletből csak 3 adott a stimulált transzmitter felszabadulásra jellemző görbét, feltehetőleg a szöveti degenerációval összefüggésben, ezért ebben a kísérleti csoportban nem végeztünk nisoxetines méréseket.

5.1.6. Elektronmikroszkópos felvételek

A mintákat egészséges (kontroll) patkányokból és a gerincvelő sértés után 3 nappal nyertük, hogy a transzmitter felszabadulás és felvétel változásai mellett nyomon követhessük a morfológiai változásokat is. A sértés után 3 nappal az L5 gerincvelői szegmensben, a sértéstől kb. 2 mm-rel caudalisabban általános szöveti degeneráció volt látható, ennek ellenére számos ép szinapszist is találtunk (15. ábra).



15. ábra. *Transzmissziós elektronmikroszkópos felvétel a gerincvelőről (L5 szegmens, a sérüléssel megegyező oldalról). Sok szinapszis (nyíl) ép maradt 3 nappal a gerincvelői sértés után is. (Dr. Kittel Ágnes felvétele)*

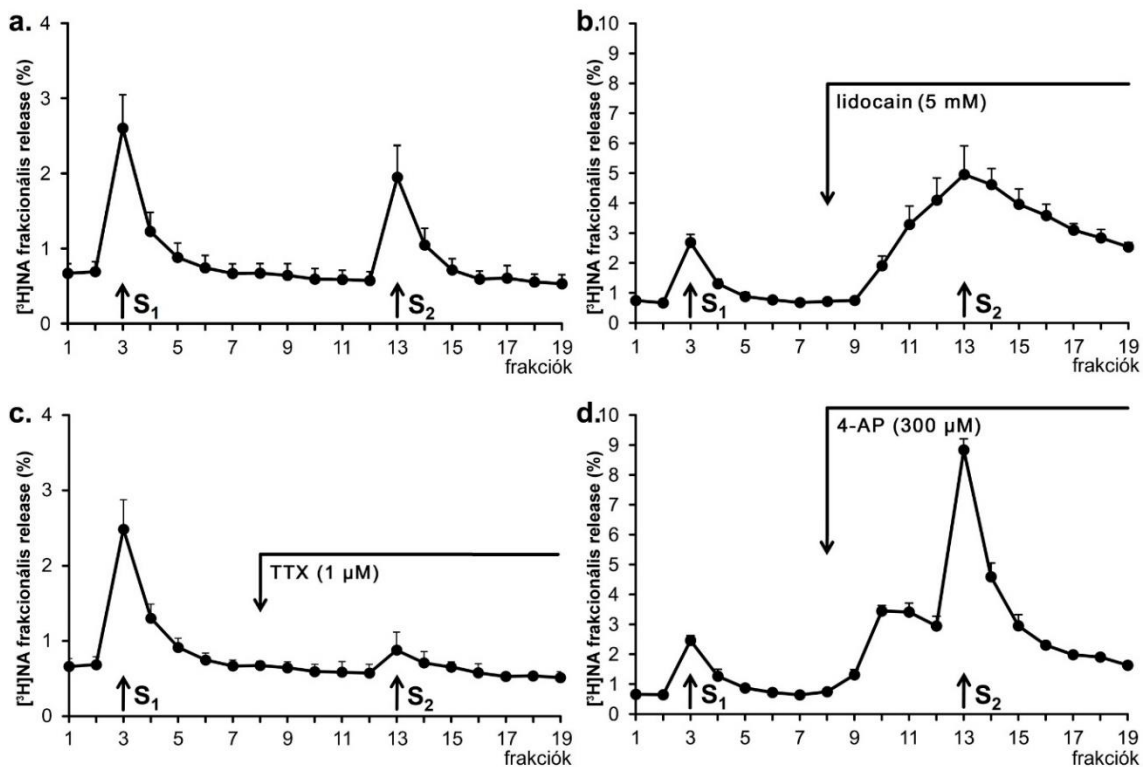
5.2. Helyi érzéstelenítés

5.2.1. [³H]noradrenalin felszabadulás a kontroll kísérletekben

Az lidocainnal és szelektív ioncsatorna blokkoló szerekkel végzett [³H]NA felszabadulás kísérleteink a gerincvelői sértéses kísérletekével azonos protokollal, időben egymással párhuzamosan, azonos patkány alommal végeztük, ezért ugyanazt a csoportot használtuk kontrollnak. Így a kontroll csoportban a [³H]NA felszabadulás nyugalomban $0,67 \pm 0,13\%$ volt (FRR₁), az első stimuláció (S₁) hatására $2,73 \pm 0,68\%$ -ra nőtt (FRS₁), a második stimuláció hatására (S₂) pedig $1,94 \pm 0,57\%$ -ra nőtt (FRS₂).

5.2.2. Ioncsatorna gátlás hatása a [³H]noradrenalin felszabadulásra

Amikor a feszültségfüggő Na⁺- és K⁺-csatornákat gátló lidocaint (5 mM) adtuk a perfúziós oldathoz a 8. frakciótól kezdődően, a nyugalmi [³H]NA felszabadulás fokozatos emelkedését lehetett megfigyelni, ami a 13. frakcióra érte el a maximumát, majd a kísérlet végéig fokozatosan csökkent. Az FRR₂/FRR₁ hányados 5,22 ± 0,20 volt (p<0,001). A stimulált felszabadulás ezzel szemben gátolva lett (16.b ábra).



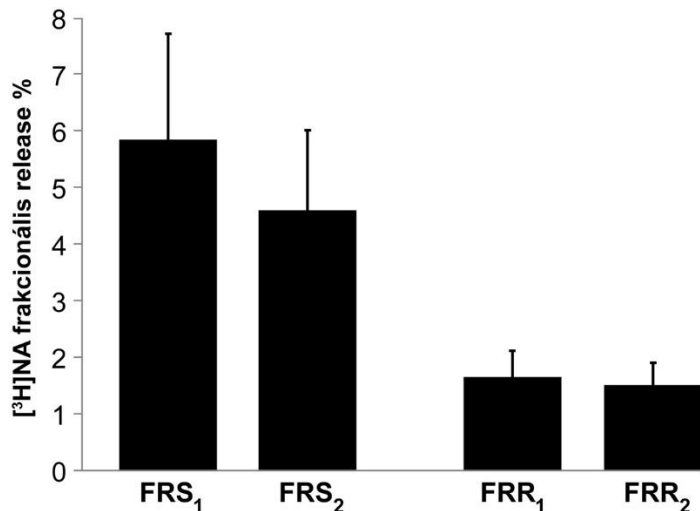
16. ábra. Lidocain, tetrodotoxin (TTX) és 4-aminopiridin (4-AP) hatása a [³H]NA nyugalmi és stimulált felszabadulására patkány gerincvelői szeletekben. A mintákat két alkalommal elektromosan ingereltük (S₁ és S₂). (a) Kontroll. (b) 5 mM lidocain szignifikánsan megnövelte a nyugalmi felszabadulást (FRR₂/FRR₁ = 5,22 ± 0,20; p<0,001), azonban csökkentette a stimulált felszabadulást. (c) 1 μM TTX szignifikánsan gátolta a stimulált felszabadulást (FRS₂/FRS₁ = 0,19 ± 0,05; p<0,001). (d) 300 μM 4-AP szignifikánsan megnövelte mind a nyugalmi (FRR₂/FRR₁ = 5,02 ± 0,17; p<0,001), mind a stimulált (FRS₂/FRS₁ = 3,40 ± 0,24; p<0,001) [³H]NA felszabadulást. (átlag ± SD; n=19)

A szelektív Na⁺-csatorna blokkoló tetrodotoxin 1 μM-os koncentrációban nem volt hatással a nyugalmi felszabadulásra, viszont szinte teljesen gátolta a stimulált felszabadulást. Az FRS₂/FRS₁ hányados $0,19 \pm 0,05$ volt, ami a kontroll értékének negyede (szignifikáns különbség, $p < 0,001$) (16.c ábra).

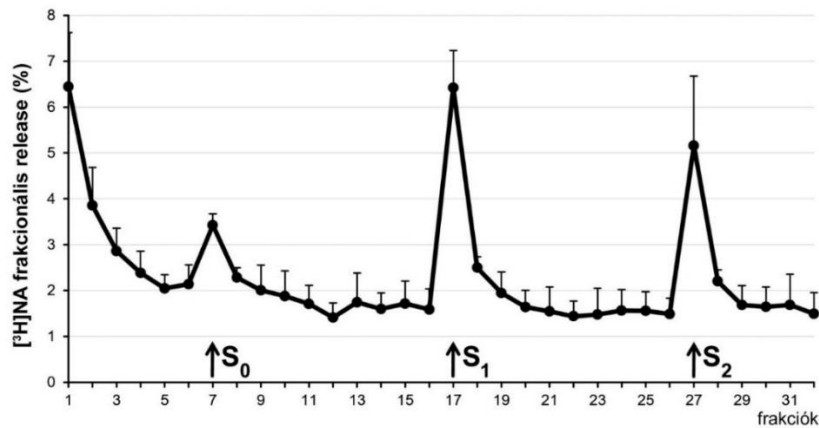
A szelektív K⁺-csatorna blokkoló 4-aminopiridin 300 μM-os koncentrációban mind a nyugalmi, mind a stimulált [³H]NA felszabadulást többszörösére növelte (FRR₂/FRR₁ = $5,02 \pm 0,17$; FRS₂/FRS₁ = $3,40 \pm 0,24$; $p < 0,001$) (16.d ábra).

5.3. Fogpulpa

A humán fogpulpa transzmitter felvétele 30 perc [³H]NA-jelölés után 116 ± 69 kBq/g volt. Amikor a noradrenalin felszabadulás a kezdeti frakciók és elő-ingerlés után elérte a stabil, nyugalmi szintjét, egy 5 perces frakció ideje alatt a teljes [³H]NA-tartalomnak $1,66 \pm 0,46\%$ -át bocsátotta ki (FRR₁) (17. ábra). 100 másodperc elektromos stimuláció (S₁) hatására a nyugalmi szinten felüli felszabadulás (FRS₁) a fogpulpában $5,86 \pm 1,87\%$ volt. A második stimuláció (S₂) hatására a felszabadulás valamivel kisebb mértékű, $4,60 \pm 1,42\%$ volt (FRS₂), majd ismét visszatért a nyugalmi szintre (18. ábra).

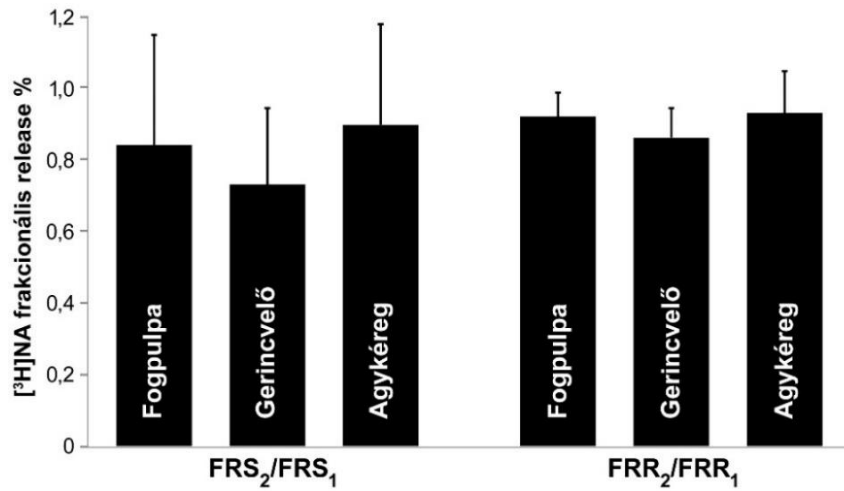


17. ábra. Stimulált (FRS₁ és FRS₂) és nyugalmi (FRR₁ és FRR₂) [³H]NA frakcionális felszabadulás humán fogpulpa preparátumból. (átlag ± SD; n=4)



18. ábra. Humán fogpulpa [³H]NA felszabadulás változása stimuláció hatására. Elektromos stimulációt (40 V, 1 ms, 5 Hz) alkalmaztunk a 7., 17. és 27. frakciók elején. Az elő-stimuláció (S₀) 30 másodpercig, S₁ és S₂ pedig 100 másodpercig tartott. A pulpával végzett kísérleteknél nem volt preperfúzió (kimosás), ez indokolja a kezdeti magas felszabadulás értéket. (átlag ± SD; n=4)

A pulpa a gerincvelőhöz képest egységnyi idő alatt a [³H]NA nagyobb hányadát szabadította fel, az ismételt ingerlésre azonban hasonló mértékben csökkent a felszabadulás ($FRS_2/FRS_1 = 0,84 \pm 0,31$ a pulpa, $0,73 \pm 0,21$ a gerincvelő esetében). Az eltérő frakciógyűjtési és elektromos stimulációs protokoll hatásai a stimulált felszabadulás csökkenését jellemző FRS_2/FRS_1 , illetve a nyugalmi felszabadulás csökkenését jellemző FRR_2/FRR_1 hányadosban kiegyenlítődnek, így összehasonlíthatóvá válnak a különböző szövetek transzmitter felszabadulás karakterisztikái (19. ábra). Az ábrán látható, patkány frontális agykérgi szeleteken végzett méréseinket a gerincvelői mérésekkel párhuzamosan végeztük (Sircuta és mtsai 2016).



19. ábra. FRS_2/FRS_1 és FRR_2/FRR_1 hányados humán fogpulpán és patkány gerincvelőn, illetve frontális agykérgen végzett *in vitro* [3H]NA frakcionális felszabadulás mérések alapján. Megfigyelhetjük, hogy a fogpulpa az idegszövetéhez hasonló noradrenalin felszabadulás karakterisztikát mutat. (átlag \pm SD; $n=16$)

6. MEGBESZÉLÉS

6.1. Gerincvelői sértés

Kísérleteinkkel azt akartuk megállapítani, hogy a művi sértés hasonló változásokat okoz-e a noradrenalin felszabadulásban és felvételben, mint az ischaemiás viszonyok szimulálása in vitro (Uchihashi és mtsai 1998, Nakai és mtsai 1999, Sumiya és mtsai 2001) és in vivo (Globus és mtsai 1989). Az előbb idézett vizsgálatokat egészséges állatokkal végezték és oxigén- és glükózhányos perfúziós viszonyokkal szimulálták az ischaemiát. Ilyen körülmények között a gerincvelői noradrenalin felszabadulás 2,6-3,2-szeresére nőtt az ischaemia után 15-30 perccel.

Az idézett vizsgálatokkal ellentétben mi a gerincvelő féloldali, művi sértésével szimuláltuk a gerincvelő sérülését, majd 1, 3, illetve 14 nap után a sértéshez képest 2-5 mm-rel caudalisabban (Schoultz és DeLuca 1974, Mills és mtsai 2004) elhelyezkedő idegszövetet mikroperfúziós kamrákba helyezve (ex vivo), normális perfúziós viszonyok között mértük a noradrenalin felvétel és felszabadulás változásait.

6.1.1. Noradrenalin felszabadulás változása

Az elektronmikroszkópos vizsgálat már 3 nappal a sértés után az általános szöveti degeneráció jeleit mutatta, ennek ellenére számos ép szinapszis látszott a felvételeken. Bár ezen idegsejtek fiziológiás beidegzése megszűnt, méréseink megmutatták, hogy még a sértés után 14 nappal is ingerelhetőek voltak elektromosan, sőt, a kontrollhoz képest fokozott noradrenalin felszabadulást mutattak.

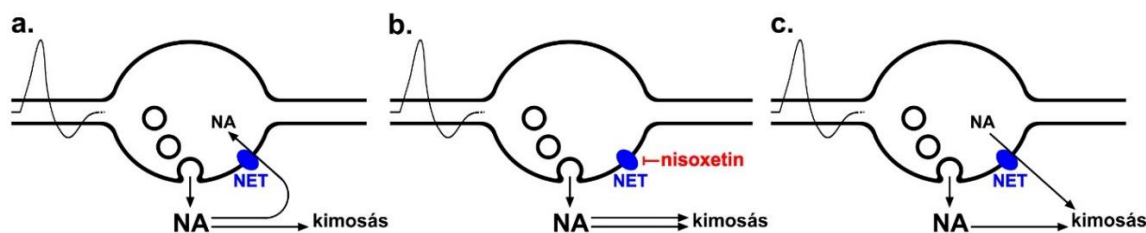
Méréseinkből kiderült, hogy a gerincvelői sértést követően az alapszinten meglévő, nyugalmi és az elektromos (axonális) ingerlés hatására fellépő, stimulált noradrenalin felszabadulás egyaránt fokozódik, azonban jóval kisebb mértékben, mint ischaemiás viszonyok között (Uchihashi és mtsai 1998, Nakai és mtsai 1999). Mivel a noradrenerg pályák az azonos oldali gerincvelőt idegzik be (vagyis nem kereszteződnek át) és a gerincvelői hemisectio megszünteti az idegrost folytonosságát, fiziológiás ingerületátvitelre a sérüléstől caudalisan nincs lehetőség (Dlouhy és mtsai 2013).

Ezért klinikai körülmények között a nyugalmi noradrenalin felszabadulás fokozódásának lehet jelentősége, melynek mértéke az eredményeink szerint 20% a gerincvelői sértés utáni 3. napon, irodalmi adatok szerint in vitro ischaemiás körülmények között azonban ennek sokszorososa lehet (Uchihashi és mtsai 1998, Nakai és mtsai 1999). A stimulált felszabadulás mérésének elsősorban a noradrenalin transzporter funkció vizsgálatában van jelentősége, ebből lehet ugyanis következtetni a transzmitter felszabadulás nem-szinaptikus jellegére (Vizi és mtsai 2010).

6.1.2. Noradrenalin felvétel változása

Kísérleti eredményeink alapján azt állíthatjuk, hogy a nisoxtin, amely hatásosan gátolja a noradrenalin újrafelvételt az ép gerincvelőben, a gerincvelői sértés után kevésbé tud kötni a noradrenalin transzporterekhez, így kisebb mértékben növeli meg a stimuláció utáni noradrenalin felszabadulást. A gátlás mértékére a művi sértés után eltelt idő is hatással volt: míg a kontroll csoportban az FRS₂ 73%-kal magasabb nisoxtinnel, mint anélkül, ez a különbség a gerincvelői sértés után 1 nappal 61%, a sértés után 3 nappal pedig 37% volt.

Ehhez hasonló tendencia az uptake kísérleteknél is megfigyelhető volt. Itt a nisoxtin már a [³H]NA jelölés *előtt* hozzá lett adva a preinkubációs oldathoz, így eleve kevesebb [³H]NA-t vett fel a szövet. Kontroll állatoknál 1 µM nisoxtin 75%-kal gátolta a felvételt, a sértés után 3 nappal viszont szignifikánsan kisebb mértékben, 62%-kal. Mindez azt jelzi, hogy a noradrenalin újrafelvételt gátló nisoxtin a sérülés után fokozatosan elveszti a hatásosságát. Ennek legvalószínűbb magyarázata, hogy a sérülés után a noradrenalin transzporterek egy része reverz módon működik, vagyis extracelluláris irányába engedi a transzmittert (20.c ábra), nem-szinaptikus lokalizációban (Vizi és mtsai 1982, Vizi és mtsai 2010). A reverz működésű transzporterek tehát eleve fokozott noradrenalin felszabaduláshoz vezetnek, mely viszont már nem gátolható nisoxtinnel (Mochizucki 2004).



20. ábra. *Egy akciós potenciált vagy elektromos stimulációt követően a vezikulumokból $[^3\text{H}]\text{NA}$ kerül az extracelluláris térbe. Ennek egy része újrafelvétel útján kerül vissza az idegsejtbe, másik része pedig enzimatikus úton lebomlik vagy a perfúziós oldatba kerül, amelyet gyűjtünk (a). Ha nisoxetinnel gátoljuk az újrafelvételt, több transzmitter marad az oldatban, így magasabb noradrenalin felszabadulás értéket mérünk (b). Hasonló felszabadulás növekedés mérhető, ha a transzporter reverz módon működik a gerincvelői sérülés következtében (c). (A szerző ábrája)*

Lehetséges, hogy a noradrenalin-szint növekedése mögött hasonló mechanizmus rejlik az ischaemia és az idegpálya folytonosságának megszakítása esetén. Hasonló jelenséget figyeltek meg ugyanis Uchihashi és mtsai. (1998), akik leírták, hogy gerincvelői ischaemia modellezésekor a $[^3\text{H}]\text{NA}$ felszabadulásban nincs preszinaptikus moduláció $\alpha_{2\text{A}}$ -adrenoceptorok által, ezért a felszabadulás nem vezikuláris transzmitter felszabadulás, hanem a transzporter reverz működése által valósul meg, mely nem áll preszinaptikus hatás alatt (Uchihashi és mtsai 1998, Sumiya és mtsai 2001, Szot és mtsai 2012).

6.1.3. Kölcsönhatás a noradrenalin és glutamát felszabadulás között

Ezzel egybevágó adatok vannak a gerincvelő sérülését követő glutamát felszabadulással kapcsolatban is, melyre szintén a transzporter reverz működésének köszönhető, nem-szinaptikus felszabadulás jellemző (Waxman és mtsai 1991, McAdoo és mtsai 2000, Li és Stys 2001). A gerincvelő sérülése (Demediuk és mtsai 1989, Inquimbert és mtsai 2012) vagy ischaemiája (Simpson és mtsai 1990) következtében túlzott mennyiségű glutamát választódik ki, illetve megfordul a transzmitter felvétele, ami a Ca^{2+} -szint növelése által helyi neurotoxikus hatást fejt ki (Wrathall és mtsai 1992, Sohn és mtsai 1998).

A glutamát N-metil-D-aszpartát (NMDA) és α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-izoxazolpropionsav (AMPA) receptorainak aktivációja fokozza a noradrenalin felszabadulást (Klarica és mtsai 1996, Sundström és mtsai 1998) és ez a hatás fordítva is érvényesül, a noradrenalin serkenti az NMDA-mediált ingerületátvitelt a gerincvelőben (Wohlberg és mtsai 1987). Ezek alapján valószínűsíthető, hogy a noradrenalin és a glutamát kölcsönösen elősegítik egymás fokozott felszabadulását és neurotoxikus hatását.

6.2. Helyi érzéstelenítés

6.2.1. A lidocain koncentrációja a gerincvelő érzéstelenítésekor

A helyi érzéstelenítő szereket epidurális érzéstelenítésnél 1,5-2%-os, spinális érzéstelenítésnél 1,5-5%-os, nagyobb idegek vezetési érzéstelenítésénél pedig 1-2%-os koncentrációban alkalmazzák. Higuchi és mtsai. (2004) kimutatták, hogy subarachnoideális injekció esetén elsődlegesen a liquor lumbosacralis térfogata (42–81 ml) határozza meg az érzéstelenítő hatás időtartamát, ami az érzéstelenítő szer koncentrációjával függ össze. 60 ml cerebrospinalis folyadékkal számolva 75 mg lidocain 4-5 mM-os koncentrációt is elérhet, ami 60-115 perces hatást biztosít (Moore és mtsai 1987). Vizsgálataink szerint ez a koncentráció elegendően magas ahhoz, hogy a transzmitter felszabadulást is befolyásolja. A posztoperatív neuropátiás fájdalomban adott folyamatos spinális érzéstelenítés pedig a hosszan tartó adagolás miatt még alacsonyabb koncentráció mellett is növelheti a neurotoxicitás esélyét (Berde és Strichartz 2010). Ezért kísérleteinkben 5 mM-os koncentrációban alkalmazzuk a lidocaint a neurokémiai transzmisszióban betöltött szerepének vizsgálata végett.

6.2.2. A Na⁺- és K⁺-csatornák szerepe

A feszültségfüggő Na⁺-csatornák számos gyógyszernek célpontjai, mint a fájdalomcsillapító, antiaritmiás és antiepileptikus szereknek (Lenkey és mtsai 2010, Lenkey és mtsai 2011), és a helyi érzéstelenítő szerek hatását is elsősorban ezen csatornák gátlásának tulajdonítják. Az érzéstelenítő szerek azonban a K⁺-csatornákat is gátolni tudják (Andreasen és Hablitz 1993, Olschewski és mtsai 1998, Scholz 2002,

Wolff és mtsai 2014), melyeknek kulcsfontosságú szerepük van a nyugalmi membránpotenciál beállításában (Dodson és Forsythe 2004, Kim és Kang 2015). Mivel többféle K^+ -áram is szerepet játszik az akciós potenciál repolarizációjában, bármilyen, K^+ -csatornákra kifejtett hatás befolyással lehet a transzmitter felszabadulásra is.

A lidocain 5 mM-os koncentrációban több, mint ötszörösére növelte a [3H]NA nyugalmi felszabadulását, ami a K^+ -csatorna gátlásának tulajdonítható. A K^+ -csatorna szelektív gátlása, mint a 4-AP esetén láthatjuk, a stimulált felszabadulást is megnöveli, a lidocain esetében azonban a Na^+ -csatorna egyidejű gátlása ezt megakadályozza (1. táblázat).

A szelektív Na^+ -csatorna blokkoló (Narahashi 1972, Kohane és mtsai 1998) és helyi érzéstelenítő hatású (Padera és mtsai 2006) TTX teljesen gátolta a stimulált felszabadulást. A TTX ilyen szempontból hasonló hatást fejt ki, mint a helyi érzéstelenítő szerek, még növelni is tudja azok hatásosságát (Kohane és mtsai 1998, Padera és mtsai 2006), azonban nem befolyásolta a nyugalmi [3H]NA felszabadulást.

A szelektív K^+ -csatorna blokkoló 4-AP ezzel szemben a stimulált és nyugalmi noradrenalin felszabadulást egyaránt megnövelte. Az axonális aktivitástól független nyugalmi felszabadulás növelése járulhat hozzá ahhoz, hogy a 4-AP tónusos-klónusos rohamhoz vezethet a páciensekben (King és mtsai 2012). Míg azonban az érzéstelenítő szerek részlegesen vagy teljesen gátolják a stimulált felszabadulást, a 4-AP azt is megnöveli a gerincvelőben.

1. táblázat. Na^+ - és K^+ -csatorna blokkoló szerek hatása a gerincvelői noradrenalin felszabadulásra. Eredményeink konzekvensen mutatják a Na^+ - és K^+ -csatorna gátlásának szerepét, külön-külön és kombinálva is (vö. 16. ábra).

	Lidocain	Tetrodotoxin	4-aminopiridin
Na^+-csatorna gátlás stimulált release gátlása	igen	igen	nem
K^+-csatorna gátlás stimulált és nyugalmi release serkentése	igen	nem	igen
	nyugalmi release fokozott, stimulált release gátolt	nyugalmi release normális, stimulált release gátolt	nyugalmi release fokozott, stimulált release fokozott

6.2.3. A magas noradrenalin koncentráció jelentősége

Úgy gondoljuk, hogy a helyi érzéstelenítő szerek egyes mellékhatásai szintén a kémiai neurotranszmisszióra kifejtett hatásuknak köszönhető, méghozzá a Na⁺- és K⁺-csatornák kombinált gátlása által, ami a noradrenalin stimulált (Na⁺-csatorna függő) felszabadulásának gátlásához és a nyugalmi (K⁺-csatorna függő) felszabadulásának növekedéséhez vezet. Ezt a megfigyelést támasztják alá azok a vizsgálatok, melyek szerint egyes, K⁺-csatornákat megnyitó (vagyis a 4-AP-el ellenkező hatású) szerek a noradrenalin nyugalmi és stimulált felszabadulását egyaránt gátolják (Soares-da-Silva és Fernandes 1990, Takata és mtsai 1992, Oe és mtsai 1999).

Bizonyított, hogy noradrenerg mechanizmusok szerepet játszanak a neuropátiás fájdalom enyhítésében (Takano és Yaksh 1992), ezért valószínűsíthető, hogy a spinális érzéstelenítés következtében fellépő noradrenalin felszabadulásnak is szerepe lehet a helyi érzéstelenítő oldat fájdalomcsillapító hatásban. Ezt támasztja alá az a tény, hogy az A5, A6 és A7 magokból származó leszálló noradrenerg rendszer fájdalomcsillapító hatást fejt ki a gerincvelői nociceptív primer afferens rostok glutamát felszabadulásának gátlásával (Kamisaki és mtsai 1993), amely hatást α_2 -receptor antagonistákkal gátolni lehet (Takano és Yaksh 1992). Krónikus fájdalom enyhítésére klinikailag is alkalmaznak a noradrenalin hatását utánzó α_2 -receptor agonistákat (pl. klonidint) spinális érzéstelenítés formájában (Rauck és mtsai 1993).

Ugyanakkor a noradrenalin magas koncentrációja a bomlástermékei révén neurotoxikus hatással is lehet a környező idegsejtekre (Burke és mtsai 2004).

6.3. Fogpulpa

A fogpulpa szimpatikus beidegzés és hormonális szabályozás révén noradrenerg hatás alatt áll, aminek irodalmi adatok szerint szerteágazó jelentősége van a pulpa véráramlásának, gyulladási folyamatainak és fájdalomérzetének szabályozásában (Olgart 1996, Haug és Heyeraas 2006). A noradrenalin felszabadulására, receptorkötésére és felvételére számos gyógyszer van hatással, például a transzmitter újrafelvételét gátló antidepresszánsok, az α_1 -receptort blokkoló vérnyomáscsökkentők és antipszichotikumok, illetve a transzmitter felszabadulását az α_2 -receptoron keresztül

preszinaptikusan gátló, a helyi érzéstelenítésben alkalmazott adrenalin (Parker és mtsai 1999, Knadler és mtsai 2011, Serrera és mtsai 2012, Wong és mtsai 2015, Saka 2016, Singh és mtsai 2016).

A pulpába futó kb. 2300 idegrostoknak nagyjából 1,5%-a biztosít noradrenerg beidegzést (Fehér és mtsai 1977, Nair 1995). Ezért figyelemre méltó, hogy mikroperfúziós kamrákban, elektromos téringerlés mellett a fogpulpában a [³H]NA felvétel és felszabadulás az idegszövetéhez hasonló volt (19. ábra). A felvétel 116 ± 69 kBq/g volt a pulpából és 149 ± 32 kBq/g a gerincvelőből készült szövetszeletek esetében. Bár a noradrenalin uptake 2 útján az érendothel és a simaizmok is fel tudják venni, a fogpulpában is az idegsejtek noradrenalin transzportere által megvalósuló uptake 1 dominál, tehát a méréseinkben felszabadult noradrenalin idegi eredetű (Marino és mtsai 1992, Parker és mtsai 1994).

A gerincvelői kísérletekkel ellentétben nem végeztünk preperfúziót, vagyis a szövet által fel nem vett [³H]NA kimosását, ez indokolja az első frakciók magas mért felszabadulás értékét (18. ábra), ami nem az idegsejtek transzmitter felszabadulását tükrözi. Ha ezt az első 60 percben mért felszabadulást nem vesszük figyelembe, és az elő-ingerlésből származó felszabadulással együtt csak preperfúzióknak tekintjük, akkor is viszonylag magas, 85 ± 53 kBq/g-os értéket kapunk a fogpulpá [³H]NA felvételére.

Frakcionális noradrenalin felszabadulás eredményeik egybevágóak a Parker és mtsai. (1994, 2013) által leírtakkal. Hasonló kísérleti módszerrel Parker és kutatócsoportja már több másik neurotranszmitter, például a gamma-amino-vajsav (GABA) és az adenzin felszabadulását is vizsgálta már fogpulpában (Marino és Parker 2003, Nassery és mtsai 2007), illetve ezen transzmitterek receptorainak noradrenalin felszabadulásra kifejtett hatását (Parker és mtsai 2000, Parker és Marino 2013). Eredményeik szerint a GABA gátlja a noradrenalin stimulált felszabadulását, a nyugalmi felszabadulásra viszont nincs hatással. Az adenzin nem befolyásolja a noradrenalin felszabadulását a pulpában.

Azt is bizonyították, hogy a fogpulpában a noradrenalin felszabadulása az α_2 -receptorok közvetítésével preszinaptikus gátlás alatt áll, ami fiziológias viszonyok között az adrenalin hatásának, illetve a noradrenalin felszabadulás negatív visszacsatolásának köszönhető (Parker és mtsai 1994, 1999).

Munkájukban Parker és kutatócsoportja azonban csak különböző transzmitterek és receptorok kölcsönhatását vizsgálta a pulpában. A szakirodalom szerint olyan vizsgálat egyelőre nem született, amelyben klinikailag előforduló farmakológiai vagy patológias hatások szerepét vizsgálták volna hasonló módszerrel. Úgy gondoljuk, érdekes volna lemérni, hogy egyes, széles körben alkalmazott, noradrenerg neurotranszmisszióra ható gyógyszerek, mint pl. antidepresszánsok, vérnyomáscsökkentők és a rutinszerűen alkalmazott helyi érzéstelenítők szerek (Knadler és mtsai 2011, Wong és mtsai 2015, Singh és mtsai 2016), a klinikailag alkalmazott koncentrációban befolyásolják-e a noradrenalin felszabadulását, és ezáltal a pulpa és a szájüregi szövetek véráramlását, fájdalmát és gyulladásos folyamatait (Olgart 1996, Haug és Heyeraas 2006). Az általunk alkalmazott mikroperfúziós és elektromos téringerléses módszer pontossága és jó reprodukálhatósága miatt alkalmasnak tűnik ennek a vizsgálatára.

7. KÖVETKEZTETÉSEK

1) Vizsgálatainkban elsőként mértük a noradrenalin felszabadulás változását a gerincvelő sérülése után, melyet féloldali, művi átmetszéssel (hemisectióval) szimuláltuk patkányokon. 3 nap után a decentralizált idegvégződésekből a noradrenalin felszabadulás szignifikánsan megnőtt, nyugalomban és ingerlés után egyaránt. Az elektronmikroszkópos felvételek a szöveti degeneráció jeleit mutatták.

2) A noradrenalin újrafelvételét szelektíven gátló nisoxetin hatása a sérülés után lecsökkent a kontrollhoz képest.

Arra következtetünk, hogy gerincvelői sérülés után a noradrenalin magas koncentrációja a metabolitjai és a glutamát felszabadulás serkentése által neurotoxikus hatású.

3) Méréseinkkel elsőként jellemeztük a gerincvelő noradrenalin felszabadulásának változásait lidocain és szelektív Na⁺- és K⁺-csatorna blokkolók szerek adása után. A Na⁺-csatorna blokkolása felelős a stimulált felszabadulás gátlásáért, a K⁺-csatorna blokkolása pedig a nyugalmi és stimulált felszabadulás fokozódásáért. A mindkét csatornát gátló lidocain szignifikánsan megnövelte a noradrenalin felszabadulást, ami hozzájárulhat fájdalomcsillapító hatásához, de neurotoxikus mellékhatásához is.

4) Humán fogpulpán végzett méréseink bizonyítják, hogy a pulpa noradrenerg idegvégződése hatékonyan ingerelhetőek elektromosan, a transzmitter felszabadulás az idegszövetéhez hasonló karakterisztikát mutat. Ezért a technika alkalmas lehet különböző farmakológiai ágenseknek, illetve patológias jelenségeknek a fogpulpai neurotranszmisszióra kifejtett hatásának vizsgálatára.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Kutatásunkban a noradrenalin szerepét vizsgáltuk a gerincvelő sérülését követő szekunder károsodásban, a gerincvelő érzéstelenítésében, illetve egy humán fogpulpa kísérleti modellben. Ehhez a vizsgált szövetet mikroperfúziós kamrákba helyeztük, és nyugalomban, illetve elektromos stimuláció mellett mértük a felszabaduló noradrenalin mennyiségét.

Méréseinkkel elsőként bizonyítottuk, hogy a gerincvelő sérülése után lokálisan megnő a noradrenalin extracelluláris szintje, aminek szerepe lehet az idegszövet szekunder károsodásában. Ez a károsodás egyrészt a noradrenalin metabolitok citotoxikus hatásán keresztül, másrészt a glutamát excitotoxikus hatásának fokozásán keresztül valósul meg. Ezen felül a noradrenalin módosíthatja a sérülést követő gyulladós folyamatokat és nociceptív ingerületátvitelt is. Kiemelendő, hogy a fokozott noradrenalin felszabadulás statisztikailag szignifikáns, azonban jóval kisebb mértékű, mint ischaemiás körülmények között, ezért további vizsgálatok szükségesek a klinikai jelentőségének megerősítéséhez. Új eredményünk továbbá, hogy a noradrenalin újrafelvételt gátló nisoxetin hatékonyan gátolja a transzmitter felvételét az idegsejtekbe, a gerincvelői sértés után a hatásereősége azonban fokozatosan csökken. Ez az irodalmi adatokkal összhangban megerősíti, hogy a noradrenalin felszabadulása patológiás viszonyok között elsősorban nem-szinaptikusan, a noradrenalin transzporter fordított működése révén valósul meg.

Kimutattuk, hogy a lidocain a klinikumban végzett gerincvelői érzéstelenítés során fokozza a noradrenalin lokális felszabadulását. Ez a lidocain K^+ csatorna blokkoló hatásának köszönhető, axonális ingerléstől független, nyugalmi, nemszinaptikus transzmitter felszabadulás. A szelektív Na^+ -csatorna blokkoló tetrodotoxin gátolja a stimulált noradrenalin felszabadulást, a szelektív K^+ -csatorna blokkoló 4-aminopiridin pedig a nyugalmi és a stimulált felszabadulást egyaránt fokozza.

Humán fogpulpa noradrenerg idegvégződéseinek mikroperfúziós kamrákban hatékonyan ingerelhetőek az alkalmazott elektromos téringerléses módszerrel, a noradrenalin felszabadulás az idegszövetéhez hasonló karakterisztikát mutat. A kísérleti modell alkalmas lehet egyes farmakológiai vagy patológiás hatások fogpulpai neurotranszmisszióra kifejtett hatásának vizsgálatára.

Vizsgálataink bizonyítják a gerincvelői sérülést követően a lokális noradrenalin-szint megemelkedését, ami hozzájárulhat a gerincvelő szekunder károsodásához. Méréseink szerint szintén fokozza a noradrenalin felszabadulását a gerincvelő érzéstelenítéséhez használt lidocain. Az általunk alkalmazott transzmitter felszabadulás mérési technika humán fogpulpán is jól alkalmazható.

9. SUMMARY

We investigated the role of noradrenaline in the secondary injury of the spinal cord, in spinal anaesthesia and in a human dental pulp experimental method. We used microperfusion chambers and electrical field stimulation to measure noradrenaline release during resting conditions and after stimulation.

Our study is the first to describe a significant increase in the local release of noradrenaline from the spinal cord after its injury. This might be a component of its secondary injury due to the cytotoxicity of noradrenaline's metabolites and its enhancing effect on glutamate release. Beyond these, noradrenaline also influences the inflammation and nociception of the spinal cord. Although the increase in noradrenaline release reported in our study was statistically significant, it was well below the magnitude reported during ischaemia, thus further studies are necessary to confirm its clinical significance.

Another new finding is that while the noradrenaline reuptake inhibitor nisoxetine potently inhibits noradrenaline reuptake in healthy tissue, it loses its efficiency after spinal cord injury. In accordance with the literature, this confirms that the increase in noradrenaline release during pathological conditions is due to a non-synaptic mechanism mediated by the reversed function of the noradrenaline transporter.

We showed that in concentrations achieved clinically during spinal anaesthesia, lidocaine significantly increases local noradrenaline release. This is due to its inhibitory effect on K^+ channels, and is non-synaptic and independent from axonal stimulation. The selective Na^+ channel blocker tetrodotoxin inhibits the stimulated release of noradrenaline, and the selective K^+ channel blocker 4-aminopyridine increases both the resting and stimulated release of the transmitter.

The noradrenergic terminals of the dental pulp can be effectively stimulated via electric field stimulation in microperfusion chambers, and the characteristics of noradrenaline release are similar to that of neural tissue. This experimental procedure could be useful to study the effects of certain pharmacological and pathological conditions on neurotransmitter release of the human dental pulp.

Our measurements prove that there is an increase in local noradrenaline release following the injury of the spinal cord, which might contribute to its secondary injury. The use of lidocaine during spinal anaesthesia also increases noradrenaline release. The experimental procedure used in our studies can also be applied to measure neurotransmitter release in the human dental pulp.

10. IRODALOMJEGYZÉK

Aars H, Gazelius B, Edwall L, Olgart L. (1992) Effects of autonomic reflexes on tooth pulp blood flow in man. *Acta Physiol Scand*, 146 (4): 423-429.

Abd-Elmeguid A, Yu DC. (2009) Dental pulp neurophysiology: part 1. Clinical and diagnostic implications. *J Can Dent Assoc*, 75 (1): 55-59.

Acosta C1, Anderson HD, Anderson CM. (2017) Astrocyte dysfunction in Alzheimer disease. *J Neurosci Res*, doi: 10.1002/jnr.24075.

Ádám V. A kémiai idegingerület átvitel (neurotranszmisszió) molekuláris alapjai. In: Ádám V (szerk.), *Orvosi biokémia*. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 2004: 525-548.

Agarwal R, Gutlove DP, Lockhart CH. (1992) Seizures occurring in pediatric patients receiving continuous infusion of bupivacaine. *Anesth Analg*, 75 (2): 284–286.

Ambrosi G, Cerri S, Blandini F. (2014) A further update on the role of excitotoxicity in the pathogenesis of Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*, 121 (8): 849-859.

Andreasen M, Hablitz JJ. (1993) Local anesthetics block transient outward potassium currents in rat neocortical neurons. *J Neurophysiol*, 69 (6): 1966–1975.

Arvin B, Le Peillet E, Dürmüller N, Chapman AG, Meldrum BS. (1992) Electrolytic lesions of the locus coeruleus or 6-hydroxydopamine lesions of the medial forebrain bundle protect against excitotoxic damage in rat hippocampus. *Brain Res*, 579 (2): 279-284.

Banik NL, Hogan EL, Powers JM, Whetstine LJ. (1982) Degradation of cytoskeletal proteins in experimental spinal cord injury. *Neurochem Res*, 7 (12): 1465-1475.

Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. (1995) A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma*, 12 (1): 1-21.

Bedoui S, Kawamura N, Straub RH, Pabst R, Yamamura T, von Hörsten S. (2003) Relevance of neuropeptide Y for the neuroimmune crosstalk. *J Neuroimmunol*, 134 (1-2): 1-11.

Berde CB, Strichartz GR. Local Anesthetics. In: Miller RD (szerk.), Miller's Anesthesia. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2010: 913–939.

Berridge CW, Schmeichel BE, España RA. (2012) Noradrenergic modulation of wakefulness/arousal. *Sleep Med Rev*, 16 (2): 187-197.

Bosshardt DD, Stadlinger B, Terheyden H. (2015) Cell-to-cell communication - periodontal regeneration. *Clin Oral Implants Res*, 26 (3): 229-239.

Bouwman NA, Morre HH. (2013) Lidocaine-induced seizure during carotid endarterectomy. *Clin Neurophysiol*, 124 (7): 1481–1483.

Brassai A, Suvanjev RG, Bán EG, Lakatos M. (2015) Role of synaptic and nonsynaptic glutamate receptors in ischaemia induced neurotoxicity. *Brain Res Bull*, 112: 1–6.

Breau MA, Pietri T, Stemmler MP, Thierry JP, Weston JA. (2008) A nonneural epithelial domain of embryonic cranial neural folds gives rise to ectomesenchyme. *Proc Natl Acad Sci*, 105 (22): 7750-7755.

Bromage PR, Joyal AC, Binney JC. (1963) Local anesthetic drugs: penetration from the spinal extradural space into the neuraxis. *Science*, 140 (3565): 392–394.

Bruinstroop E, Cano G, Vanderhorst VG, Cavalcante JC, Wirth J, Sena-Esteves M, Saper CB. (2012) Spinal projections of the A5, A6 (locus coeruleus), and A7 noradrenergic cell groups in rats. *J Comp Neurol*, 520 (9): 1985–2001.

Burke WJ, Kristal BS, Yu BP, Li SW, Lin TS. (1998) Norepinephrine transmitter metabolite generates free radicals and activates mitochondrial permeability transition: a mechanism for DOPEGAL-induced apoptosis. *Brain Res*, 787 (2): 328-332.

Burke WJ, Li SW, Chung HD, Ruggiero DA, Kristal BS, Johnson EM, Lampe P, Kumar VB, Franko M, Williams EA, Zahm DS. (2004) Neurotoxicity of MAO metabolites of catecholamine neurotransmitters: role in neurodegenerative diseases. *Neurotoxicology*, 25 (1–2): 101–115.

Byers MR, Dong WK. (1983) Autoradiographic location of sensory nerve endings in dentin of monkey teeth. *Anat Rec*, 205 (4): 441-454.

Casasco A, Frattini P, Casasco M, Santagostino G, Springall DR, Kuhn DM, Polak JM. (1995) Catecholamines in human dental pulp. A combined immunohistochemical and chromatographic study. *Eur J Histochem*, 39 (2): 133-140.

Caviedes-Bucheli J, Muñoz HR, Azuero-Holguín MM, Ulate E. (2008) Neuropeptides in dental pulp: the silent protagonists. *J Endod*, 34 (7): 773-788.

Chavarría-Bolaños D, Martínez-Zumaran A, Lombana N, Flores-Reyes H, Pozos-Guillen A. (2014) Expression of substance P, calcitonin gene-related peptide, β -endorphin and methionine-enkephalin in human dental pulp tissue after orthodontic intrusion: a pilot study. *Angle Orthod*, 84 (3): 521-526.

Chiu IM, von Hehn CA, Woolf CJ. (2012) Neurogenic inflammation and the peripheral nervous system in host defense and immunopathology. *Nat Neurosci*, 15 (8): 1063-1067.

Christensen K. (1940) Sympathetic nerve fibres in the alveolar nerves and nerves of the dental pulp. *J Dent Res* 19: 227–242.

Clark FM, Proudfit HK. (1991) The projection of locus coeruleus neurons to the spinal cord in the rat determined by anterograde tracing combined with immunocytochemistry. *Brain Res*, 538 (2): 231–245.

Cobourne M, Sharpe PT. Tooth development. In: pocketdentistry.com/3-tooth-development. Letöltés: 2017. május 1.

Coleman MP, Conforti L, Buckmaster EA, Tarlton A, Ewing RM, Brown MC, Lyon MF, Perry VH. (1998) An 85-kb tandem triplication in the slow Wallerian degeneration (Wlds) mouse. *Proc Natl Acad Sci*, 95 (17): 9985-9990.

Cripps RA, Lee BB, Wing P, Weerts E, Mackay J, Brown D. (2011) A global map for traumatic spinal cord injury epidemiology: towards a living data repository for injury prevention. *Spinal Cord*, 49 (4): 493–501.

Danbolt NC. (2001) Glutamate uptake. *Prog Neurobiol*, 65 (1): 1-105.

Dawson R Jr, Wallace DR. (1992) Kainic acid-induced seizures in aged rats: neurochemical correlates. *Brain Res Bull*, 29 (3-4): 459-468.

Delaney AJ, Crane JW, Sah P. (2007) Noradrenaline modulates transmission at a central synapse by a presynaptic mechanism. *Neuron*, 56 (5): 880-892.

Demediuk P, Daly MP, Faden AI. (1989) Effect of impact trauma on neurotransmitter and nonneurotransmitter amino acids in rat spinal cord. *J Neurochem*, 52 (5): 1529–1536.

Di Cesare Mannelli L, Micheli L, Crocetti L, Giovannoni MP, Vergelli C, Ghelardini C. (2017) $\alpha 2$ Adrenoceptor: a Target for Neuropathic Pain Treatment. *Mini Rev Med Chem*, 17 (2): 95-107.

Dlouhy BJ, Dahdaleh NS, Howard MA. (2013) Radiographic and intraoperative imaging of a hemisection of the spinal cord resulting in a pure Brown-Séquard syndrome: case report and review of the literature. *J Neurosurg Sci*, 57 (1): 81-86.

Dodson PD, Forsythe ID. (2004) Presynaptic K⁺ channels: electrifying regulators of synaptic terminal excitability. *Trends Neurosci*, 27 (4): 210–217.

Edwall B, Gazelius B, Fazekas A, Theodorsson-Norheim E, Lundberg JM. (1985) Neuropeptide Y (NPY) and sympathetic control of blood flow in oral mucosa and dental pulp in the cat. *Acta Physiol Scand*, 125 (2): 253-264.

Edwall L, Kindlová M. (1971) The effect of sympathetic nerve stimulation on the rate of disappearance of tracers from various oral tissues. *Acta Odontol Scand*, 29 (4): 387-400.

Edwall L, Scott D Jr. (1971) Influence of changes in microcirculation on the excitability of the sensory unit in the tooth of the cat. *Acta Physiol Scand*, 82 (4): 555-566.

Elenkov IJ, Haskó G, Kovács KJ, Vizi ES. (1995) Modulation of lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor- α production by selective alpha- and beta-adrenergic drugs in mice. *J Neuroimmunol*, 61 (2): 123–131.

Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi, ES. (2000) The sympathetic nerve – an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol Rev*, 52 (4): 595–638.

Evers H, Heagerstam G. Introduction to dental local anaesthesia, second edition. Mediglobe SA, Fribourg, 1990. Illusztrálta: Poul Buckhøj.

- Faccenda KA, Finucane BT. (2001) Complications of regional anaesthesia incidence and prevention. *Drug Saf*, 24 (6): 413–442.
- Faden AI, Simon RP. (1988) A potential role for excitotoxins in the pathophysiology of spinal cord injury. *Ann Neurol*, 23 (6): 623–626.
- Farooque M, Hillered L, Holtz A, Olsson Y. (1996) Changes of extracellular levels of amino acids after graded compression trauma to the spinal cord: an experimental study in the rat using microdialysis. *J Neurotrauma*, 13 (9): 537-548.
- Fazekas A, Györfi A, Irmes F, Rosivall L. (1992) Effect of substance P administration on vascular permeability in the rat dental pulp and submandibular gland. *Proc Finn Dent Soc*, 88 Suppl 1: 481-486.
- Fazekas A, Vindisch K, Pósch E, Györfi A. (1990) Experimentally-induced neurogenic inflammation in the rat oral mucosa. *J Periodontal Res*, 25 (5): 276-282.
- Fehér E, Csányi K, Vajda J. (1977) Ultrastructure and degeneration analysis of the nerve fibres of the tooth pulp in the cat. *Arch Oral Biol*, 22 (12):699-704.
- Feng YP, Yang K, Li YQ. (2001) Analgesic mechanisms of noradrenaline in the spinal dorsal horn. *Sheng Li Ke Xue Jin Zhan*, 32 (3): 225-228.
- Földes A, Kádár K, Kerémi B, Zsembery Á, Gyires K, S Zádori Z, Varga G. (2016) Mesenchymal stem cells of dental origin - their potential for antiinflammatory and regenerative actions in brain and gut damage. *Curr Neuropharmacol*, 14 (8): 914-934.
- Fried K, Sessle BJ, Devor M. (2011) The paradox of pain from tooth pulp: low-threshold algoneurons? *Pain*, 152 (12): 2685-2689.
- Fürst S. (1999) Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. *Brain Res Bull*, 48 (2): 129-141.
- Gallatz K. A fogak anatómiája, szövettana, fejlődése, dentitio. In: Fehér E (szerk.), *Maxillofaciális anatómia*. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 2001: 38-71.
- Gibbs JL, Hargreaves KM. (2008) Neuropeptide Y Y1 receptor effects on pulpal nociceptors. *J Dent Res*, 87 (10): 948-952.

Globus MY, Busto R, Dietrich WD, Martinez E, Valdés I, Ginsberg MD. (1989) Direct evidence for acute and massive norepinephrine release in the hippocampus during transient ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*, 9 (6): 892–896.

Gustavsson A, Svensson M, Jacobi F, Allgulander C, Alonso J, Beghi E, Dodel R, Ekman M, Faravelli C, Fratiglioni L, Gannon B, Jones DH, Jennum P, Jordanova A, Jönsson L, Karampampa K, Knapp M, Kobelt G, Kurth T, Lieb R, Linde M, Ljungcrantz C, Maercker A, Melin B, Moscarelli M, Musayev A, Norwood F, Preisig M, Pugliatti M, Rehm J, Salvador-Carulla L, Schlehofer B, Simon R, Steinhausen HC, Stovner LJ, Vallat JM, Van den Bergh P, van Os J, Vos P, Xu W, Wittchen HU, Jönsson B, Olesen J. (2011) Cost of disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol*. 21 (10): 718-779.

Gyórfi A, Fazekas A, Rosivall L. (1992) Neurogenic inflammation and the oral mucosa. *J Clin Periodontol*, 19 (10): 731-736.

Hajdu F. *Vezérfonal a neuroanatómiához*. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2004.

Halonen T, Kotti T, Tuunanen J, Toppinen A, Miettinen R, Riekkinen PJ. (1995) Alpha 2-adrenoceptor agonist, dexmedetomidine, protects against kainic acid-induced convulsions and neuronal damage. *Brain Res*, 693 (1-2): 217-224.

Hargreaves KM, Bowles WR, Jackson DL. (2003) Intrinsic regulation of CGRP release by dental pulp sympathetic fibers. *J Dent Res*, 82 (5): 398-401.

Haskó G, Shanley TP, Egnaczyk G, Németh ZH, Salzman AL, Vizi ES, Szabó C. (1998) Exogenous and endogenous catecholamines inhibit the production of macrophage inflammatory protein (MIP) 1 alpha via a beta adrenoceptor mediated mechanism. *Br J Pharmacol*, 125 (6): 1297–1303.

Haug SR, Brudvik P, Fristad I, Heyeraas KJ. (2003) Sympathectomy causes increased root resorption after orthodontic tooth movement in rats: immunohistochemical study. *Cell Tissue Res*, 313 (2): 167-175.

Haug SR, Heyeraas KJ. (2003) Effects of sympathectomy on experimentally induced pulpal inflammation and periapical lesions in rats. *Neuroscience*, 120 (3): 827-836.

Haug SR, Heyeraas KJ. (2006) Modulation of dental inflammation by the sympathetic nervous system. *J Dent Res*, 85 (6): 488-495.

Higuchi H, Hirata J, Adachi Y, Kazama T. (2004) Influence of lumbosacral cerebrospinal fluid density, velocity, and volume on extent and duration of plain bupivacaine spinal anesthesia. *Anesthesiology*, 100 (1): 106–114.

Holstege JC, Bongers CM. (1991) Ultrastructural aspects of the coeruleo-spinal projection. *Prog Brain Res*, 88: 143-156.

Howorth PW, Teschemacher AG, Pickering AE. (2009) Retrograde adenoviral vector targeting of nociresponsive pontospinal noradrenergic neurons in the rat in vivo. *J Comp Neurol*, 512 (2): 141-157.

Ibricevic H, Heyeraas KJ, Pasic Juhas E, Hamamdžić M, Djordjević N, Krnić J. (1991) Identification of alpha 2 adrenoceptors in the blood vessels of the dental pulp. *Int Endod J*, 24 (6): 279-289.

Inquimbert P, Bartels K, Babaniyi OB, Barrett LB, Tegeder I, Scholz J. (2012) Peripheral nerve injury produces a sustained shift in the balance between glutamate release and uptake in the dorsal horn of the spinal cord. *Pain*, 153 (12): 2422–2431.

Jackson VM, Cunnane TC. (2001) Neurotransmitter release mechanisms in sympathetic neurons: past, present, and future perspectives. *Neurochem Res*, 26 (8-9): 875-889.

Jazayeri SB, Beygi S, Shokraneh F, Hagen EM, Rahimi-Movaghar V. (2015) Incidence of traumatic spinal cord injury worldwide: a systematic review. *Eur Spine J*, 24 (5): 905–918.

Jones SL. (1991) Descending noradrenergic influences on pain. *Prog Brain Res*, 88: 381-394.

Kádár K, Király M, Porcsalmy B, Molnár B, Rácz GZ, Blazsek J, Kálló K, Szabó EL, Gera I, Gerber G, Varga G. (2009) Differentiation potential of stem cells from human dental origin - promise for tissue engineering. *J Physiol Pharmacol*, 7: 167-175.

Kamisaki Y, Hamada T, Maeda K, Ishimura M, Itoh T. (1993) Presynaptic alpha2 adrenoceptors inhibit glutamate release from rat spinal cord synaptosomes. *J Neurochem*, 60 (2): 522–526.

Kerezoudis NP, Olgart L, Edwall L, Gazelius B, Nomikos GG. (1992) Activation of sympathetic fibres in the pulp by electrical stimulation of rat incisor teeth. *Arch Oral Biol*, 37 (12): 1013-1039.

Kim D, Kang D. (2015) Role of K(2)p channels in stimulus-secretion coupling. *Pflugers Arch*, 467 (5): 1001–1011.

Kim S, Dörscher-Kim JE, Liu M. (1989) Microcirculation of the dental pulp and its autonomic control. *Proc Finn Dent Soc*, 85 (4-5) :279-287.

Kim S. (1985) Regulation of pulpal blood flow. *J Dent Res*, 64: 590-596.

King AM, Menke NB, Katz KD, Pizon AF. (2012) 4-Aminopyridine toxicity: a case report and review of the literature. *J Med Toxicol*, 8 (3): 314–321.

Király M, Kádár K, Horváthy DB, Nardai P, Rácz GZ, Lacza Z, Varga G, Gerber G. (2011) Integration of neuronally predifferentiated human dental pulp stem cells into rat brain in vivo. *Neurochem Int*, 59 (3): 371-381.

Király M, Porcsalmy B, Pataki A, Kádár K, Jelitai M, Molnár B, Hermann P, Gera I, Grimm WD, Ganss B, Zsembery A, Varga G. (2009) Simultaneous PKC and cAMP activation induces differentiation of human dental pulp stem cells into functionally active neurons. *Neurochem Int*, 55 (5): 323-332.

Klarica M, Fage D, Carter C. (1996) Pharmacology of N-methyl-D-aspartate-evoked [3H]noradrenaline release in adult rat spinal cord. *Eur J Pharmacol*, 308 (2): 135–144.

Knadler MP, Lobo E, Chappell J, Bergstrom R. (2011) Duloxetine: clinical pharmacokinetics and drug interactions. *Clin Pharmacokinet*, 50 (5): 281-294.

Kohane DS, Yieh J, Lu NT, Langer R, Strichartz GR, Berde CB. (1998) A re-examination of tetrodotoxin for prolonged duration local anesthesia. *Anesthesiology*, 89 (1): 119–131.

Kostic M, Zivkovic N, Stojanovic I. (2013) Multiple sclerosis and glutamate excitotoxicity. *Rev Neurosci*, 24 (1): 71-88.

- Kuraishi Y. (2015) Noradrenergic modulation of itch transmission in the spinal cord. *Handb Exp Pharmacol*, 226: 207-217.
- Lee BB, Cripps RA, Fitzharris M, Wing PC. (2014) The global map for traumatic spinal cord injury epidemiology: update 2011, global incidence rate. *Spinal Cord*, 52 (2): 110–116.
- Lenkey N, Karoly R, Epresi N, Vizi ES, Mike A. (2011) Binding of sodium channel inhibitors to hyperpolarized and depolarized conformations of the channel. *Neuropharmacology*, 60 (1): 191–200.
- Lenkey N, Karoly R, Lukacs P, Vizi ES, Sunesen M, Fodor L, Mike A. (2010) Classification of drugs based on properties of sodium channel inhibition: a comparative automated patch-clamp study. *PLoS One*, 5 (12): e15568.
- Li S, Stys PK. (2001) Na(+)-K(+)-ATPase inhibition and depolarization induce glutamate release via reverse Na(+)-dependent transport in spinal cord white matter. *Neuroscience*, 107 (4): 675-683.
- Lipton SA, Rosenberg PA. (1994) Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *N Engl J Med*, 330 (9): 613–622.
- Lisney SJ. (1978) Some anatomical and electrophysiological properties of tooth-pulp afferents in the cat. *J Physiol*, 284: 19-36.
- Liu D, Thangnipon W, McAdoo DJ. (1991) Excitatory amino acids rise to toxic levels upon impact injury to the rat spinal cord. *Brain Res*, 547 (2): 344-348.
- Liu D, Xu GY, Pan E, McAdoo DJ. (1999) Neurotoxicity of glutamate at the concentration released upon spinal cord injury. *Neuroscience*, 93 (4): 1383-1389.
- Liu DX, Valadez V, Sorkin LS, McAdoo DJ. (1990) Norepinephrine and serotonin release upon impact injury to rat spinal cord. *J Neurotrauma*, 7 (4): 219–227.
- Liu NK, Xu XM. (2012) Neuroprotection and its molecular mechanism following spinal cord injury. *Neural Regen Res*, 7 (26): 2051–2062.
- Llorca-Torrallba M, Borges G, Neto F, Mico JA, Berrocoso E. (2016) Noradrenergic Locus Coeruleus pathways in pain modulation. *Neuroscience*, 338: 93-113.

Lohinai Z, Balla I, Marczis J, Vass Z, Kovách AG. (1995) Evidence for the role of nitric oxide in the circulation of the dental pulp. *J Dent Res*, 74 (8): 1501-1506.

Lu J, Ashwell KW, Waite P. (2000) Advances in secondary spinal cord injury: role of apoptosis. *Spine (Phila Pa 1976)*, 25 (14): 1859-1866.

MacDermott AB, Mayer ML, Westbrook GL, Smith SJ, Barker JL. (1986) NMDA-receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cord neurones. *Nature*, 321 (6069): 519-522.

Marino V, de la Lande IS, Parker DA, Dally J, Wing S. (1992) Extraneuronal uptake of noradrenaline in rabbit dental pulp: evidence of identity with uptake¹. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 346 (2): 166-172.

Marino V, Parker DA. (2003) Uptake and release of [3H]adenosine in human dental pulp. *Arch Oral Biol*, 48 (4): 293-298.

Matthews B, Robinson PP. (1980) The course of post-ganglionic sympathetic fibres distributed with the trigeminal nerve in the cat. *J Physiol*, 303: 391-401.

McAdoo DJ, Xu G, Robak G, Hughes MG, Price EM. (2000) Evidence that reversed glutamate uptake contributes significantly to glutamate release following experimental injury to the rat spinal cord. *Brain Res*, 865 (2): 283-285.

McAdoo DJ, Xu GY, Robak G, Hughes MG. (1999) Changes in amino acid concentrations over time and space around an impact injury and their diffusion through the rat spinal cord. *Exp Neurol*, 159 (2): 538-544.

Meisel C, Schwab JM, Prass K, Meisel A, Dirnagl U. (2005) Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome. *Nat Rev Neurosci*, 6 (10): 775-786.

Mills LR, Velumian AA, Agrawal SK, Theriault E, Fehlings MG. (2004) Confocal imaging of changes in glial calcium dynamics and homeostasis after mechanical injury in rat spinal cord white matter. *Neuroimage*, 21 (3): 1069-1082.

Milusheva EA, Doda M, Baranyi M, Vizi ES. (1996) Effect of hypoxia and glucose deprivation on ATP level, adenylate energy charge and $[Ca^{2+}]_o$ -dependent and independent release of $[^3H]$ dopamine in rat striatal slices. *Neurochem Int*, 28 (5–6): 501–507.

Mochizucki D. (2004) Serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors in animal models of pain. *Hum Psychopharmacol*, 19 Suppl 1: S15-19.

Moller RA, Covino BG. (1993) Cardiac electrophysiologic effects of articaine compared with bupivacaine and lidocaine. *Anesth Analg*, 76 (6): 1266-1273.

Moore DC, Chadwick HS, Ready LB. (1987) Epinephrine prolongs lidocaine spinal: pain in the operative site the most accurate method of determining local anesthetic duration. *Anesthesiology*, 67 (3): 416–418.

Moron JA, Brockington A, Wise RA, Rocha BA, Hope BT. (2002) Dopamine uptake through the norepinephrine transporter in brain regions with low levels of the dopamine transporter: evidence from knock-out mouse lines. *J Neurosci*, 22 (2): 389–395.

Mouton PR, Pakkenberg B, Gundersen HJ, Price DL. (1994) Absolute number and size of pigmented locus coeruleus neurons in young and aged individuals. *J Chem Neuroanat*, 7 (3): 185-190.

Nagy G, Bartha Y, Keresztes T, Olveti E, Madléna M. (2000) Quantitative analysis of catecholamines in human dental pulp. *J Endod*, 26 (10): 596-598.

Nair PN. (1995) Neural elements in dental pulp and dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 80 (6): 710-719.

Nakai T, Milusheva E, Baranyi M, Uchihashi Y, Satoh T, Vizi ES. (1999) Excessive release of $[^3H]$ noradrenaline and glutamate in response to simulation of ischemic conditions in rat spinal cord slice preparation: effect of NMDA and AMPA receptor antagonists. *Eur J Pharmacol*, 366 (2–3): 143–150.

Narahashi T. (1972) Mechanism of action of tetrodotoxin and saxitoxin on excitable membranes. *Fed Proc*, 31 (3): 1124–1132.

Närhi M. (1990) The neurophysiology of the teeth. *Dent Clin North Am*, 34 (3): 439-448.

Nassery K, Marino V, Parker DA. (2007) Uptake and release of [3H]GABA in human dental pulp. *Arch Oral Biol*, 52 (7): 607-613.

Nelson MF, Zaczek R, Coyle JT. (1980) Effects of sustained seizures produced by intrahippocampal injection of kainic acid on noradrenergic neurons: evidence for local control of norepinephrine release. *J Pharmacol Exp Ther*, 214 (3): 694-702.

Nosrat IV, Widenfalk J, Olson L, Nosrat CA. (2001) Dental pulp cells produce neurotrophic factors, interact with trigeminal neurons in vitro, and rescue motoneurons after spinal cord injury. *Dev Biol*, 238 (1): 120–132.

Oe K, Sperlagh B, Santha E, Matko I, Nagashima H, Foldes FF, Vizi ES. (1999) Modulation of norepinephrine release by ATP-dependent K(+)-channel activators and inhibitors in guinea-pig and human isolated right atrium. *Cardiovasc Res*, 43 (1): 125–134.

Olgart L. (1996) Neural control of pulpal blood flow. *Crit Rev Oral Biol Med*, 7 (2): 159-171.

Olgart LM, Edwall B, Gazelius B. (1989) Neurogenic mediators in control of pulpal blood flow. *J Endod*, 15 (9): 409-412.

Olschewski A, Hempelmann G, Vogel W, Safronov BV. (1998) Blockade of Na⁺ and K⁺ currents by local anesthetics in the dorsal horn neurons of the spinal cord. *Anesthesiology*, 88 (1): 172–179.

Padera RF, Tse JY, Bellas E, Kohane DS. (2006) Tetrodotoxin for prolonged local anesthesia with minimal myotoxicity. *Muscle Nerve*, 34 (6): 747–753.

Padro CJ, Sanders VM. (2014) Neuroendocrine regulation of inflammation. *Semin Immunol*, 26 (5): 357–368.

Palkovits M. (2000) Az agy és a fájdalom: az érzékelés és a válasz agypályái és transzmitterei. *Orv Hetilap*, 141: 2231-2239.

Park E, Velumian AA, Fehlings MG. (2004) The role of excitotoxicity in secondary mechanisms of spinal cord injury: a review with an emphasis on the implications for white matter degeneration. *J Neurotrauma*, 21 (6): 754–774.

Parker DA, de la Lande IS, Marino V, Ivar PM. (1994) Presynaptic control of noradrenaline release from sympathetic nerves in human dental pulp. *Arch Oral Biol*, 39 (1): 35-41.

Parker DA, Hennian E, Marino V, de la Lande IS. (1999) Inhibitory effects of adrenaline on the release of noradrenaline from sympathetic nerves in human dental pulp. *Arch Oral Biol*, 44 (5): 391-394.

Parker DA, Marino V, Dally J, de la Lande IS. (1994) Effects of 6-hydroxydopamine on noradrenaline metabolism linked to neuronal uptake1 and extraneuronal uptake1 in dental pulp in vitro. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 350 (4): 352-325.

Parker DA, Marino V, Krishna M, Narayanan A, de la Lande IS. (2000) Failure of presynaptic purinoceptors to modulate noradrenaline release from sympathetic nerves in human dental pulp. *Arch Oral Biol*, 45 (10): 827-831.

Parker DA, Marino V, Zisimopoulos S, de la Lande IS. (1998) Evidence for presynaptic cholinergic receptors in sympathetic nerves in human dental pulp. *Arch Oral Biol*, 43 (3): 197-204.

Parker DA, Marino V. (2013) GABA heteroreceptors modulate noradrenaline release in human dental pulp. *J Dent Res*, 92 (11): 1017-1021.

Pertovaara A. (2006) Noradrenergic pain modulation. *Prog Neurobiol*, 80 (2): 53-83.

Pertovaara A. (2013) The noradrenergic pain regulation system: a potential target for pain therapy. *Eur J Pharmacol*, 716 (1-3): 2-7.

Pohto P, Antila R. (1968) Demonstration of adrenergic nerve fibres in human dental pulp by histochemical fluorescence method. *Acta Odontol Scand*, 26 (2): 137-144.

Prass K, Meisel C, Höflich C, Braun J, Halle E, Wolf T, Ruscher K, Victorov IV, Priller J, Dirnagl U, Volk HD, Meisel A. (2003) Stroke-induced immunodeficiency promotes spontaneous bacterial infections and is mediated by sympathetic activation reversal by poststroke T helper cell type 1-like immunostimulation. *J Exp Med*, 198 (5): 725–736.

Rauck RL, Eisenach JC, Jackson K, Young LD, Southern J. (1993) Epidural clonidine treatment for refractory reflex sympathetic dystrophy. *Anesthesiology*, 79 (6): 1163–1169.

Reddy SV, Yaksh TL. (1980) Spinal noradrenergic terminal system mediates antinociception. *Brain Res*, 189 (2): 391-401.

Regan RF, Choi DW. (1991) Glutamate neurotoxicity in spinal cord cell culture. *Neuroscience*, 43 (2-3): 585-591.

Réthelyi M. Az emberi test méhen belüli fejlődésének alapvonalai. In: Szentágothai J, Réthelyi M (szerk.), *Funkcionális anatómia, nyolcadik kiadás*. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 2002: 29-105.

Ridet JL, Rajaofetra N, Teilhac JR, Geffard M, Privat A. (1993) Evidence for nonsynaptic serotonergic and noradrenergic innervation of the rat dorsal horn and possible involvement of neuron-glia interactions. *Neuroscience*, 52 (1): 143-157.

Rigler ML, Drasner K, Krejcie TC, Yelich SJ, Scholnick FT, DeFontes J, Bohner D. (1991) Cauda equina syndrome after continuous spinal anesthesia. *Anesth Analg*, 72 (3): 275–281.

Saka C. (2016) Analytical Strategies for the Determination of Norepinephrine Reuptake Inhibitors in Pharmaceutical Formulations and Biological Fluids. *Crit Rev Anal Chem*, 46 (1): 40-66.

Sakai K, Yamamoto A, Matsubara K, Nakamura S, Naruse M, Yamagata M, Sakamoto K, Tauchi R, Wakao N, Imagama S, Hibi H, Kadomatsu K, Ishiguro N, Ueda M. (2012) Human dental pulp-derived stem cells promote locomotor recovery after complete transection of the rat spinal cord by multiple neuro-regenerative mechanisms. *J Clin Invest*, 122 (1): 80-90.

Sara SJ, Bouret S. (2012) Orienting and reorienting: the locus coeruleus mediates cognition through arousal. *Neuron*, 76 (1): 130-141.

Sawynok J. (2014) Topical analgesics for neuropathic pain: preclinical exploration, clinical validation, future development. *Eur J Pain*, 18 (4): 465-481.

Scholz A. (2002) Mechanisms of (local) anaesthetics on voltage-gated sodium and other ion channels. *Br J Anaesth*, 89 (1): 52–61.

Schoultz TW, DeLuca DC. (1974) Alterations in spinal cord norepinephrine levels following experimentally produced trauma in normal and adrenalectomized cats. *Life Sci*, 15 (8): 1485–1495.

Schumacher PA, Eubanks JH, Fehlings MG. (1999) Increased calpain I-mediated proteolysis, and preferential loss of dephosphorylated NF200, following traumatic spinal cord injury. *Neuroscience*, 91 (2): 733-744.

Schumacher PA, Siman RG, Fehlings MG. (2000) Pretreatment with calpain inhibitor CEP-4143 inhibits calpain I activation and cytoskeletal degradation, improves neurological function, and enhances axonal survival after traumatic spinal cord injury. *J Neurochem*, 74 (4): 1646-1655.

Serrera Figallo MA, Velázquez Cayón RT, Torres Lagares D, Corcuera Flores JR, Machuca Portillo G. (2012) Use of anesthetics associated to vasoconstrictors for dentistry in patients with cardiopathies. Review of the literature published in the last decade. *J Clin Exp Dent*, 4 (2): 107-111.

Shapiro S. (1997) Neurotransmission by neurons that use serotonin, noradrenaline, glutamate, glycine, and gamma-aminobutyric acid in the normal and injured spinal cord. *Neurosurgery*, 40 (1): 168-176.

Shapiro S. (1997) Neurotransmission by neurons that use serotonin, noradrenaline, glutamate, glycine, and gamma-aminobutyric acid in the normal and injured spinal cord. *Neurosurgery*, 40 (1): 168-176.

Simpson RK, Robertson CS, Goodman JC. (1990) Spinal cord ischemia-induced elevation of amino acids: extracellular measurement with microdialysis. *Neurochem Res*, 15 (6): 635–639.

Singh B, Hughes AJ, Mehta G, Erwin PJ, Parsaik AK. (2016) Efficacy of Prazosin in Posttraumatic Stress Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Prim Care Companion CNS Disord*, 18 (4)

Sircuta C, Lazar A, Azamfirei L, Baranyi M, Vizi ES, Borbély Z. (2016) Correlation between the increased release of catecholamines evoked by local anesthetics and their analgesic and adverse effects: Role of K(+) channel inhibition. *Brain Res Bull*, 124: 21-26.

Soares-da-Silva P, Fernandes MH. (1990) Inhibition by the putative potassium channel opener pinacidil of the electrically-evoked release of endogenous dopamine and noradrenaline in the rat vas deferens. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 342 (4): 415–421.

Sohn S, Kim EY, Gwag BJ. (1998) Glutamate neurotoxicity in mouse cortical neurons: atypical necrosis with DNA ladders and chromatin condensation. *Neurosci Lett*, 240 (3): 147-150.

Sperlágh B, Vizi ES. (2011) The role of extracellular adenosine in chemical neurotransmission in the hippocampus and basal ganglia: pharmacological and clinical aspects. *Curr Top Med Chem*, 11 (8): 1034-1046.

Strobel C, Hunt S, Sullivan R, Sun J, Sah P. (2014) Emotional regulation of pain: the role of noradrenaline in the amygdala. *Sci China Life Sci*, 57 (4): 384-390.

Stys PK, Waxman SG, Ransom BR. (1992) Ionic mechanisms of anoxic injury in mammalian CNS white matter: role of Na⁺ channels and Na⁺-Ca²⁺ exchanger. *J Neurosci*, 12 (2): 430-439.

Sugimori T, Nagashima H, Vizi ES, Harsing Jr. LG, Chaudhry I, Lalezari I, Duncalf D, Goldiner PL, Foldes FF. (1987) Effect of mono- and diaminopyridines on release of [3H]norepinephrine from isolated guinea-pig atrium. *Neuropharmacology*, 26 (6): 621–626.

Sumiya Y, Torigoe K, Gerevich Z, Köfalvi A, Vizi ES. (2001) Excessive release of [3H]noradrenaline by veratridine and ischemia in spinal cord. *Neurochem Int*, 39 (1): 59–63.

Sundström E, Holmberg L, Souverbie F. (1998) NMDA and AMPA receptors evoke transmitter release from noradrenergic axon terminals in the rat spinal cord. *Neurochem Res*, 23 (12): 1501–1507.

Szabó A, Szentandrassy N, Birinyi P, Horváth B, Szabó G, Bányász T, Márton I, Nánási PP, Magyar J. (2007) Effects of articaine on action potential characteristics and the underlying ion currents in canine ventricular myocytes. *Br J Anaesth*, 99 (5): 726-733.

Szelényi J, Vizi ES. (2007) The catecholamine cytokine balance: interaction between the brain and the immune system. *Ann N Y Acad Sci*, 1113: 311–324.

Szot P, Knight L, Franklin A, Sikkema C, Foster S, Wilkinson CW, White SS, Raskind MA. (2012) Lesioning noradrenergic neurons of the locus coeruleus in C57Bl/6 mice with unilateral 6-hydroxydopamine injection, to assess molecular, electrophysiological and biochemical changes in noradrenergic signaling. *Neuroscience*, 2 (216): 143–157.

Takano Y, Yaksh TL. (1992) Characterization of the pharmacology of intrathecally administered alpha-2 agonists and antagonists in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 261 (2): 764–772.

Takata Y, Shimada F, Kato H. (1992) Differential effects of diazoxide, cromakalim and pinacidil on adrenergic neurotransmission and 86Rb^+ efflux in rat brain cortical slices. *J Pharmacol Exp Ther*, 263 (3): 1293–1301.

Tanaka T, Yoshida M, Yokoo H, Tomita M, Tanaka M. (1998) Expression of aggression attenuates both stress-induced gastric ulcer formation and increases in noradrenaline release in the rat amygdala assessed by intracerebral microdialysis. *Pharmacol Biochem Behav*, 59 (1): 27-31.

Tapia R, Sitges M. (1982) Effect of 4-aminopyridine on transmitter release in synaptosomes. *Brain Res*, 250 (2): 291–299.

Tator CH, Fehlings MG. (1991) Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg*, 75 (1): 15-26.

Tator CH. (1995) Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury. *Brain Pathol*, 5 (4): 407-413.

Tønder KH, Naess G. (1978) Nervous control of blood flow in the dental pulp in dogs. *Acta Physiol Scand*, 104 (1): 13-23.

Traynelis SF, Wollmuth LP, McBain CJ, Menniti FS, Vance KM, Ogden KK, Hansen KB, Yuan H, Myers SJ, Dingledine R. (2010) Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. *Pharmacol Rev*, 62 (3): 405-496.

Uchihashi Y, Bencsics A, Umeda E, Nakai T, Sato T, Vizi ES. (1998) Na⁺ channel block prevents the ischemia-induced release of norepinephrine from spinal cord slices. *Eur J Pharmacol*, 346 (2–3): 145–150.

Uddman R, Björlin G, Möller B, Sundler F. (1980) Occurrence of VIP nerves in mammalian dental pulps. *Acta Odontol Scand*, 38 (5): 325-328.

Uddman R, Grunditz T, Sundler F. (1984) Neuropeptide Y: occurrence and distribution in dental pulps. *Acta Odontol Scand*, 42 (6): 361-365.

Umeda E, Satoh T, Nagashima H, Potter PE, Tarkovác G, Vizi ES. (1997) Alpha 2A subtype of presynaptic alpha 2-adrenoceptors modulates the release of [3H] noradrenaline from rat spinal cord. *Brain Res Bull*, 42 (2): 129–132.

van der Wal SE, van den Heuvel SA, Radema SA, van Berkum BF, Vaneker M, Steegers MA, Scheffer GJ, Vissers KC. (2015) The in vitro mechanisms and in vivo efficacy of intravenous lidocaine on the neuroinflammatory response in acute and chronic pain. *Eur J Pain*, 20 (5): 655-674.

Varga G. A fogbél. In: Zelles T (szerk.), *Orálbiológia*. Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest, 2007: 101-108.

Vizi ES, Elenkov IJ. (2002) Nonsynaptic noradrenaline release in neuro-immune responses. *Acta Biol Hung*, 53 (1–2): 229–244.

Vizi ES, Fekete A, Karoly R, Mike A. (2010) Non-synaptic receptors and transporters involved in brain functions and targets of drug treatment. *Br J Pharmacol*, 160 (4): 785-809.

Vizi ES, Fekete A, Karoly R, Mike A. (2010) Non-synaptic receptors and transporters involved in brain functions and targets of drug treatment. *Br J Pharmacol*, 160 (4): 785–809.

Vizi ES, Harsing LG, Zimanyi I, Gaal G. (1985) Release and turnover of noradrenaline in isolated median eminence: lack of negative feedback modulation. *Neuroscience*, 16 (4): 907–916.

Vizi ES, Kiss JP. (1998) Neurochemistry and pharmacology of the major hippocampal transmitter systems: synaptic and nonsynaptic interactions. *Hippocampus*, 8 (6): 566-607.

Vizi ES, Török T, Seregi A, Serfözö P, Adam-Vizi V. (1982) Na-K activated ATPase and the release of acetylcholine and noradrenaline. *J Physiol (Paris)*, 78 (4): 399–406.

Vizi ES, van Dijk J, Foldes FF. (1977) The effect of 4-aminopyridine on acetylcholine release. *J Neural Transm*, 41 (4): 265–274.

Vizi ES. (1984) Physiological role of cytoplasmic and non-synaptic release of transmitter. *Neurochem Int*, 6 (4): 435-440.

Vizi ES. (2000) Role of high-affinity receptors and membrane transporters in nonsynaptic communication and drug action in the central nervous system. *Pharmacol Rev*, 52 (1): 63-89.

Vizi ES. Az idegrendszer farmakológiája. In: Vizi ES (szerk.), *Humán farmakológia, második kiadás*. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 2002: 153-480.

Volterra A, Trotti D, Tromba C, Floridi S, Racagni G. (1994) Glutamate uptake inhibition by oxygen free radicals in rat cortical astrocytes. *J Neurosci*, 14 (5): 2924-2932.

Wang J, Li XR, Zheng XY, Shang JL. (2012) Expression of substance P and vascular endothelial growth factor in human normal and inflammatory dental pulps. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*, 21 (4): 412-415.

Warden P, Bamber NI, Li H, Esposito A, Ahmad KA, Hsu CY, Xu XM. (2001) Delayed glial cell death following wallerian degeneration in white matter tracts after spinal cord dorsal column cordotomy in adult rats. *Exp Neurol*, 168 (2): 213-224.

Waxman SG, Ransom BR, Stys PK. (1991) Non-synaptic mechanisms of Ca²⁺-mediated injury in CNS white matter. *Trends Neurosci*, 14 (10): 461-468.

Weiss RC, Tansy MF, Chaffee RB Jr, Kendall FM. (1972) Functional control of intrapulpal vasculature. II. Physiologic evidence of a sympathetic cholinergic vasoactive system. *J Dent Res*, 51 (5): 1350-1358.

Westlund KN, Zhang D, Carlton SM, Sorkin LS, Willis WD. (1991) Noradrenergic innervation of somatosensory thalamus and spinal cord. *Prog Brain Res*, 88: 77-88.

Weston JA, Yoshida H, Robinson V, Nishikawa S, Fraser ST, Nishikawa S. (2004) Neural crest and the origin of ectomesenchyme: neural fold heterogeneity suggests an alternative hypothesis. *Dev Dyn*, 229 (1): 118-130.

Wohlberg CJ, Hackman JC, Davidoff RA. (1987) Epinephrine and norepinephrine modulate neuronal responses to excitatory amino acids and agonists in frog spinal cord. *Synapse*, 1 (2): 202–207.

Woiciechowsky C, Asadullah K, Nestler D, Eberhardt B, Platzer C, Schöning B, Glöckner F, Lanksch WR, Volk HD, Döcke WD. (1998) Sympathetic activation triggers systemic interleukin-10 release in immunodepression induced by brain injury. *Nat Med*, 4 (7): 808–813.

Wolff M, Schnobel-Eehalt R, Muhling J, Weigand MA, Olschewski A. (2014) Mechanisms of lidocaine's action on subtypes of spinal dorsal horn neurons subject to the diverse roles of Na(+) and K(+) channels in action potential generation. *Anesth Analg*, 119 (2): 463–470.

Wong GW, Laugerotte A, Wright JM. (2015) Blood pressure lowering efficacy of dual alpha and beta blockers for primary hypertension. *Cochrane Database Syst Rev*, 26 (8): CD007449.

Wrathall JR, Bouzoukis J, Choiniere D. (1992) Effect of kynurenate on functional deficits resulting from traumatic spinal cord injury. *Eur J Pharmacol*, 218 (2–3): 273–281.

Yilmaz T, Kaptanoglu E. (2015) Current and future medical therapeutic strategies for the functional repair of spinal cord injury. *World J Orthop*, 6 (1): 42–55.

Zhang Y, Guan Z, Reader B, Shawler T, Mandrekar-Colucci S, Huang K, Wei Z, Bratasz A, Wells J, Powell ND, Sheridan JF, Whitacre CC, Rabchevsky AG, Nash MS, Popovich PG. (2013) Autonomic dysreflexia causes chronic immune suppression after spinal cord injury. *J Neurosci*, 33 (32): 12970–12981.

Zuo L, Shi L, Yan F. (2016) The reciprocal interaction of sympathetic nervous system and cAMP-PKA-NF- κ B pathway in immune suppression after experimental stroke. *Neurosci Lett*, 627: 205–210.

11. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Sircuta C, Lazar A, Azamfirei L, Baranyi M, Vizi ES, Borbély Z. (2016) Correlation between the increased release of catecholamines evoked by local anesthetics and their analgesic and adverse effects: Role of K⁺ channel inhibition. Brain Res Bull, 124: 21-26.

IF: 3,033

Borbély Z., Csomó BK, Kittel Á, Gerber G, Varga G, Vizi ES. (2017) Effect of rat spinal cord injury (hemisection) on the ex vivo uptake and release of [³H]noradrenaline from a slice preparation. Brain Res Bull, 131: 150-155.

IF: 3,033

12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálásan köszönöm témavezetőmnek, Dr. Varga Gábornak és konzulensemnek, Dr. Vizi E. Szilveszternek a sok segítséget és útmutatást, melyet az elmúlt években tőlük kaptam.

Köszönöm a segítséget az Orálbiológiai Tanszék munkatársainak, különösen Dr. Kerémi Beátának a házi opponensként végzett munkáját.

Köszönettel tartozom Dr. Zsilla Gabriellának, Windisch Katalinnak és Ószi Juditnak, akik a Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézetben a kísérleti technika elsajátításában és a felmerülő problémák megoldásában segítettek, illetve Csek Juditnak, aki a publikációk kapcsán sokat segített.

Köszönöm az Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézetben Dr. Gerber Gábornak és Horváth Péterné Terinek a hosszú évek óta nyújtott támogatását, illetve Gróti Zoltánnak és Deák Szilviának az állatkísérletek kapcsán nyújtott készséges segítségét.

Köszönöm a munkáját társszerzőimnek, különösen Dr. Kittel Ágnesnek az elektronmikroszkópos felvételekért és Dr. Csomó Bencének az állatműtétekért.

Köszönöm a Doktori Iskola munkatársainak az adminisztratív ügyekben nyújtott készséges segítséget.

Legfőképp azonban feleségemnek, Verának szeretnék köszönetet mondani, akinek hála az elmúlt években nem csak néhány tudományos közleményem, hanem három gyermekünk is született, és ezért nap mint nap áldozatot vállalva segítette a munkámat. Ugyancsak köszönöm a családtagjaimnak a segítségét.