Eksperimentalna patofiziologija in toksinologija

Nosilec predmeta: Prof. dr. Robert Frangež

Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za predklinične vede, Enota za fiziologijo in patofiziologijo

robert.frangez@vf.uni-lj.si

1

- **Splošne informacije o predmetu:**
  - 10 ur predavanj, 20 ur eksperimentalnega dela v laboratoriju in izdelava seminarja
  - Letni vpis največ 9 študentov
  - Možnost vpisa v: 3., 4., 5. in 6. letniku študija

2

Teoretični del zajema:

- osnove eksperimentalne patofiziologije in osnove iz toksinologije

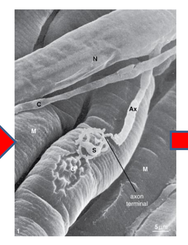
Praktični del predmeta zajema:

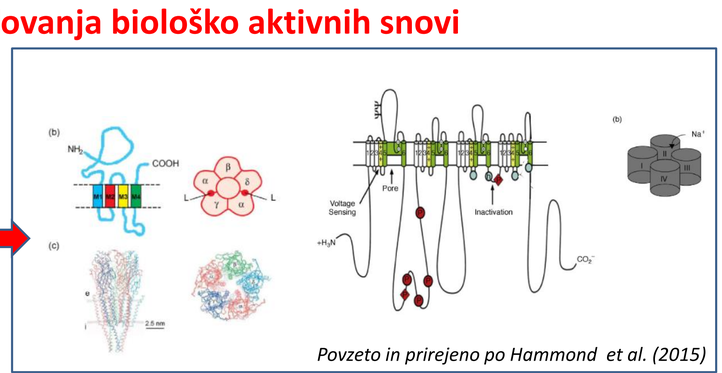
- modeliranje najpogostejših pridobljenih in prirojenih kliničnih motenj v elektrolitski sestavi zunajceličnih tekočin (hiper/hipo kaliemija, hipo/hiper magneziemija, hipo/hiperkalciemija, ipd.) in njihov vpliv na vzdražna tkiva/organe/sisteme (modeli kliničnih stanj npr. poporodne hipokalciemije, hiperkaliemične miotonije, ipd.)
- proučevanje učinkov in mehanizmov najpomembnejših ksenobiotikov (vključno z antibiotiki, pesticidi, ipd.) in toksinov v veterinarski medicini in odkrivanje mehanizmov motenj s poudarkom motenj v funkciji živčno-mišičnega sistema

3 Potencialne molekulske tarče delovanja biološko aktivnih snovi

Ionski kanali/prenašalci/izmenjevalci v nerolemi motoričnih nevronov

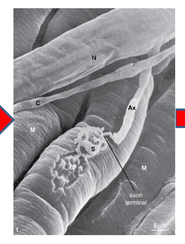
- Npr. Na^+, K^+, Ca^{2+}, Cl^- kanali v nevrolemi, ipd.

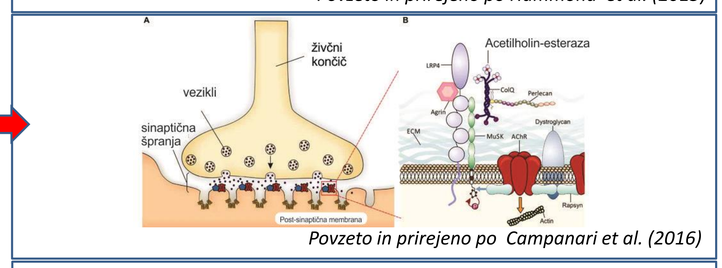




Povzeto in prirejeno po Hammond et al. (2015)

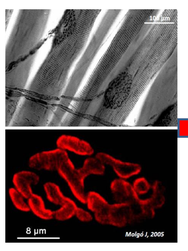
Acetilholin-esteraza v sinaptični špranji

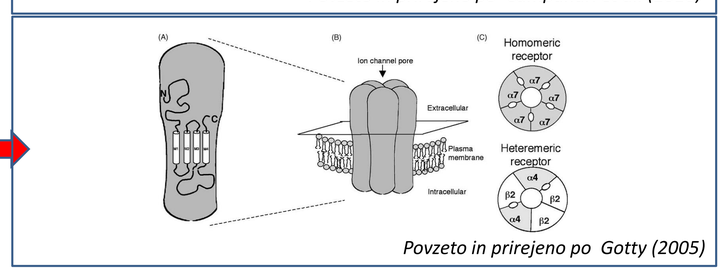




Povzeto in prirejeno po Campanari et al. (2016)

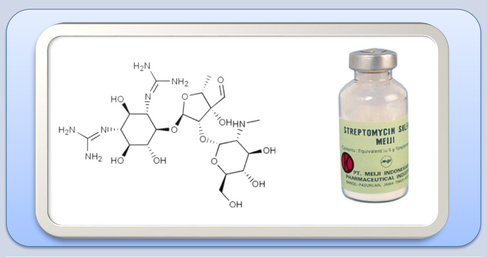
Postsinaptična membrana, mišično vlakno: nikotinski AChR

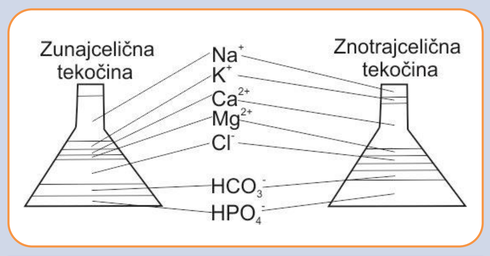




Povzeto in prirejeno po Gotty (2005)

4 Nekatere biološko aktivne molekule naravnega izvora z delovanjem na živčno-mišični sistem in kot molekulska orodja za modele živčno-mišičnih obolenj





Mikrobne biološko aktivne snovi: *zastrupitve z nevrotoksini in bakterijski toksini*

Npr. anatoksini (agonist nAChR)
LD_{50} (miš) = **~ 250 µg/Kg**

Npr. presinaptični nevrotoksin botulinum toksini A, B, C, D, ipd.
LD_{50} (miš) = **~ 0,3 ng/Kg**

Biološko aktivne snovi iz rastlin z delovanjem na vzdražna tkiva

Npr. D-Tubocurarine
EC_{50} (blokada kontrakcije diafragme) = 1,4 µM

Npr. Piretrini
Upočasnjena inaktivacija napetostno odvisnih Na^+ kanalov

Toksini iz strupov živali

Npr. presinaptični nevrotoksini iz strupa modras in gada, ipd.

Ksenobiotiki

nekateri aminoglikozidni antibiotiki, insekticidi, ipd.

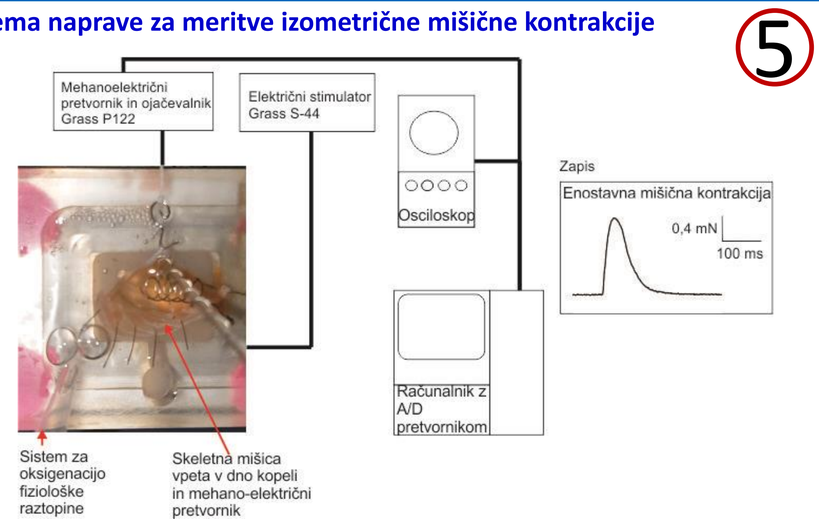
Npr. streptomicin
IC_{50} (mnAChR) = < 1 mM

Motnje v homeostazi kationov in anionov v zunajceličnih tekočinah

1) Kvantitativne motnje (npr. hiper/hiponatriemija)
2) Kvalitativne motnje (npr. povečana/zmanjšana koncentracija K^+)
3) Motnje acido-baznega ravnotežja

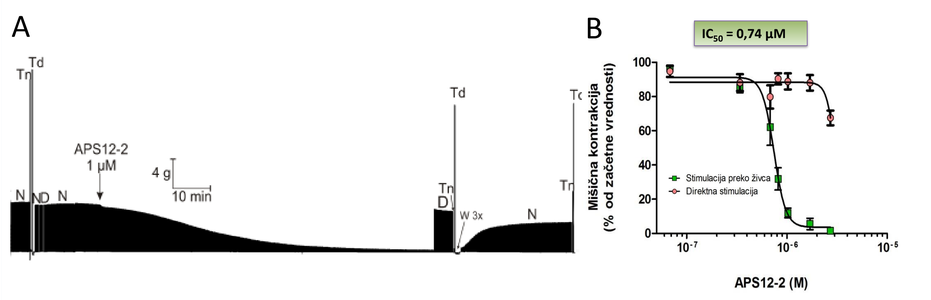
Raziskovalna oprema, metode in analiza rezultatov

Shema naprave za meritve izometrične mišične kontrakcije (5)

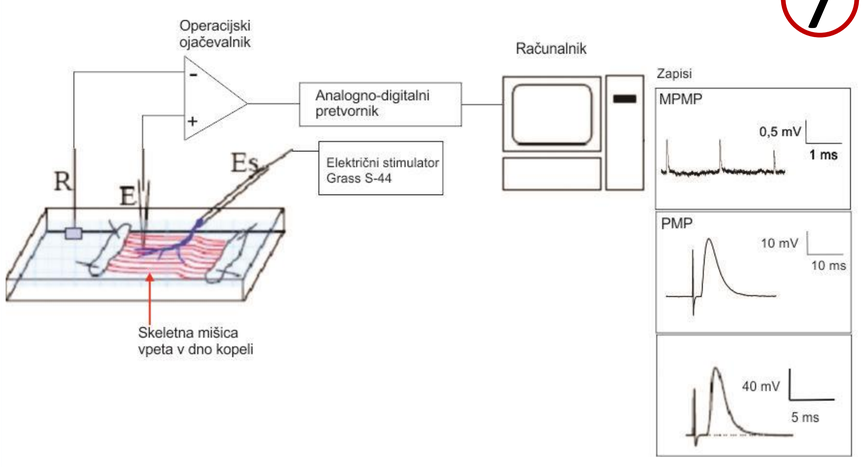


Meritve posredno in neposredno izzvane enostavne mišične in tetanične kontrakcije in analiza rezultatov (6)

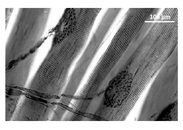
- Celoten zapis poskusa (A) in analiza rezultatov za določitev srednje zaviralne koncentracije testirane snovi s pomočjo Hillove enačbe (B)

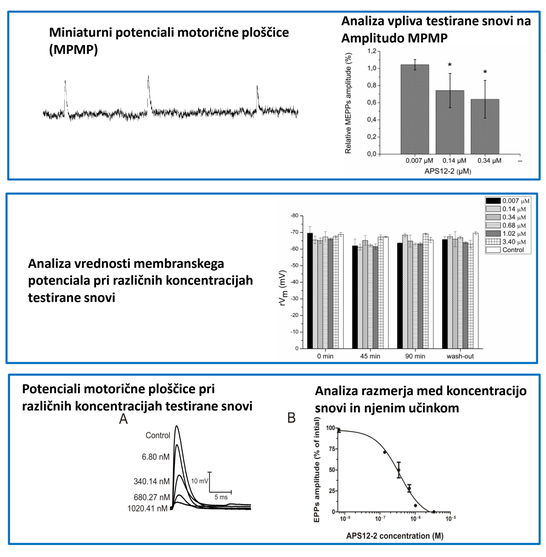


Shema naprave za meritve membranskih potencialov (7)

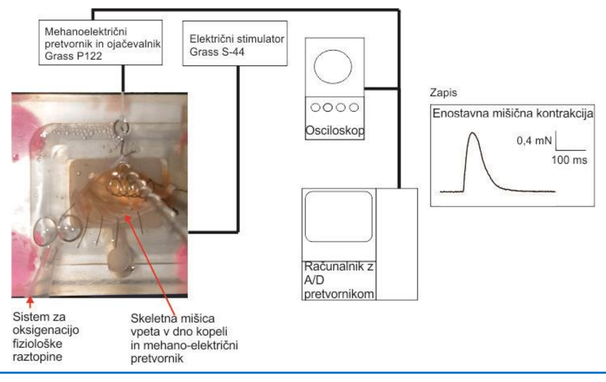


Meritve membranskih potencialov na mišičnem vlaknu v področju motorične ploščice in njihova analiza (8)

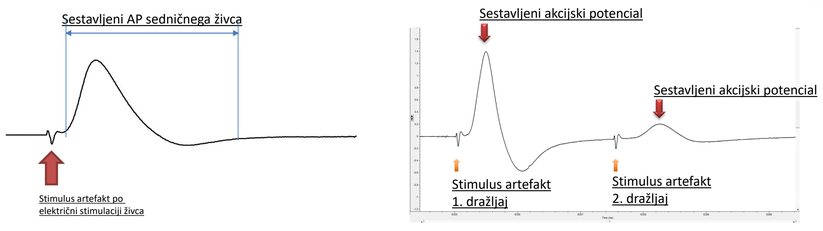




Shema naprave za meritve sestavljenega akcijskega potenciala živca (9)



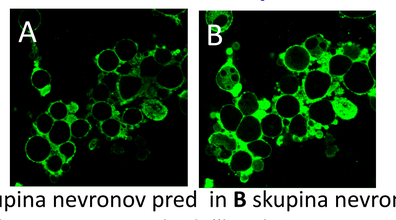
Meritve parametrov sestavljenega akcijskega potenciala živca, hitrosti prevajanja določanja refraktarne periode (10)



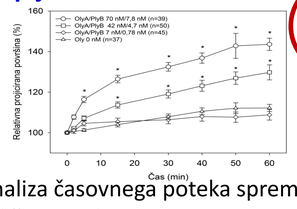
Sestavljeni AP živca — **Določanje refraktarne periode**

Laserska konfokalna multispektralna mikroskopija (11)

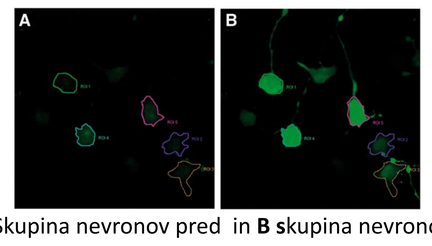
Laserska konfokalna multispektralna mikroskopija (12)



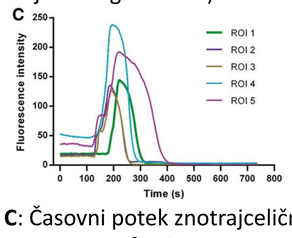
A: Skupina nevronov pred in **B** skupina nevronov po njihovi izpostavitvi biološko aktivni snovi



Analiza časovnega poteka sprememb v celičnem volumnu v odvisnosti od koncentracije snovi (nastanek znotrajceličnega edema)



A: Skupina nevronov pred in **B** skupina nevronov po njihovi izpostavitvi biološko aktivni snovi



C: Časovni potek znotrajcelične aktivnosti Ca^{2+} izbranih nevronov

13

Modeliranje različnih patofizioloških stanj

Elektrofiziološke in slikovne meritve

Analiza rezultatov

14

Vrednotenje rezultatov in opredelitev biološkega pomena, ki omogoča razumevanje osnovnih patofizioloških procesov pri:

- nekaterih klinično pomembnih bolezenskih stanjih/motnjah v kvantitativni in kvalitativni sestavi zunajceličnih telesnih tekočin
- nekaterih prirojenih in pridobljenih boleznih vezanih na vzdražna tkiva
- Nekaterih najpogostejših zastrupitvah pri domačih živalih