

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA LI

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 18.

Urednik

PAVEL STERN,
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine



SARAJEVO

1974.

SEID HUKOVIC*

UTICAJ DIGESTANATA I AUTOKOIDA NA MOTILITET ŽELUCA** (ispitivanja *in vitro*)

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 16. X 1972. god.)

ABSTRACT

Uticaj digestanata i autakoida na motilitet želuca ispitan je *in vitro*. Izolirani želudac štakora i miša, koji se ravnomjerno kontrahira pod uticajem elektrostimulacije nerva upotrebljen je za ispitivanje efekta digestanata i autakoida. Pepsin, tripsin i HCl djeluju jače spastički kada se apliciraju na serozu nego na mukozu. Prostaglandini, premda inhibiraju sekreciju, djeluju spastički dok gastrin, cerulein i histamin imaju beznačajan motorni efekt na želudac. Pretpostavka da je uticaj digestanata i autakoida u istom pravcu, tj. da pojedinačno i jedni i drugi djeluju ekscitantno na digestiju i pasazu, može se samo uslovno potvrditi. Upotrijebljene supstance u ovom radu, za koje se zna da ekscitiraju sekreciju donekle, povećavaju motorne efekte, dok one supstance koje imaju ekscitatorni motorni efekat mogu biti inhibitori sekrecije.

UVOD

Autakoidi, lokalni hormoni i neurohormoni su hemijski amini, peptidi ili lipidi. Mada su produkti živog tkiva, kada se aktiviraju imaju vrlo jako farmakodinamsko djelovanje (Douglas, 1970). Njihov efekt se dovodi u vezu sa povećanim motilitetom i sekrecijom želuca (Huković, 1972, 1973), premda za većinu njih još nije definisana humoralna fiziološka uloga.

Digestanti su preparati slabog farmakoterapijskog djelovanja (Bennett, 1971), koji se upotrebljavaju za poboljšanje probave (Harvey, 1970). Obično se daju kao nadomjesna terapija, budući da su najčešće smetnje želuca nedovoljna sekrecija egzokrinih žlijezda, ispad

* Adresa: Institut za farmakologiju, Medicinski fakultet, 71000 Sarajevo, Jugoslavija.

** Rad je referisan jednim dijelom na Svjetskom kongresu farmakologa u San Francisku, 1972. godine.

Izrada rada je pomognuta sredstvima Republičkog fonda za naučni rad SR BiH.

produkcije fermentata ili nesposobnost organizma da aktivira inaktivne prekursore fermentata (Mager und Schöne, 1972).

Kontrola gastričnih funkcija je u uskoj vezi sa tri glavna mehanizma i to: autonomni nervni sistem, hormoni i cirkulacija. Hormonalni faktori nisu još dovoljno proučeni u vezi sa gastričnom sekrecijom i motilitetom. Neki od njih su stimulatori sekrecije kao što je histamin, tetragastrin, ureholin, pankreozin, a neki su inhibitori kao što su sekretin, heparin, prostaglandin E, nikotin i brojni drugi autakoidi (Hirschowitz and Sachs, 1972, Brooks, 1970). Postoji veliki broj radova koji impliciraju hemoralne faktore u kontroli gastričnih kontrakcija. Kao inhibitori se spominju sekretin, holecistokinin-pankreozin, enterogastron, dok se kao stimulatori navode gastrin, hlorovodonična kiselina, inzulin, 2-deoksiglukoza i dr. (Brooks, 1972, Thomas and Baldwin, 1968). Vagalni stimulatorni i inhibični mehanizam još nije dovoljno poznat (Martinson, 1965), kao što se dovoljno ne pozna uticaj simpatikusa na želucu (Brooks, 1970).

U djelovanju digestanata i autakoida pretpostavlja se da postoji efekt na obje najvažnije funkcije želuca digestiju i pasazu hrane. Tako se pretpostavlja da digestanti mogu imati efekt na motilitet želuca, a autakoidi djelovanje na sekreciju i motilitet, dakle da obje grupe mogu djelovati na dvije funkcije želuca u istom pravcu.

Zadatak ovoga rada je bio da se dokaže motorni efekt digestanata i autakoida na motilitet izoliranog želuca. Supstance se apliciraju u intervalima elektrostimulacije nerava. Cilj rada je da se registruju promjene tonusa i izazvanih kontrakcija pod uticajem pepsina, tripsina, HCl, prostaglandina, ceruleina, histamina i tetragastrina, te da se na osnovu rezultata definiše motorni efekt digestanata i autakoida.

METODA

Za eksperimente su uzimani želuci štakora (Wistar) prosječne težine 155 ± 5 g i albinó miševi prosječne težine 21 ± 2 g oba pola. Životinje se ošamute, dekapitiraju i laparatomiraju. Ispreparira se želudac sa ezofagusom i dobro opere iznutra i izvana sa mlakom Tyrode-ovom otopinom. Kod štakora se zatim isprepariraju nervi, koji idu uzduž ezofagusa, zavežu i kasnije uvlače u elektrodu, dok se kod miša u elektrodu uvlači čitav ezofagus, jer su nervi tako nježni da prijeti opasnost da budu istrgani.

Želudac je u polovici eksperimenata bio tako suspendiran u posudu za izolirane organe da mu je seroza okrenuta prema vani, pa aplicirane supstance prvo dolaze u kontakt sa serozom. U drugom dijelu eksperimenata želudac je prevrnut, kao prst na rukavici, pa su aplicirane supstance dolazile u kontakt sa sluznicom (Huković and Hallasmöller, 1971, Huković et al., 1972). Posuda za izolirane organe sadrži 40 ml Tyrodeove otopine, zagrijane na 32°C i gasirane sa karbogenom ($95\% \text{O}_2$ i $5\% \text{CO}_2$). Posuda se ispire sa svježom otopinom svakih 20 minuta, najmanje tri puta poslije aplikacije supstance. Supstance se ostavljaju u posudi 6–10 minuta.

Bipolarne elektrode su dva platinska prstena ugrađena u plastičnu masu kroz koje se provlače nervi kada je organ fiksiran u posudi (Burn and Rand, 1960). Kroz elektrodu se iz stimulatora (stimulator I, Hugo Sachs Elektronik) automatski (Automatischer Zeitschalter, Hugo Sachs Elektronik) pušta električni stimulus u intervalima od 2 min, a trajanja 10 sek. Parametri električnog stimulusa su 5 mA, 10 Hz i 1 mSek. Registracija je vršena pomoću izotoničnog transducera na mikrodinamometru, registratoru konstruisanom od firme Ugo Basile, Milano.

Supstance upotrijebljene u ovom radu su: pepsin (Brit. Drug. Houses LTD), trypsin (The Coleman and Bell Co, USA), tetragastrin (Gastrodiagnost, N-tert-butyloxycarbonyl-alanyl-L-methionyl-L-aspartyl-phenyl-amid), prostaglandini E₁, E₂, F₁ alfa, F₂ alfa i A₁ (The Upjohn Company. Zahvaljujemo se kompaniji i njihovim predstavnicima za uzorke), cerulein, histamin hlorid.

REZULTATI

Efekt električne stimulacije nerva

Efekt intermitentne stimulacije vanjskih nerava sa konstantnim vrijednostima elektrostimulusa izaziva ravnomjerne kontrakcije koje se uslovno mogu ponavljati više sati. Uslovi su da je interval među stimulusima duži od 2 minuta, i ukoliko je ispiranje i gasiranje otopine zadovoljavajuće. U eksperimentima sa »prevrnutim« želucom, tj. kada je mukoza vani, efekt konstantne stimulacije je ravnomjeran pod uslovom da se novonastala unutrašnjost želuca, seroza koja je okrenuta unutra, konstantno ispire sa Tyrode-ovom otopinom.

Efekt supstanci

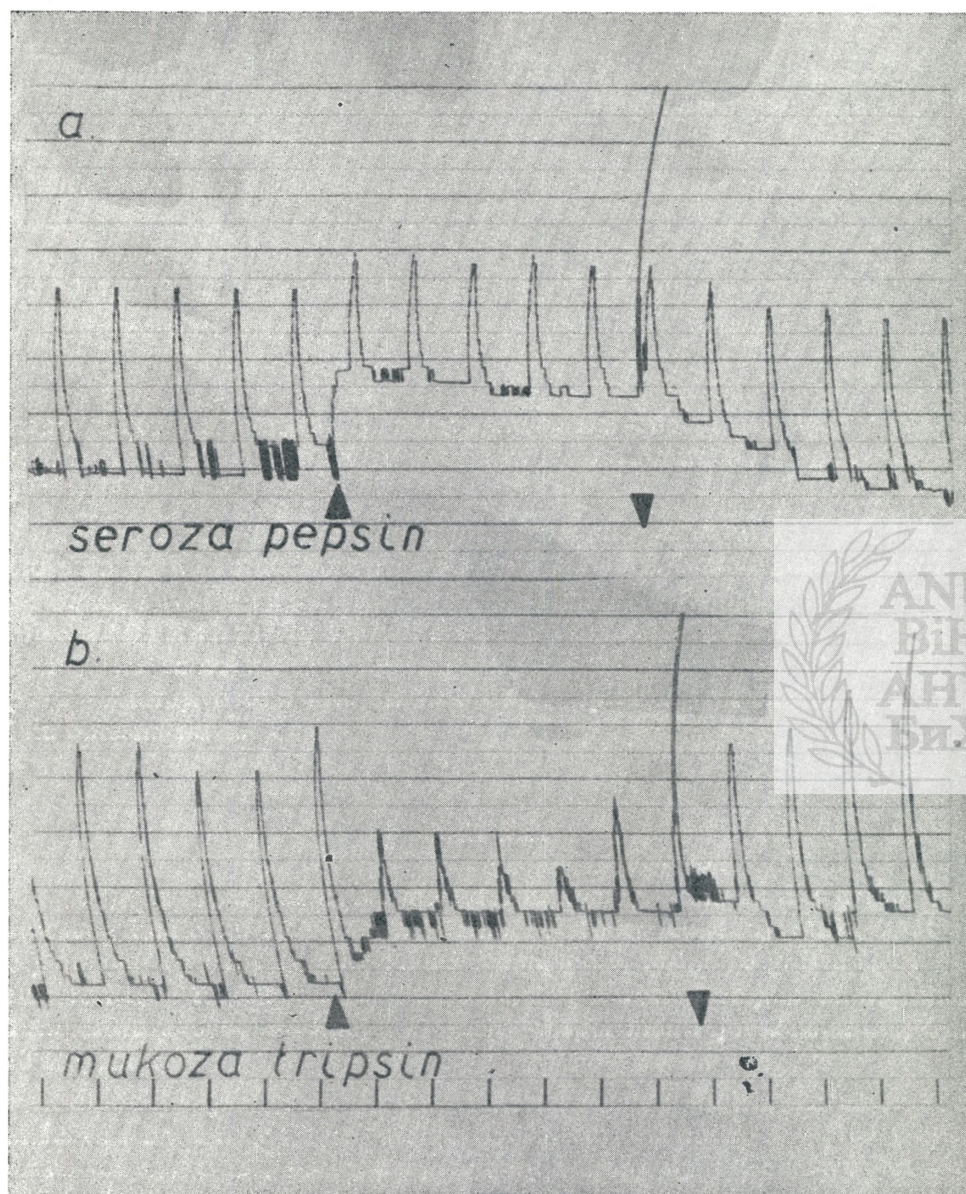
Supstance aplicirane u intervalima između elektrostimulacije mogu mijenjati tonus i visinu izazvanih kontrakcija. Promjene tonusa i visine kontrakcija jednim dijelom su nezavisni i mogu se dogoditi da budu suprotnog pravca, što je rjeđe ili istog pravca što je češći slučaj.

Efekt digestanata

Digestanti aplicirani u većim količinama mijenjaju efekt stimulacije nerava i podižu tonus glatke muskulature želuca.

Pepsin suspendiran u posudu i apliciran na seroznu stranu želuca počevši od koncentracije 10 mg/ml brzo izaziva povećanje tonusa, što se očituje povećanjem bazalne linije. Izazvane kontrakcije koje u ovom slučaju polaze sa više bazalne linije nisu povećane. Nakon ispiranja tonus i kontrakcije želuca se vraćaju na kontrolne vrijednosti u roku od 10 minuta (slika 1a). Ako se pepsin aplicira na mukoznu stranu, onda se ne registruje povećanje tonusa niti promjena visine

izazvanih kontrakcija. U manjem broju slučajeva (jedan od deset) je registrovano smanjenje efekta nervne stimulacije i nakon ispiranja lagano povećanje efekta elektrostimulacije.



Slika 1.

Registracija kontrakcija izoliranog želuca izazvanih elektrostimulacijom pripadajućih nerava (svake 2 min. 10 sek., 5 mA, 10 Hz, 1 mSek). Kod znaka je dodan ferment (10 mg/ml). Kod drugog znaka je ispiranje posude. a) aplikacija pepsina na seroznu stranu, b) aplikacija tripsina na mukoznu stranu.

Tripsin suspendiran u posudu za izolirane organe i apliciran na serozu počevši od 10 mg/ml povećava tonus, podiže bazalnu liniju sa koje polaze izazvane kontrakcije. Visina izazvanih kontrakcija želuca se bitno ne mijenja uzevši u obzir povećan nivo bazalne linije. Nakon ispiranja u roku od 10 minuta, tonus i kontrakcije se vraćaju na kontrolne vrijednosti. Kada je tripsin apliciran na mukoznu stranu želuca, onda se u polovici eksperimenata registruje povećanje tonusa, ali zato znatno smanjenje visine kontrakcija. Nakon ispiranja efekt se vraća na kontrolne vrijednosti u roku od nekoliko minuta. (Sl. 1b).

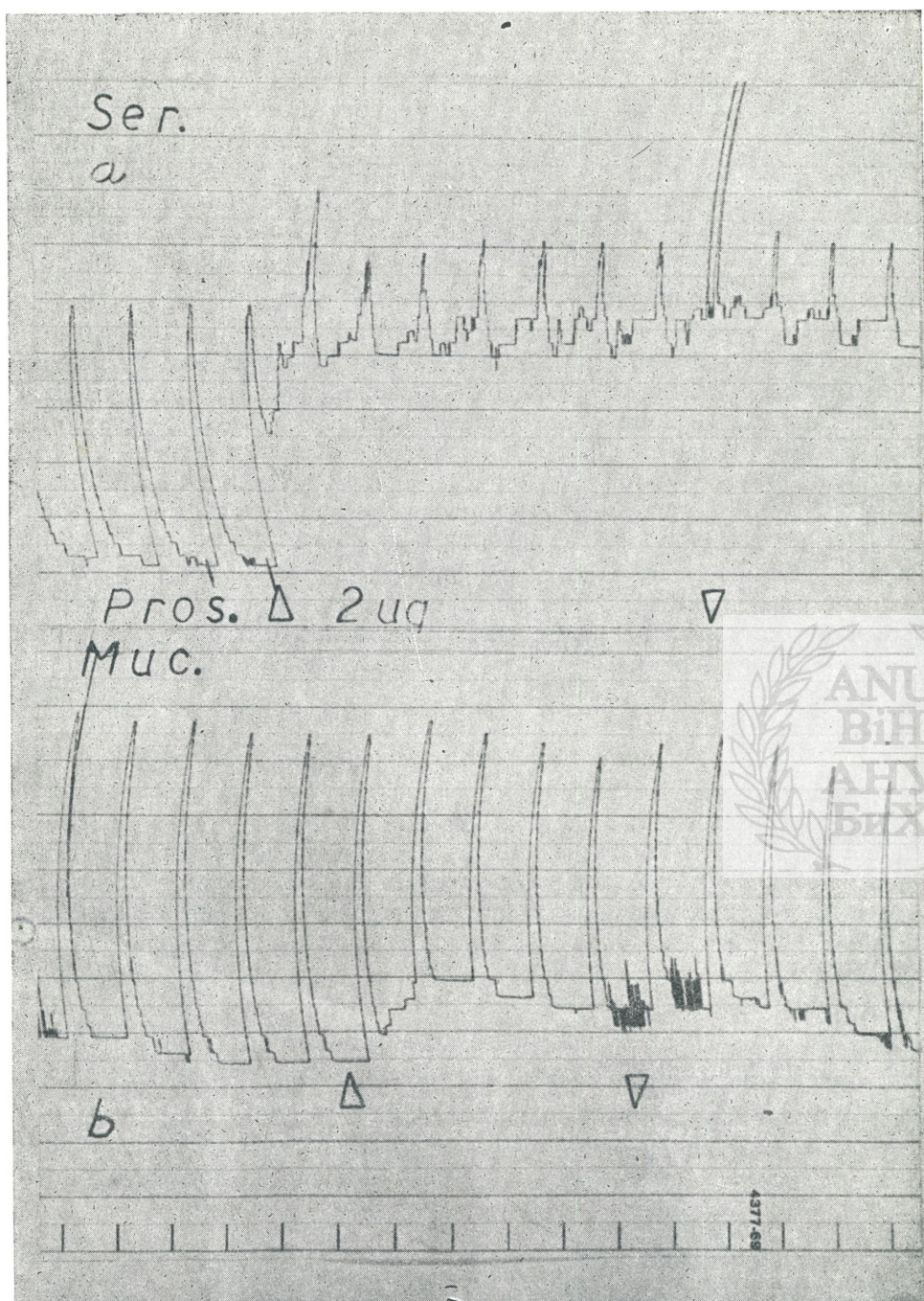
Hlorovodonična kiselina 0,1 n aplicirana na serozu želuca do pH više od 5 ne izaziva vidljive promjene tonusa ili izazvanih kontrakcija. Smanjivanje pH ispod 5 lagano povećava tonus i sasvim malo izazvane kontrakcije. Ukoliko se pH spušta na 4, a pogotovu kod pH 3, registruje se snažno povećanje tonusa i potpuni blok izazvanih kontrakcija. Povećanje pH sa 0,1 n natrijevom lužinom na pH 9 izaziva lagano povećanje tonusa i smanjenje izazvanih kontrakcija. Efekt lužine se spontano smanjuje bez ispiranja posude za izolirane organe. Kada se pH mijenja dodavanjem HCL ili NaOH na mukoznu stranu želuca, potrebno je dati daleko više supstance da se registruje spazam sa smanjenjem izazvanih kontrakcija. Nakon ispiranja posude promijenjena reakcija želuca se sporo vraća prema kontrolnim vrijednostima ukoliko je dodata kiselina.

Efekt autakoida (lipidi, peptidi i amini)

Prostaglandini (E_1 , E_2 , F_1 alfa, F_2 alfa i A_1) su injicirani u koncentraciji 2 ug/ml. Injicirani na seroznu stranu svi su povećavali tonus želuca. Povećanje tonusa je znatno. Nakon ispiranja tonus želuca se sporo vraća na kontrolnu bazalnu liniju poslije E_1 (Sl. 2a). Najjače djeluje prostaglandin E_1 , dok je efekt ostalih približno jednak. Nije registrovano povećanje relativne visine izazvanih kontrakcija pod uticajem prostaglandina. Aplicirani na mukoznu stranu, prostaglandini djeluju mnogo slabije. U dozi od 2 ug/ml jedino je PGE_1 povećavao tonus. Visine izazvanih kontrakcija nisu povećane (Sl. 2b).

Cerulein u koncentraciji od 0,2 ug/ml povećava visinu izazvanih kontrakcija, ujedno sa malim povećanjem tonusa kada se apliciraju na seroznu stranu. Apliciran na mukoznu stranu cerulein je bez efekta.

Histamin i tetragastrin su injicirani u relativno visokim koncentracijama. Histamin u koncentraciji 10^{-5} M povećava tonus i visinu izazvanih kontrakcija kada se aplicira na seroznu ili mukoznu stranu. Ovo povećanje je signifikantno, ali je relativno maleno s obzirom na dozu. Tetragastrin u koncentraciji 2 ug/ml nije signifikantno mijenjao efekt izazvanih kontrakcija, bilo da je apliciran na seroznu, bilo na mukoznu stranu.



Slika 2.

Registracija kontrakcija izoliranog želuca izazvanih elektrostimulacijom pripadajućeg nerva. (Parametri kao na sl. 1). Kod prvog znaka je dodat prostaglandin E₁, 2 ug/ml. a) na seroznu stranu, b) na mukoznu stranu.

DISKUSIJA

S obzirom da se sa konstantnom elektrostimulacijom vanjskih i unutarnjih motornih nerava izoliranog želuca mogu izazvati ravnomjerne kontrakcije, može se ova preparacija upotrijebiti kao model-sistem za proučavanje djelovanja endogenih aktivnih supstanci i lijekova. U ovom radu su to bili prostaglandini, cerulein, histamin i tetragastrin od autakoida, a od digestanata su ispitivani kiselina, tripsin i pepsin. Aplikacija lijekova na mukoznu ili seroznu stranu želuca sa jednostavnim prevrtanjem još više proširuje vrijednost preparacije i mogućnost iskaza o djelovanju farmaka.

Pitanje kontrole želudačnih funkcija, sekrecije i pasaže još uvijek nije riješeno. Tako se tačno ne poznaju detalji i elementi o ulozi autonomnog nervnog sistema (ANS), kako parasimpatičkog tako simpatičkog dijela, odnosno njihove ekscitirajuće ili inhibirajuće kontrolne uloge (Brooks, 1970, Burnstock, 1969, Martison, 1965). Drugi nivo kontrole je humoralna kontrola koja je također u stadiju ispitivanja, premda je poznato mnogo činjenica. Ovdje se također razlikuju stimulatori i inhibitori kako sekrecije, tako motiliteta želuca. Humoralna kontrola sekrecije se ne može posmatrati izolovano nego u vezi sa motilitetom, bilo da su obje funkcije modificirane u istom, ili suprotnom pravcu. Istraživanje djelovanja humoralnih faktora na motilitet želuca će dati nove elemente za bolju definiciju kontrolnih mehanizama na dvije najvažnije funkcije želuca.

Humoralna kontrola se može ostvariti na više načina. Povećanje stvaranja jednog činioca ili njegovo nagomilavanje slabijom sekrecijom koči dalje stvaranje. Tako Hirschowitz (1967) misli da je sinteza pepsinogena inhibirana nagomilavanjem, to je tzv. negativni feedback. Humoralna kontrola se može ostvariti indirektno djelujući na povećano stvaranje drugih kontrolnih faktora. Kako sekrecija i motilitet želuca nisu nezavisni u ovom radu ispitivano je uzajamno djelovanje faktora motiliteta i digestije. Uticaj pepsina i HCl na motilitet želuca nije veliki, ali je signifikantno pozitivan. Ukoliko ova dva činioca želučane digestije dođu u kontakt sa receptorima seroze, dolazi do povećanja tonusa. Ovaj motorni efekt pepsina i HCl je istog pravca i u skladu sa njihovim djelovanjem na pasažu. Drugi proteolitički ferment tripsin jače povećava tonus nego pepsin. Iz rezultata proizlazi da digestanti skladno djeluju na obje funkcije povećavajući digestiju i pasažu.

Histamin i gastrin pored acetilholina su prvi kandidati da ekscitiraju na celularnom nivou sekreciju kiseline i pepsina. Ovdje, međutim, postoji velika razlika među životinjskim vrstama. U ovom radu je pokazano da postoji znatna disocijacija između sekrecionog i motor-nog efekta histamina i gastrina, mada su im efekti na obje funkcije istog pravca.

Prostaglandini PGE_1 , E_2 , (a ne F_2 alfa) spadaju u inhibitore sekrecije (Bergstrom et al., 1968), a stimulatori motiliteta gastrointestinalnog trakta (Weeks, 1972). Ovdje, također, postoji djelovanje na obe funkcije želuca na digestiju i pasažu, ali je to djelovanje u recipročnom pravcu. Iz eksperimenata u ovom radu se vidi dosta jak spa-

stički efekt, bilo da je prostaglandin E₁ apliciran na seroznu ili mukoznu stranu.

Drugi autakoidi, kao što su polipeptidi, bili su predmet brojnih studija u vezi sa sekrecijom i motilitetom želuca. Identifikacija kraja molekule raznih peptida koji djeluju u probavnom traktu pokazala je da mnoge od njih posjeduju pentapeptid amidnu strukturu, kao kod gastrina I i II, holecistokinina (za koga se sada zna da je identičan sa pankreozinom) i ceruleina. Ova sličnost nam tumači zašto imaju sličan efekt. Cerulein i holecistokinin stimuliraju sekreciju HCl i gastrina kod psa i čovjeka, ali je to samo 50% efekta gastrina. Postoji čak i antagonizam između holecistokinina i gastrina. U ovom radu je pokazano da cerulein ima veoma mali motorni efekt, dok ga tetragastrin praktički nema.

Ranije pretpostavke da će autakoidi i digestanti djelovati na obje funkcije želuca važe samo uslovno. Sve one supstance koje imaju dokazan ekscitatorni efekt na digestiju djeluju ekscitatorno i na motilitet. Obratno ne važi, jer sve supstance koje imaju motorne efekte, kako je pokazano u ovom radu, ne djeluju na sekreciju u istom pravcu, nego je čak mogu kočiti, kao što je to slučaj sa prostaglandinima.

ZAKLJUČAK

Pepsin, tripsin i HCl aplicirani na seroznu stranu izoliranog želuca povećavaju tonus. Ovaj efekt je mnogo jači nego kada se apliciraju na mukozu.

Prostaglandini povećavaju tonus kada se apliciraju na seroznu stranu. PGE₁ djeluje najjače i apliciran na mukoznu stranu.

Tetragastrin nema motornih efekata, dok je efekt ceruleina vrlo slabo povećanje efekta stimulacije. Histamin djeluje spastički, mada je taj efekt relativno slab. Niti jedan nema uticaja na motilitet ako se apliciraju na mukozu.

Za sve supstance nije se mogla potvrditi pretpostavka da djeluju u istom pravcu u odnosu na funkciju digestije i pasažu sadržaja želuca.

SEID HUKOVIĆ

THE EFFECT OF DIGESTANTS AND AUTOCIDS ON GASTRIC MOTILITY

(Studies in vitro)

SUMMARY

The isolated stomach of rats and mice that contract on the extrinsic nerve stimulation were used to study the effect of digestants and autacoids on motor function of the stomach. Pepsin, trypsin and HCl increased tonus more effectively when applied on serose then on mucose side of stomach. Prostaglandins increased the tonus. The

most effective was PGE₁, it was active applied on mucose side, also. Tetragastrin cerulein and histamin were ineffective or effective in great concentration only. Spastic effect of different substances are not in the same direction on the secretion of stomach.

LITERATURA

- Bennett H. D. (1971) *Drugs affecting digestion: Appetitents, absorbents, antacids, carminatives, bile derivatives, and others*. In: Drill's Pharmacology in medicine Edited by DiPalma J. R., McGraw-Hill Book Company, New York, 1971.
- Bergström, S. Carlson A. L. and Weeks R. J. (1968) *The prostaglandins: a family of biologically active lipids*, Pharmacol. Rev. 20, str. 1—48.
- Brooks P. F. *Control of gastrointestinal function*. The Macmillan Co., London, 1970.
- Burn H. J. Rand M. J. (1960) *The relation of circulating noradrenaline to the effect of sympathetic stimulation*. J. Physiol. 150 str. 295—305
- Burnstock G. (1969) *Evolution of the autonomic innervation of visceral and cardiovascular systems in vertebrates*. Pharmacol. Rev. 21, str. 248—324.
- Douglas W. W. (1970); *Autacoids*. In: Goodman S. L. and Gilman A. *The pharmacological basis of therapeutics*. The MacMillan Co. London 1970.
- Harvey C. S. (1970), *Gastric antacids and digestants*. In: Goodman S. L. and A. Gilman, *The pharmacological basis of therapeutics*. The Mac Millan Co. London, 1970.
- Hirschowitz I. B. (1967) *Secretion of pepsinogen*. In: Handbook of Physiology. Edited by C. F. Coode, Washington, American Physiological Society, 1967, str. 889—918.
- Hirschowitz I. B. and Sachs G. *Lessons from the intact stomach*. In: Sachs G., Heinz E. and Ulrich, J. K. *Gastric secretion*, Academic Press, New York, 1972. str. 7—34.
- Huković S. and Hallasmler T. (1971), *The effect of application of serotonin and other drugs to the mucous and serous membrane owing to the responses of the isolated stomach to electrical nerve stimulation*. Folia Med. Fac. Medicinae Univ. Saraeviensis, 5, 115—125.
- Huković S. Brankov K. and Miletić S. (1972), *Različiti uticaji holinesteraznih otrova datih na seronu ili mukoznu stranu izoliranog inerviranog želuca*. Radovi ANU BiH, Odjeljenje med. nauka 16, str. 59—63.
- Huković S. (1972), *Izazivanje model-oboljenja i ispitivanje konsektivnih promjena serotonina i monoamino-oksidade u raznim tkivima*. Radovi ANU BiH, Odjeljenje Med. nauka 16, str. 137—159.
- Huković S. (1974), *The response of the isolated stomach to electrical nerve stimulation and drugs*. Proceedings s 29—35 of the IV Congress of the Hungarian Pharmacol. Soc.
- Mager A. und Schöne H. H. (1972), *Ferment-Präparate*. In: Ehrhardt, G. und Rusching H. *Arzneimittel*, 3, str. 74—84, Verlag Chemie Weinheim, 1972.
- Martison J. (1965), *Studies on the efferent control of the stomach*. Acta Physiol. Scand. 65: Suppl. 225, str. 1—24.
- Thomas J. E. and Balwin V. M. (1968), *Pathways and mechanisms of regulation of gastric motility*. In: Handbook of Physiology. Code, C. F. Washington American Physiological Society, 1968, str. 1937—1968.
- Weeks, R. J. (1972), *Prostaglandins*, Annual Rev. of Pharmacology, 12 str. 317—336.