

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 HUKOVIĆ i MUHAMED BERBEROVIĆ

UTICAJ SEKSUALNIH STEROIDA NA REAKCIJE IZAZVANE STIMULACIJOM NERAVA REPRODUKTIVNOG TRAKTA*

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 4. IX 1973. god.)

ABSTRACT

Hormoni mogu djelovati brzo izazivajući vidljive promjene motiliteta, odnosno sporo utičući na rast, multiplikaciju i proliferaciju. U cilju da se ispituju brze promjene testosterona i estradiola na motilitet organa genitourinarnog trakta supstance su aplicirane u uslovima in vitro. Upotrijebljeni su izolirani inervirani organi, model-sistemi, koji se kontrahiraju pod uticajem stimulacije ekstrinzičkih nerava. Ispitivan je uticaj hormona na izazvane kontrakcije. Organi su uzeti od kunića, zamorca, štakora i miša. Testosteron povećava efekt stimulacije adrenergičkog nerva na duktus deferens kunića. Efekat stimulacije holinergičkih nerava mokraćnog mjehura je smanjen pod uticajem testosterona i estradiola. Povećavajući efekt testosterona je posljedica akumulacije cikličkog AMP, a inhibirajući efekt je rezultat promjene permeabiliteta za ekstracelularne katione.

UVOD

Testosteron i estradiol imaju dokazano djelovanje na membrane stanica, subcelularne strukture i na molekularnom nivou na nukleinske kiseline. Rezultat pomenutog efekta je naročito izražen na strukturama i stanicama iz reproduktivnog sistema »Target organi«. Njihovo djelovanje može biti gametogeno i endokrino. Endokrino, brzo djelovanje započinje vezivanjem na »vanjske« membranske receptore, a sporo vezivanjem na »unutarnje« intracelularne receptore (Hechter, 1971). Poslije vezivanja na intracelularne receptore dolazi do uticaja na sintezu enzima ili proteina npr. na nukleolarnu polimerazu RNA (Raspe, 1971), povećanu RNA sintezu, povećanu sintezu proteina i druga proliferativna djelovanja (Gorski et al., 1971; King et al., 1971; Alberga, et al., 1971; Baulieu et al., 1971; Liao et al.,

* Izrada ovog rada je finansirana sredstvima Republičke zajednice za nauku SRBiH, Sarajevo.

1971; Puca et al., 1971; Tveter et al., 1971). Većina ovih djelovanja se mogu inhibirati aktinomycinom i paromomicinom.

Poslije vezivanja na membranske vanjske receptore dolazi do promjene permeabiliteta za minerale, ugljiko-hidrate, amino-kiseline i druge ekstracelularne faktore. Kao rezultat promjene permeabiliteta dolazi do brzih interferencija sa metabolizmom, do biohemijskih, elektrofizioloških i motoričkih promjena (Bukvić, 1973; Mimić, 1973; Huković i Berberović, 1972).

Cilj ovoga rada je da se na model-sistemima, adrenergičnog i holinergičnog vegetativnog nervnog sistema sa vegetativnim organima genitourinarnog trakta, ispita brzi motorni efekt estradiola i testosterona. Organi su uzimani od više vrsta životinja.

METODA

Duktus deferens sa adrenergičnim hipogastričkim nervom je prepariran od žrtvovanih štakora, zamoraca, miševa i kunića. Preparacija je vršena prema ranije detaljno opisanoj tehnici (Huković, 1961), i to na taj način što se nerv zaveže pola centimetra daleko od organa, odreže i izvadi skupa sa organom isječenim u duljini od 4 cm. Mokraćni mjehur je vađen od štakora i miševa oba pola (Huković et al., 1965), Ureter se zaveže pola cm daleko od mjehura i izvadi skupa sa mjehurom.

Organ skupa sa nervom se stavi u posudu za izolirane organe, volumena 20 ml. U posudi je zagrijan Tyrode-ov rastvor (32°C), gaziran sa karbogenom (95% O₂ i 5% CO₂). Pošto se organ fiksira u posudi, uvuče se nerv pomoću konca kroz bipolarnu elektrodu (Burn and Rand, 1960). Slobodni mišićni dio se veže za frontalnu pisaljku ili za izotonični transducer. Kao rezultat submaksimalne električne stimulacije vanjskog nerva organ se kontrahira. Kontrakcije se registruju na kimografu ili pisaču-mikrodinamometru (Ugo Basile, Varese). Električni stimulus se daje automatski svake minute u trajanju od 5 sekundi. Parametri stimulansa su: 10 Hz, 1 mS, i 1 mA. Odmah nakon izoliranja organ se stavlja u posudu i stimulira dvadesetak puta u konstantnim intervalima sa konstantnim stimulusima prije početka eksperimenta. Posuda se ispire svakih 5 kontrakcija.

Pošto se registriraju kontrolne kontrakcije, injicira se hormon u koncentraciji 10⁻⁴Mol·lit⁻¹. Supstanca se ostavi desetak minuta, a zatim ispire. Za vrijeme čitavog eksperimenta se ostvaruje intermitentna stimulacija sa ravnomjernim kontrakcijama. Supstance su bile estradiol hidroksibenzoat i testosteron maltozid. Supstance su prvo otopljene u alkoholu, a zatim u Tyrode-ovom rastvoru. U svim eksperimentima je prvo proban efekt otapala. Rezultati se analiziraju promatrajući dva elementa i to promjene tonusa i visine kontrakcija. Bazalna linija predstavlja tonus, visina kontrakcija se preračunava na osnovu prosječne visine kontrolnih kontrakcija.

REZULTATI

Efekt električne stimulacije

Duktus deferens kunića, zamorca, štakora i miša se ravnomjerno kontrahiraju kao rezultat konstantne, submaksimalne električne stimulacije adrenergičnih nerava. Tokom ispiranja se vidljivo ne mijenja visina kontrakcija nakon perioda adaptacije koji traje 15 do 30 minuta. Opadanje visine kontrakcije tokom vremena iznosi manje od 0,5% dvaju susjednih kontrakcija.

Mokraćni mjehur štakora i miša se ravnomjerno kontrahira kao rezultat stimulacije holinergičnih nerava sa konstantnim submaksimalnim električnim stimulusom. Izazvane kontrakcije se veoma sporo smanjuju, manje od 0,2% dviju susjednih kontrakcija.

Efekti seksualnih steroida

Testosteron povećava efekt stimulacije adrenergičkih nerava kunića, tj. izaziva povećanje izazvanih kontrakcija. Njegov efekt je dvofazan i ovisi od vremena kada je supstanca aplicirana u posudu (sl. 1a). Ovisno od koncentracije povećanje kontrakcija je tim veće čim je veća koncentracija. Maksimalan efekt se registruje nakon koncentracije 10^{-4} Mol·lit⁻¹. 5—6 minuta nakon aplikacije visina kontrakcije se smanjuje i padne ispod kontrolnog nivoa. Nakon ispiranja opet se vraća prema kontrolnim vrijednostima. Stimulirajući efekt je dobiven u šest od deset eksperimenata. Efekt testosterona na visinu izazvanih kontrakcija duktus deferensa zamorca se vidi na sl. 1b. Efekt testosterona je na ovoj vrsti životinje kao na drugim ispitivanim vrstama (miš i štakor) smanjenje visine izazvanih kontrakcija. Inhibitorski efekt je tim veći čim je veća koncentracija.

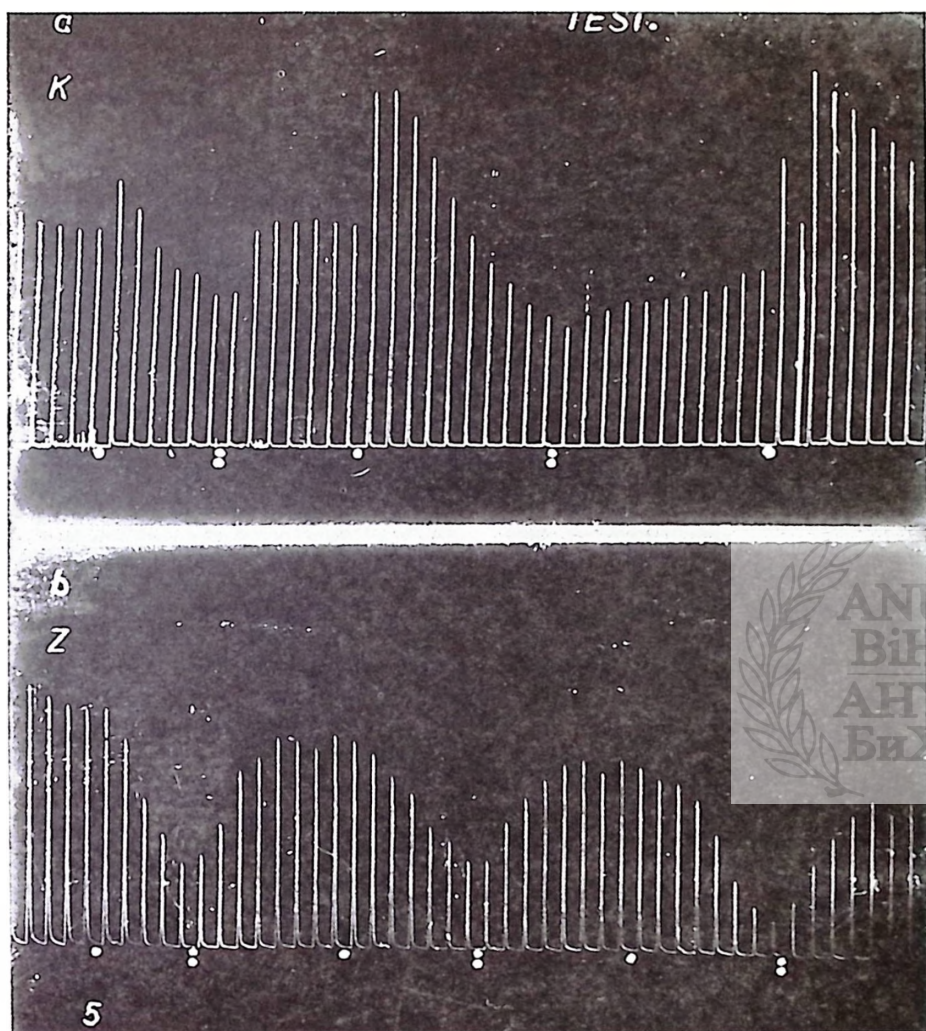
Testosteron smanjuje efekt stimulacije holinergičnog pelvičkog nerva mokraćnog mjehura štakora i miša. Smanjenje ovisi od koncentracije testosterona. Nakon ispiranja visina kontrakcije se brzo vraća prema kontrolnim vrijednostima. Nije ustanovljena signifikantna razlika u efektu kod muških i ženskih organa.

Estradiol u koncentraciji 10^{-4} Mol·lit⁻¹ smanjuje efekt stimulacije adrenergičnih nerava duktus deferensa svih ispitivanih organa. Isto tako smanjuje efekt stimulacije holinergičnog pelvičkog nerva mokraćnog mjehura štakora i miša. Nakon ispiranja efekt stimulacije se vraća prema kontrolnim vrijednostima. Nije ustanovljena signifikantna razlika u djelovanju estradiola kod muških i ženskih mokraćnih mjehura.

DISKUSIJA

Seksualni steroidi testosteron i estradiol mijenjaju visinu izazvanih kontrakcija i tonus glatkomišićnih organa. Testosteron povećava efekt stimulacije adrenergičkog nerva duktus deferensa kunića. To je jedino stimulatorno djelovanje pomenuta dva seksualna steroida. Svi

ostali efekti su smanjenje visina kontrakcija i smanjenje tonusa. Smanjenje efekta stimulacije je našao Bukvić (1973), u svom ispitivanju djelovanja seksualnih steroida na mokraćnom mjehuru.



Slika 1.

Kimogram kontrakcija duktus deferensa izazvanih supmaksimalnom električnom stimulacijom adrenergičnih nerava (1 mA, 10 Hz, 1 mS, svake minute, 5 sek.). Kod tačke je dodan testosteron u posudu, a kod dvotačke posuda je isprana tri puta. Kod prve tačke je 10^{-5} , kod druge 5 puta 10^{-5} , a kod treće 10^{-4} Mol·lit $^{-1}$. (Gore (a) je organ uzet od kunića, a dalje (b) je organ uzet od zamorca. Primjećuje se gore — povećanje, a dolje — smanjenje kontrakcija.

Povećanje efekta stimulacije adrenergičnih nerava duktus deferensa kunića je ovisno o dozi. Postoji odnos između reakcije i doze. Efekt testosterona je dvofazan. Povećavajući efekt je vjerovatno djelovanje testosterona preko vanjskih receptora i to na adenil ciklazu

3'—5'—AMP. Ciklički AMP je uključen u djelovanje mnogih hormona i lijekova (Sutherland, 1970; Meyers et al., 1972), kao tzv. drugi transitor.

Inhibirajući efekt seksualnih steroida, koji se sastoji u smanjenju motiliteta, ima razne konzekvence na funkcije mišićnih organa. Tako je utvrđeno da Estrogeni mogu povećati resorpciju iz crijeva, jer usporavaju pasażu, smanjujući motilitet crijeva (Meyers et al., 1972). Seksualni steroidi u većim koncentracijama mogu izazvati relaksaciju uterusa, a posebno ako su miometrijalne kontrakcije izazvane estrogenima (Abe, 1970; Kuriyama, 1970). Uzrok relaksacije je vjerovatno promjena permeabiliteta za ione natrija i kalcija pod uticajem seksualnih steroida. Iz ovih rezultata proizlazi da seksualni steroidi, ovisno od farmakoloških doza, mogu imati dvostruke efekte. Efekti ovise osim od doze, od vrste organa i životinje.

ZAKLJUČAK

Effekt stimulacije adrenergičkih nerava duktus deferensa kunića je povećan pod uticajem testosterona. Isti hormon na duktus deferensu zamorca, štakora i miša izazivaju smanjenje visine kontrakcija.

Estradiol smanjuje visinu izazvanih kontrakcija duktus deferensa i mokraćnog mjehura, koje nastaju kao rezultat stimulacije vegetativnih nerava.

Testosteron povećava efekt stimulacije kao rezultat akumulacije cikličkog AMP. Smanjeni efekt stimulacije je uslovljen promjenom permeabiliteta.

SEID HUKOVIĆ and MUHAMED BERBEROVIĆ

THE EFFECT OF SEXUAL STEROIDS ON CONTRACTIONS INDUCED BY ELECTRIC STIMULATION OF NERVES OF GENITOURINARY SYSTEM

SUMMARY

Testosterone and Estradiol injected in the isolated organ bath changed the effect of vegetative nerve stimulation of the isolated organs from genitourinary system. Testosterone (10^{-4} Mol·lit⁻¹) increased the contraction of vas deferens of rabbit induced by electrical stimulation of adrenergic hypogastric nerve. The effect of Testosterone on other species like guinea pig, rat and mouse is inhibition of contraction of vas deferens. Testosterone and Estradiol decreased the effect of cholinergic nerve stimulation on urinary bladder. Stimulation is result of the accumulation of cyclic AMP. Inhibition is result of the change of cellular membrane.

LITERATURA

- Abe, Y., *The hormonal control and the effects of drugs and ions on the electrical and mechanical activity of the uterus*, s. 396—417.
- U: E. Bülbring, A. F. Brading, A. W. Jones, T. Tomita, E. Arnold, *Smooth muscle*, London, 1970.
- Alberga, A., Jung, J., Ranaud, J. P., Rsynaud-Jammet, C., Rochefort, H., Truong, H. and Baulieu, E., (1971), *Estradiol receptors in the uterus*. *Advances in the Biosciences* 7, 45—69.
- Baulieu, E., Jung, J., Blondeau, J. P. and Robel, P. (1971), *Androgen receptors in rat ventral prostate*. *Advances in the Biosciences* 7, str. 179—190.
- Bukvić, M., *Uticaj seksualnih steroida na glatku muskulaturu genitourinarnog trakta*. Magistarski rad, Sarajevo, Medicinski fakultet, 1973.
- Burn, J. H. and Rand, M. (1960), *The relation of circulating noradrenaline to the effect of sympathetic stimulation*. *J. Physiol. (Lond.)* 150, 295—305.
- Gorski, J., Sarff, M., and Clark, J. (1971), *The regulation of uterine contractions of estrogen binding protein*. *Advances in the Biosciences* 7, 5—15.
- Haanson, V., *Androgenic receptors in rat and human prostate*. *Advances in the Biosciences* 7, 193—208.
- Hechten, O. (1971), *Reflections concerning steroid hormone receptors*. *Advances in the Biosciences* 7, 395—400.
- Huković, S. (1961), *Responses of the isolated sympathetic nerve ductus deferens preparation of the guinea-pig*. *Brit. J. Pharmacol.* 16, 188—194.
- Huković, S. i Berberović, M. (1971), *Uticaj seksualnih steroida na inervirane muške polne glatkomišićne organe*. (III naučni sastanak endokrinologa Jugoslavije, Sarajevo, 1972).
- Huković, S., Rand, M. J. and Vanov, S., (1965) *Observations on an isolated innervated preparation of rat urinary bladder*. *Brit. J. Pharmacol.* 24, 178—188.
- King, R. J., Beard, V., Gordon, J., Pooley, A. S., Stegles, J. A., A. W. and Rerters M. (1971) *Studies on estradiol binding in mamalian tissues*. *Advances in Biosciences* 7, str. 21—38.
- Kuriyama H., *Effects of ions and drugs on the electrical activity of smooth muscle*. p. 366—395 in: Bülbring, et al. *Smooth muscle* E. Arnold London, 1970.
- Liao S., Tymoczko J., L. Liang T. M., Anderson K. M. and Fang S. (1971) *Androgen receptors: 17-beta-hydroxy-5-alfayandrostan-3-one and the translocation of a cytoplasmic protein to cell nuclei in prostate*. *Advances in the Biosciences* 7, 155—160.
- Meyers, F. H., Javetz and Goldfien A. *Review of Medical Pharmacology*, Blackwell, Oxford, 1972.
- Mimić, B. *Uticaj antiproliferativnih supstanci na glatku muskulaturu organa genitourinarnog trakta*. (Magistarski rad, Sarajevo, Medicinski fakultet, 1973).
- Puca, G. A., Nola, E., Sica, V. and Bresciani F. (1971), *Studies on isolation and characterization of estrogen binding proteins of calf uterus*. *Advances in the Biosciences* 7, 97—114.
- Raspe, G., *Workshop on steroid hormone »receptors«*, Pergamon Press, Oxford, 1971.
- Sutherland, E. W. (1970), *On the biological role of cyclic AMP*, *JAMA*, 214, 1281—1288.
- Tveter, K. J., Unhjem, O., Attramadal, A., Aakvaag A. and