

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA XXXIV

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 13.

Urednik

PAVEL ŠTERN,

redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine



SARAJEVO

1967

SEID HUKOVIĆ I K. U. MALIK*)

UTICAJ ETANOLA NA RESORPCIJU HISTAMINA I GLUKOZE KROZ SEGMENT IZOLIRANOG ILEUMA IN VITRO

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 23. IX 1968. g.)

UVOD

Etanol zahvaljujući svojim fizikalno-hemijskim svojstvima veoma lako i brzo difundira kroz lipoidne membrane stanica. Povoljna fizikalno-hemijska svojstva etanola za pasažu kroz membrane su: mala i nedisocirana molekula, mali polaritet, topivost u vodi i lipoidima i dr. Etanol ne samo što lagano prolazi kroz mukozu crijeva nego, također, može da povećava prolaz drugih supstanci kroz razne membrane, pa čak i kroz hemoencefaličnu barijeru. Lee (1962) je injicirao kunićima u arteriju karotis komunis određenu koncentraciju etanola i ustanovio je povećan permeabilitet za bjelančevine. Pretpostavlja se da je centralni nervni sistem (CNS) pod uticajem etanola mnogo vulnerabilniji za bakterijske toksine i neurotropske viruse, koji bez uticaja etanola ne bi mogli preći u CNS.

Danas se mnoge patološke promjene dovode u vezu sa histaminom. Premda je biogeneza histamina u tkivima dobro proučena, postoje dokazi da se kod psa, mačke i čovjeka histamin stvara dekarboksilacijom iz histidina u lumenu gastrointestinalnog trakta, odakle se resorbira u organizam. Histamin se može resorbirati u organizam iz GIT-a iz hrane. Poznata su masovna trovanja resorbiranim histaminom iz hrane, kao, npr., tunjevinom (Jovanović, 1957). Prema Watsonu (1963), histamin se u organizmu čovjeka pretežno dobiva resorpcijom iz GIT-a. Pošto su patološke promjene, kojima je vjerovatno osnova oslobađanje histamina, veoma frekventne i pošto je veoma frekventno uzimanje većih ili manjih količina etanola, cilj ovog rada je ispitivanje uticaja etanola na prolaz histamina kroz ileum zamorca in vitro.

Glukoza je glavni izvor energije za resorptivne procese i glavna nutritivna supstanca uopšte. Ranije je pokazano da je glukoza potrebna za resorpciju kroz mukozu, i to posebno protiv koncentracionog gra-

*) K. U. Malik je specijalizant iz Republike Pakistan.

Izrada ovog rada je potpomognuta od strane Republičkog fonda za naučni rad SRBiH.

dijenta (Barry et al., 1963). Pored glukoze za resorpciju je potreban ion natrija (Csaky and Thale, 1960). S obzirom na značaj glukoze za resorpciju i dobivanje energije, želi se također ispitati uticaj etanola na prolaz glukoze kroz ileum in vitro, pogotovu zbog toga što je poznato da niz hemijskih najrazličitijih supstanci može mijenjati resorpciju glukoze iz GIT-a, kao, npr., srčano aktivni glikozidi (Csaky et al., 1961, Csaky, 1963) i površinske aktivne supstance (Nissim, 1964).

Kako se može vidjeti, prisustvo etanola u probavnom traktu može usloviti bržu ili slabiju resorpciju nutritivnih i toksičkih supstanci. Cilj ovog rada je da se ustanovi uticaj etanola dodatog skupa sa histaminom i glukozom na prolaz histamina i glukoze kroz zid crijeva in vitro.

METODA

Odmah nakon dekapitacije zamoraca, teških 500—700 g, uzme se segment ileuma, duljine 4 cm, navuče se i fiksira na donji krak staklene U-cijevi. Na mjestu čvrste fiksacije crijeva nalaze se otvori u cijevi, tako da sluznica dolazi u kontakt sa sadržajem crijeva; kroz cijev preko rezervoara od 30 ml cirkuliše Tyrodeova otopina. Pri ispitivanju prolaza glukoze, uzima se otopina bez glukoze u koju se zatim stavlja glukoza u koncentraciji od 120 mg/ml. Histamin se stavlja u finalnoj koncentraciji 0,1 mg/ml, a etanol 4 mg/ml. Čitav sistem se zaroni u posudu za izolirane organe, volumena 30 ml, u kojoj se nalazi Tyrodeova otopina, koja se miješa i aerira sa karbogenom. Temperatura otopine je $35^{\circ}\text{C} \pm 0,1$.

Prilikom ispitivanja prolaza histamina sa mukozne na seroznu stranu fiksanog segmenta ileuma, uzima se drugi komad ileuma, koji se nalazi u istoj posudi i koji je povezan sa frontalnom pisaljkom za registraciju kontrakcije. U posudu za izolirane organe, pomoću infuzione pumpe, infundira se tačno određena koncentracija histamina i ustanovi se odnos između količine infundiranog histamina i visine kontrakcije. Izabere se zatim ona koncentracija histamina koja daje 50% maksimalne koncentracije i stalno infundira. Sva 3 min. posuda se ispira, ileum se relaksira na kontrolne vrijednosti, a pod uticajem kontinuirano infundiranog histamina ponovno se kontrahira u roku od 3 min., ponovno se ispira, i tako se ponavlja. Kada se kontrakcije ileuma indikatora ujednače, u posudu se dodaje etanol da se ustanovi uticaj etanola na kontrakcije izazvane histaminom.

Nakon što se ustanovi uticaj etanola na kontrakcije izazvane histaminom, u lumen cijevi, odnosno u lumen crijeva doda se 0,1 mg/ml histamina i ispituje se prolaz histamina kroz zid crijeva. Posuda se ispira svake 3 minute. Kada se ujednače kontrakcije, u cijev se doda 4 mg/ml etanola i promatra se uticaj ovog etanola na prolaz histamina i konsektivno izazvane kontrakcije histaminom indikator-organa.

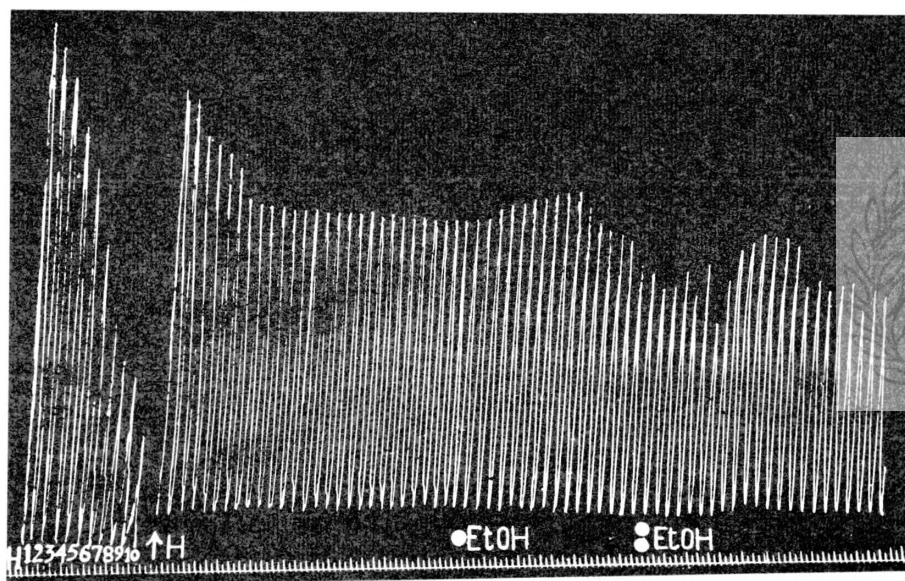
Za ispitivanje prolaza glukoze pod uticajem etanola prvo se ustanovi prolaz glukoze u koncentraciji od 150 mg/ml kroz kontrolno crijevo, a zatim kroz crijevo u koje je dodato 4 mg/ml etanola. Glukoza se utvrđuje kolorimetrijskom metodom, čiji se princip sastoji u stva-

ranju metilfurfurola; pod uticajem koncentrovane sumporne kiseline stvara se ružičasta boja koja se može kolorimetritirati (M e n d e l, K e m p and M y e r s, 1954).

Prolaz histamina i glukoze se izračunava na cm^2 crijeva u minuti. Izračunata je srednja vrijednost, standardna greška srednje vrijednosti (SE), procent povećanja prolaza i standardna greška srednje vrijednosti procenta povećanja ($\bar{x} \pm \text{SE}$).

REZULTATI

Infundirani histamin u posudu za izolirane organe u koncentraciji 0,03 mg/ml izaziva vidne kontrakcije ileuma. Nakon ispiranja posude svake 3 minute ileum se relaksira na polaznu liniju. Postoji pravolinijski odnos između logaritma koncentracije infundiranog histamina i visine kontrakcije (slika 1).



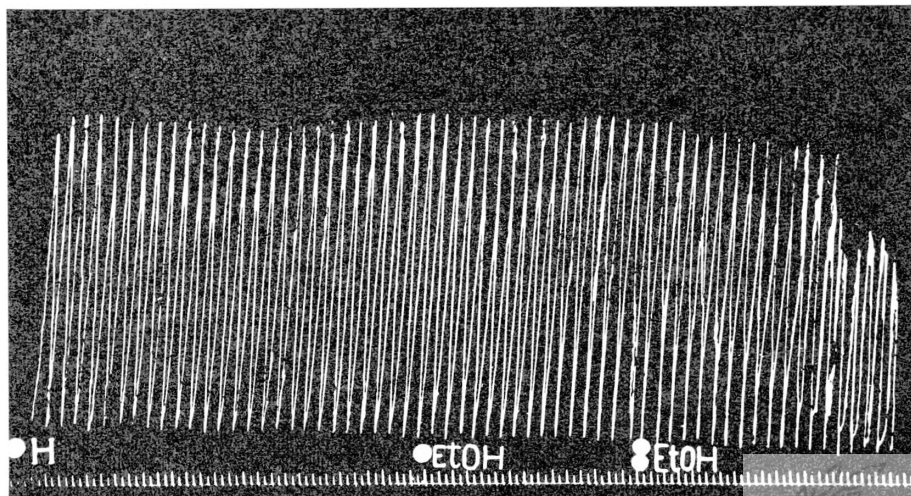
Slika 1.
Kontrakcije ileuma izazvane infuzijom histamina (lijeva strana slike) i difundiranim histaminom kroz zid crijeva (desna strana slike). Kod tačke EtOH dodato 4 mg/ml, a kod dvotačke EtOH dodato 16 mg/ml stanola u ileum crijeva. Vidi se da je difuzija pojačana.

Etanol dodat u koncentraciji od 16 mg/ml ne utiče na kontrakcije izazvane histaminom. U većim koncentracijama smanjuje osjetljivost segmenta prema histaminu (sl. 2).

Histamin apliciran u lumen crijeva u koncentraciji od 0,1 mg/ml difundira kroz zid ileuma sa mukozne na seroznu stranu u prosjeku od $48,9 \pm 8,12$ ng/min/ cm^2 (tabela 1).

Etanol dodat u lumen crijeva u koncentraciji od 4 mg/ml povećava prolaz histamina, kako se može vidjeti na slici 1. Na svih 6 ispi-

tivanih segmenata crijeva ustanovljen je pojačan prolaz histamina. Na tabeli 1 vidi se da pod uticajem etanola prolaz histamina iznosi u prosjeku $55,1 \pm 5,56$ ng/min/cm². Poslije početnog povećanja kontrakcija, vidi se smanjenje. Redukcija kontrakcija je rezultat smanjene osjetljivosti prema histaminu.



Slika 2.

Uticaj etanola na kontrakcije ileuma izazvane histaminom: kod tačke EtOH dodato je 4 mg/ml, a kod dvotačke EtOH dodato je 18 mg/ml etanola.

Tabela 1.

PROLAZ HISTAMINA I GLUKOZE KROZ ZID KONTROLNOG ILEUMA I ILEUMA U ČIJI JE LUMEN DODAT ETANOL (ng/min/cm²)

Supstanca	Kontrola	Etanol 4 mg/ml	Povećanje u %
Histamin (0,1 mg/ml)	$48,9 \pm 8,1$	$55,1 \pm 5,6$	$12,71 \pm 1,17$
Glukoza (0,15 g/ml)	$40,9 \pm 2,8$	$50,9 \pm 3,7$	$24,20 \pm 1,86$

Etanol apliciran u lumen crijeva u koncentraciji od 4 mg/ml povećava prolaz glukoze. Kroz zid kontrolnog ileuma glukoza prolazi u koncentraciji od $40,9 \pm 2,8$ ng/min/cm². Kada se u lumen ileuma doda etanol, glukoza prolazi u prosjeku u koncentraciji $50,9 \pm 3,7$. Etanol dodat u lumen crijeva 4 mg/ml povećava prolaz glukoze za 24,2% ($\pm 1,86$), a histamina za 12,71% ($\pm 1,17$).

DISKUSIJA

Nakon što je konstruisana jednostavna aparatura za mjerenje prolaza raznih supstanci sa mukozne na seroznu stranu izoliranih segmenata crijeva, ustanovljeno je da histamin prolazi najjače kroz zid ileuma u odnosu na druge ispitivane segmente (Malik, 1966). Histamin

dodat skupa sa etanolom prolazi za 12,71% brže kroz zid ileuma, a glukoza dodata skupa sa etanolom prolazi brže kroz zid ileuma sa mukozne na seroznu stranu za 24,2%. Etanol od 16 mg/ml ne mijenja osjetljivost i visinu kontrakcija ileuma izazvanih histaminom.

Histamin je ubikvitarna supstanca u biljnom i životinjskom svijetu. U organizam čovjeka može lako da dođe iz hrane ili iz histidina, kojeg ima mnogo u hrani. Dekarboksilacija je pod uticajem normalne crijevne flore (Watson, 1963). Budući da se drži da je biohemijski ekvivalent niza patoloških procesa histamin, to je etanol, koji se veoma frekventno uzima, značajna supstanca za nastajanje, odnosno stimulaciju patoloških procesa, kojima je u osnovi oslobađanje histamina ili njegovo nagomilavanje. U ovom radu je prikazano da se histamin brže resorbira pod uticajem etanola, pa se prema tome više i gomila u organizmu. U ovom radu je ustanovljeno da amin histamin ubrzano prolazi pod uticajem etanola, a ne samo da postoji ubrzana pasaza aminokiselina, kako je našao Spencer (1964).

Pacijenti alkoholičari obično imaju nutritivne i druge smetnje organa trbušne šupljine. Osnova ovim simptomima je poremećaj resorpcije i multipna angažovanost organa pod uticajem etanola. Huković, Malik i Smajkić (1967a, 1967b) su pokazali da etanol inhibira nervnu transmisiju izoliranih organa, i da prolazi u dovoljnoj koncentraciji kroz ileum zamorca da izazove pomenutu inhibiciju transmisije nerv—glatki mišić. Inhibitorno djelovanje je izrazito na organe u trbušnoj šupljini — crijevo i duktus deferens. Sa druge strane, glatka muskulatura mokraćnog mjehura, pluća i krvnih žila se kontrahira pod uticajem etanola (Huković i Rustanbegović, 1967).

Povećanje prolaza amina pod uticajem etanola može jako komplicirati tumačenje pojedinih simptoma, jer oni sa svoje strane mogu da djeluju na organe u trbušnoj šupljini. Sluznica crijeva je normalna barijera za prelaz u organizam nizu toksičnih supstanci koje se nalaze u sadržaju crijeva. Mnogi amini iz sadržaja crijeva pod uticajem etanola mogu prodrijeti kroz ovu barijeru i doći u razne organe, pa čak i u CNS, jer, kako je pokazao Lee (1962), etanol utiče na propustljivost hemoencefalične barijere. Etanol, prema tome, monificira funkcije per se, ali isto tako poremećajem resorpcije iz crijeva mora da mijenja normalne reakcije pojedinih organa in situ, kako je to pokazano in vitro.

ZAKLJUČAK

Pomoću jednostavne aparature ispitivan je prolaz histamina i glukoze kroz zid ileuma zamorca pod uticajem etanola in vitro.

Količina histamina koji prolazi kroz zid crijeva određivana je simultano biološkom metodom na ileumu zamorca, a količina glukoze je određivana pomoću mikrokolorimetrijske metode. Nađeno je da etanol povećava prolaz histamina za 12,71%, a glukoze za 24,20%.

Etanol djeluje direktno i indirektno na glatkomišićne organe in situ. Direktno djelovanje dovodi do spazma ili spazmolize mišića; indirektni efekt etanola nastaje pod uticajem promjene resorpcije aktivnih supstanci iz lumena crijeva.

**EFFECT OF ETHANOL ON THE PASSAGE OF HISTAMINE
AND GLUCOSE ACROSS THE ISOLATED ILEUM OF GUINEA
— PIG IN VITRO**

SUMMARY

The passage of histamine and glucose have been investigated quantitatively across the ileal wall of guinea — pig under the influence of ethanol in vitro using a simple apparatus. The amount of histamine passing the intestinal wall have been estimated simultaneously and instantly by a biological method using ileum of guinea-pig. The amount of glucose passing the intestinal wall was estimated by a micro — colorimetric method. It has been found that ethanol increase the passage of histamine and glucose across the ileal wall to 12,71% and 24,20% respectively.

Ethanol caused direct and indirect effect on the smooth muscle organs in situ. Direct effects were spasm or relaxation of muscle. Indirect effect of ethanol was induced by the change of resorption of different active substances from intestine.

LITERATURA

1. Barry, R. J. C., Smyth, D. H., and Wright, E. M.: Short circuit current and jejunal transfer of fluid and solute in vitro, *J. Physiol. (London)* 168, 1963, 50p—51p.
2. Csaky, T. Z., and Thale, M.: Effect of ionic environment on intestinal sugar transport, *J. Physiol. (London)* 151, 1960, 59—65.
3. Csaky, T. Z., Hartzog, H. G., and Fernald, G. W.: Effect of digitalis on the active intestinal sugar transport. *Am. J. Physiol.*, 200, 1961, 459—460.
4. Csaky, T. Z.: The effect of digitalis upon the biological transfer mechanisms in the small intestine, *Proceedings of the First International Pharmacological Meeting*, 3, 1963. 225—231. Pergamon press, N. Y.
5. Huković, S., Malik, K. U., and Smajkić, A.: The inhibitory effect of alcohol on nerve transmission of isolated innervated Oesophagus, Ileum, Urinary bladder and Vas deferens, *Alcoholism* 3, 1967, 1—7.
6. Huković, S., Malik, K. U. i Smajkić, A.: Prelaz etanola kroz zid crijeva i njegov uticaj na susjedne organe u trbušnoj šupljini, *Anal. Bolnice »Dr M. Stojanović«* 6, 1967, 305—309.
7. Huković, S. i Rustembegović, F.: Periferno spastičko djelovanje etanola u kardiovaskularnom, respiratornom i digestivnom traktu, *Med. zbornik* 5, 1967, 21—27.
8. Jovanović, L.: Trovanje aminskim bazama (histaminom) u hrani, *Prehrambena industrija* br. 1, Beograd, 1957, 121—125.
9. Lee, J. C.: Alcohol and blood — brain barrier. *Quart. J. Stud. Alcohol.* 23, 1962, 4—15.
10. Malik, K. U.: Permeability of drugs through body membranes under the influence of stimulation of respective nerves and some active substances. Doctorate thesis. Faculty of Medicine, University of Sarajevo, 1966.

11. Malik, K. U., and Huković, S.: Permeability of histamine across the intestine under the influence stimulation of autonomic nerves in vitro. Naunyn — Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 257, 1966, 42—43.
12. Mendel, B., Kemp, A., and Myers, D. X.: A colorimetric micro-method for the determination of glucose, Biochem. J. 56, 1954, 639—646.
13. Nissim, J. A.: Mechanism of intestinal absorption: The concept of a spectrum of intracellular plasma, Nature 204, 1964, 148—151.
14. Spencer, R. P.: Spatial distribution of intestinal activities, Yale J. Biol. Med. 36, 1964, 279—294.
15. Waton, N. G.: Is tissue histamine formation necessary in cat, dog and mon? — International Arch. Allergy 22, 1963, 87—101.

