

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

MODEL-SISTEMI U EKSPERIMENTALNOJ FARMAKOLOGIJI*)

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 5. II 1969. g.)

UVOD

Poznato je da organi preživljavaju izvan organizma. Duljina preživljavanja ovisna je o uslovima u koje se organ stavlja nakon izolacije. Osnovno je spriječiti isušivanje, osigurati osmolaritet i odstraniti produkte razgradnje¹. Step en životne sposobnosti kod organa sa mišićima ocjenjuje se njihovom pokretljivošću. Pokretljivost izoliranih organa koristi se također u ispitivanju djelovanja raznih supstanci. Mišićna aktivnost je spontana ili izazvana. Spontana aktivnost, kao npr. srca, može se mijenjati stimulacijom pripadajućih nerava. Stimulacija akcelera nsa izaziva ubrzanje i pojačanje, a vagus usporenje i oslabljenje spontane akcije izoliranih atri ja ili srca u cjelini^{2, 3, 4, 5, 6}. Neki izolirani organi ne pokazuju spontanu aktivnost. Na duktus deferensu raznih eksperimentalnih životinja ne vidi se skoro nikada spontana aktivnost. Električna stimulacija hipogastričkog simpatičkog nerva, međutim, do vodi do znatne mehaničke aktivnosti⁷.

Mehanička aktivnost organa veoma se lako registruje. Rezultat registracije se može mjeriti, brojčano izraziti i upotrijebiti za otkri vanje prirodnih zakona. Otkrivši zakonitosti koje vladaju u pojedinim situacijama, pomenuti izolirani organi mogu se upotrijebiti za ispiti vanje promjena funkcija pod uticajem raznih supstanci. Ispituje se far makodinamsko svojstvo novosintetiziranih supstanci, lijekova i otrova. Jednostavna i lagana registracija mehaničkih funkcija pojedinih organa navela je veliki broj istraživača da se koriste rezultatima dobivenim mjerenjem pokreta.

Analitički pristup

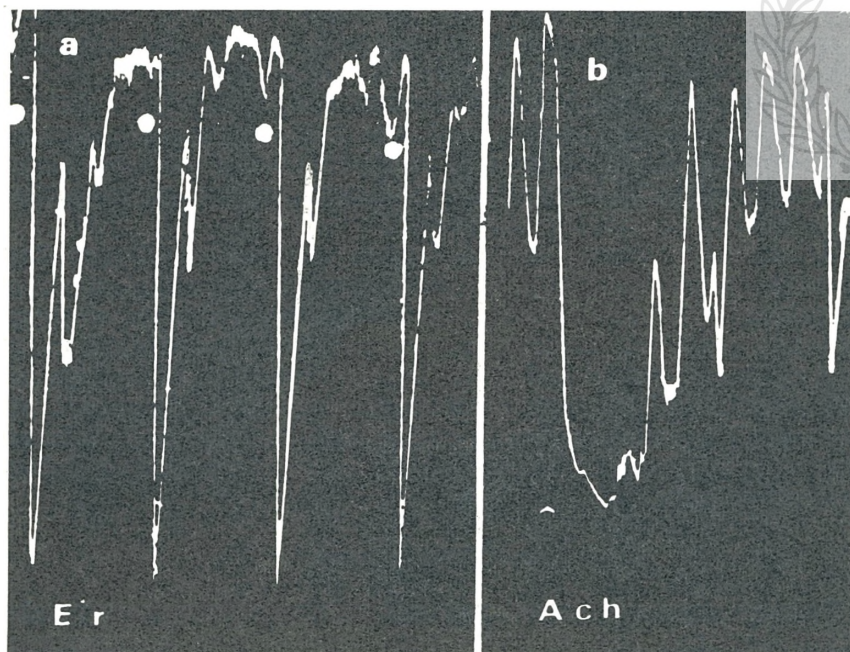
Vađenje organa iz organizma, raščlanjivanje organizma poseban je analitički postupak koji se danas često upotrebljava u eksperimental-

*) Pristupno predavanje dopisnog člana Akademije nauka i umjetnosti BiH prof. dr S. Hukovića, održano 21. I 1969. god. Izrada ovog rada je potpomognuta sredstvima Saveznog fonda za finansiranje naučnih djelatnosti SFRJ.

nim disciplinama medicinske nauke. Osnovno svojstvo eksperimenta uopšte, a medicinskih eksperimenata posebno, jeste variranje uslova po potrebi eksperimentatora. Varirati uslove u kompleksnom sistemu nije lako, jer postoji mogućnost zamjene jednog uslova drugim, odnosno jedne reakcije drugom. Mogućnost zamjene je mnogo manja ako je sistem manje složen, tj. ako se uzme jedan dio sistema i stavi u samo jedan dio potrebnih uslova za preživljavanje, kao što je to slučaj kod izoliranih organa.

Pojednostavljivanje objekta istraživanja i njegovo stavljanje u primitivne uslove povlači za sobom smanjenje sigurnosti u zaključke. Ovdje se javlja stari problem odnosa između cjeline i dijela. Prigovor načinu ispitivanja pomoću izoliranih organa sastoji se u tvrđenju da se mjeri nešto što se normalno ne događa u organizmu, te da ovi dijelovi organizma ne reprezentiraju tačno organizam kao cjelinu, pa čak ni cijeli sistem organa.

Prigovor koji je postavljen na ovaj način mora se uzeti u obzir, ali treba ipak znati da su mnoga fakta, zakonitosti i znanja stečena na osnovu analitičkog postupka. Mnoge činjenice, zakonitosti i teorije neće se moći steći ni u budućnosti bez analitičkog metoda u eksperimentalnoj medicini. Postoji tendenca sve dubljeg raščlanjivanja organizma. Dosada se pretpostavljalo da acetilholin izaziva relaksaciju nekih krvnih žila. Do ovog stava došlo se na osnovu intravenoznog injiciranja acetilholina. Relaksaciju krvnih žila nije bilo moguće vidjeti, tj. nije



Slika 1.

Relaksacije izoliranog korpus kavernozuma kunića poslije stimulacije urigentalnog nerva (a) i nakon dodavanja acetilholina (b). Električni stimulus je svake 4 minute u trajanju od 15 sekundi.

bilo direktnog dokaza. Izolirani korpus kavernozum kunića relaksira se na stimulaciju parasimpatičkih nerava (sl. 1 a). Isti organ u posudi za izolirane organe relaksira se na dodati acetilholin (sl. 1 b). Radi se o prvoj strukturi na kojoj se vidi relaksacija na acetilholin.

Tabela 1.
NIVO INTEGRACIJE RAZNIH JEDINICA U STVARANJU PRIRODNIH SISTEMA

Nivo integracije	Jedinica proučavanja	Stručnjak koji eksperimentiše
0*)	Elektroni, protoni, pozitroni itd.	atomske fizičar
1.	Atomi	atomske fizičar
2.	Molekule	hemičari
3.	Molekularni sistemi	biohemičari
4.	Polimolekularni sistemi	enzimolozi
5.	Stanični sistemi	citolozi
6.	Polipolimolekularni sistemi	
7.	Tkivni sistemi policelularni	histolozi, patolozi
8.	Organi politkivni	fiziolozi (izolirani organi)
9.	ORGANSKI SISTEMI POLIORGANSKI	IZOLIRANI ORGANI SA NERVIMA
10.	Organizam polipoliorganski sistemi	kliničari
	Društvo	sociolozi

*) Na 0 nivou integracije je samo nekoliko jedinica; na 1. nivou 102; na 2. nivou preko 800.000 molekula; u 3. daleko više od 800.000 jedinica.

Upotreba izoliranih organa može nam dati direktne dokaze o djelovanju medikamenata; šta više njihova upotreba sa pripadajućim nervima daje nam objekte istraživanja na višem stepenu integracije prirodnih sistema, a u uslovima potrebnim za niži stepen integracije. Izolirani organi sa pripadajućim nervima su veći dijelovi cjeline, a eksperimenti na njima su jednostavni kao na običnim izoliranim organima.

Istraživanja na raznim nivoima integracije

Schueler (1960) u svojoj knjizi o hemobiodinamici iznosi nivoe organizacije i integracije prirodnih sistema. Na tab. 1 data je modificirana tabela Schuelera (1960) o nivoima integracije prirodnih sistema, počevši od osnovnih elemenata do najkompleksnijih struktura⁸. Broj po jedinici elemenata raste eksponencijalno kako raste nivo integracije. Istraživanje je kompleksnije kako raste nivo integracije. Za rješavanje mnogih pitanja eksperimentalni uslovi su jednostavniji na nižim nivoima integracije. Ovaj način istraživanja iskorištava se danas u ekspe-

rimentalnoj medicini za rješavanje mnogih pitanja i problema. Naročito se primjenjuje u ispitivanju mehanizma djelovanja gdje se prave uspoređenja i traže sličnosti sa mehaničkim modelima. Niži nivo integracije može da posluži kao model u objašnjenju mehanizma djelovanja višeg sistema. Mehanički model mora biti veoma jednostavan, pa se neposredni viši nivo integracije ukoliko se uzima kao model naziva model-sistem, jer je mnogo komplikovaniji od običnog modela.

Formulacija problema

Izolirani organi su predmet proučavanja na politktivnom organskom nivou, tj. nivou 7. tab. 1. Uslovi za eksperimente su jednostavni, a to je suspenzija, odnosno perfuzija u aparatu za izolirane organe. Pomenuti jednostavni uslovi trebalo bi da budu iskorišteni za ispitivanje više integracione jedinice. Problem je pripremiti jedinice istraživanja višeg nivoa za istraživanje u uslovima nižeg nivoa, tj. ispitivati izolirane organe sa dijelovima integracionog sistema nervnim sistemom. Ukratko: ostvariti nivo integracije 8. tab. 1, tj. poliorganski sistem, izoliranje organa sa pripadajućim nervima koji treba da služe kao model-sistemi organizma ili bar organskog sistema.

Cilj rada

Cilj ovoga rada je prikazati niz izoliranih organa sa pripadajućim nervima. Prikazati ih izolirane skupa sa intaktnom inervacijom, ili kao reprezentante organizma, ili reprezentante organskih sistema. Jedan od ciljeva ovog rada je prikazati rezultate istraživanja djelovanja pojedinih supstanci na model-sistemima, izoliranim inerviranim organima i nalaženje statističkih konstanti djelovanja medikamenata. Cilj je, također, ukazati na buduća istraživanja, prednosti i potrebu za ovom vrstom preparacija.

METODA

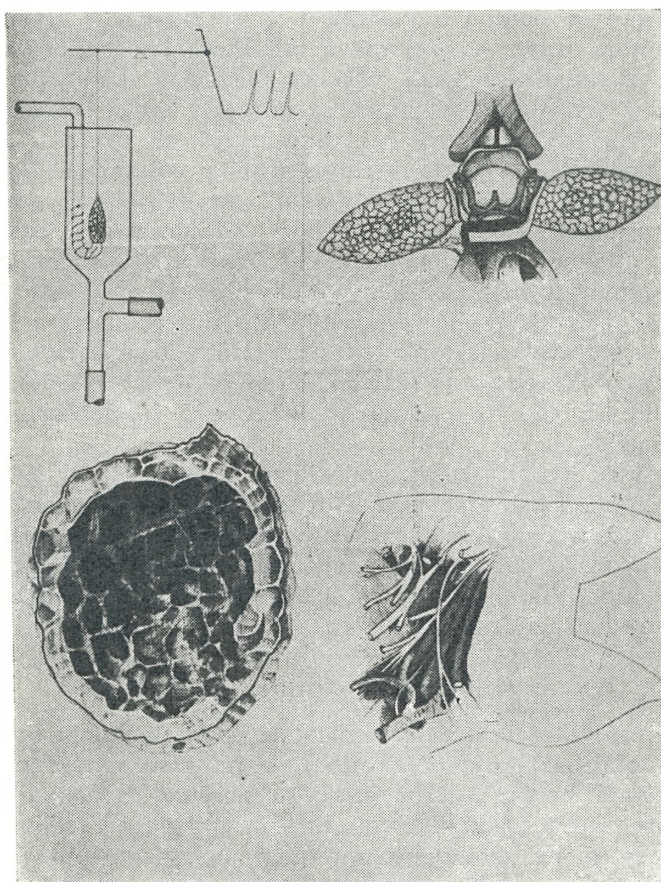
Životinje i preparacije organa

Organi su uzimani od životinja koje su prethodno onesviještene i dekapitirane. Najčešće su upotrebljavani kunići, zamorci, štakori, miševi, žabe i golubovi oba pola. U nekim eksperimentima su uzimani organi čovjeka, odnosno dijelovi pojedinih organa uzeti za vrijeme operacije ekstrakcijom dijelova pojedinih oboljelih organa.

Životinje su prilikom uzimanja organa prvo presječene po medijalnoj liniji. Identificiraju se organi i pripadajući nervi. Obično se uzimaju nervi vegetativnog nervnog sistema, a u slučaju preparacije ezofagusa nervom^{9, 10} uzima se kapitalni živac. Ukoliko je moguće, prepariraju se nervi parasimpatičkog i simpatičkog sistema na jednom organu odvojeno jedan od drugoga, kao npr. na atrijima srca kunića^{2, 3} ili čitavom srcu kunića^{11, 12}. Slično se prepariraju oba nerva na kolonu

kunića¹³. Kolon zamorca¹⁴, kolon štakora i miša¹⁵ obično se prepariraju samo sa holinergičnom inervacijom.

Kada se identificira nerv, onda se ispreparira u duljini od 1 cm, počevši od organa. Nerv se zaveže i presiječe, pazeći da se ne otkine ili ošteti na drugi način. Nije potrebno suviše čistiti vezivno tkivo, jer stimulacija nerva daje odgovarajući rezultat, mada je nerv inkorporiran u drugo tkivo. Na taj način se maksimalno štedi nježna veza nerv—organ. Nerv se nekada nalazi na čvrstim strukturama, kao npr. na mokraćnom mjehuru štakora i miša^{16, 17}, pa je tako moguća lakša manipulacija, jer se nerv i ganglije nalaze u adventiciji uretera. Ureter se zaveže, presiječe i kasnije uvlači u elektrodu. Posebno je jednostavna preparacija jednjaka sisara¹⁰ i traheje goluba¹⁸ — obje sa ograncima vagusnog nerva. Preparacija traheje sisara sa vagusnim nervom do sada uspijeva samo ponekada, međutim *ramii pulmonalis n. vagi* sa plućima žabe uspijeva mnogo češće¹⁹. Pluća žabe se mogu izvnuti kao prst na rukavici, pa se ova preparacija upotrebljava za ispitivanje dje-



Slika 2.

Preparacija pluća sa *ramii pulmonales nervi vagi* žabe. Gore, lijevo — suspenzija pluća na koaksijalnu elektrodu, desno — preparacija pluća. Dolje — lijevo je unutrašnjost pluća sa trabekulama, desno — preparacija nerva.

lovanja raznih supstanci apliciranih na pleuralnu ili mukoznu stranu uz istovremenu stimulaciju nerva ili koaksijalnu stimulaciju²⁰.

Pogodna preparacija za ispitivanje efekta stimulacije adrenergičnih nerava je duktus deferens zamorca, kunića, štakora ili miša⁷. Hipogastrični nervi zamorca i kunića vide se u mezogastriju, pa se mogu slijediti do organa. Kod štakora i miša uzima se *plexus hipogastricus* sa dijelovima peritoneuma u neposrednoj blizini organa.

Za ispitivanje prolaza raznih supstanci kroz membrane upotrebljava se komadić ileuma kroz koji prolazi otopina određenog sastava sa mukozne na seroznu stranu²¹.

Vrste suspenzije

Organi se suspendiraju u vlažnoj komori uz istovremenu perfuziju, kao npr. srce kunića⁵, ili, što je češće, potapaju se u posudu za izolirane organe. Primjenjuje se suspenziona, perfuzionna ili kombinirana tehnika. Suspenzija organa se vrši u posudi za izolirane organe. Suspendirani organ se potapa u posudu²², ili se fiksira u vlažnoj komori. U vlažnoj komori organ se prekapava otopinom tzv. superfuzija²³. Osim superfuzije i potapanja organa vrši se perfuzija, kao npr. srca kroz koronarne žile, tzv. Langendorfova preparacija srca. Osim organa bez vanjskih nerava, ovi postupci se primjenjuju za organe izolirane sa ekstrinzičkim nervima. Posuda je konstantnog volumena. Kroz otopinu se pušta kisik, zrak ili karbogen. Organi su potopljeni, prekapani ili perfundirani otopinama različitog sastava. Zajedničko je svim otopinama da imaju prilično sličan osmolaritet i približno sličan odnos iona K^+ i Ca^{++} . Osmolaritet se osigurava kuhinjskom solju (oko 130 mMol). Otopina obično ima pufer koji se ostvaruje bikarbonatima i fosfatima. Obično se upotrebljavaju za toplokrvne životinje Tyrodeova²⁴ (1904), Krebs-Henselleitova²⁵ (1933), Krebsova²⁶ (1950), McEwenova²⁷ (1956), Lockeova za toplokrvne i hladnokrvne životinje i druge otopine²⁸.

Najpovoljniji rezultati se dobijaju pri temperaturi $32^{\circ}C \pm 0,5^{\circ}C$. Jedan kraj organa fiksira se u posudi za izolovane organe, odnosno u vlažnoj komorici, a drugi kraj se veže za pisaljku koja piše po zagraavljenom kimografu. Obično je povećanje na pisaljci 6 puta, a opterećenje koje savlađuje organ iznosi 0,5 g. Radi se o izotoničkim kontrakcijama i registracijama.

Električna stimulacija

Ispreparirani i zavezani nerv provlači se kroz bipolarnu elektrodu. Elektrode su platinski prstenčići među kojima se nalazi polietilenska cijev za ispiranje nerva²⁹. Kroz cijev se perfundira tekućina za ispiranje, ili, češće, sukcijom izvlači otopina iz posude za izolirane organe. Preko nerva se pušta električna energija u konstantnim intervalima, najbolje u toku svake dvije minute u toku dvije sekunde. Električna energija je kvadratičan impuls, submaksimalne jačine, trajanja 0,5—1 msek. Za stimulaciju holinergičnih nerava najpovoljnija frekvenca je 10—20 Hz, a adrenergičnih 20 Hz pa na više.

Transmuralna električna stimulacija je izazivanje mišićne reakcije stimulacijom intramuralnih nerava ili direktno muskulature³⁰. Na sl. 2 vide se preparacija pluća žabe sa nervima i fiksacije organa za transmuralnu stimulaciju³⁰. Električni stimulus je nešto jači nego za stimulaciju nerava za istu visinu reakcije. Ako se želi efekt stimulacije nerava, potrebno je izabrati što kraću duljinu impulsa (0,5—1,0 msek.). Dulji impulsi stimuliraju direktno mišić.

Evaluacija rezultata

Ukoliko je eksperiment sa organima koji imaju spontane pokrete, kao npr. inervirani atrij srca ili inervirano *Langendorfovo srce*, rezultat efekta stimulacije najčešće se prosuđuje mjereći brzinu rada srca. Obično se broje kontrakcije, ili, ukoliko stoji na raspolaganju kardiotahimetar, brzina kontrakcija se registruje automatski. Osim brzine rada srca u nekim eksperimentima mjeri se i evaluira jačina srčane kontrakcije. Osnovno je mjerenje hronotropnog efekta⁶.

U eksperimentima sa organima koji imaju longitudinalnu muskulaturu rezultati se većinom prosuđuju na osnovu kontrakcije longitudinalne muskulature. Mjeri se visina kontrakcija i promjena tonusa. Tonus je predstavljen bazalnom linijom. Promjena visine kontrakcije može biti apsolutna i relativna. Apsolutna visina kontrakcije je ovisna od razmaka između kontrolne bazalne linije i visine kontrakcija, a relativna visina kontrakcije je razmak između promijenjenog tonusa i vrha kontrakcije. Potrebno je izmjeriti maksimalnu moguću kontrakciju izazvanu električnom stimulacijom i izvana dodatim fiziološkim transmi-torom. U nekim eksperimentima utvrđuje se potrebna koncentracija supstanci tako da dovede do 50% povećanja submaksimalnu kontrakciju i 50% smanjenja kontrolne visine kontrakcija. Negativan logaritam molarne koncentracije neke supstance koja dovodi do 50% smanjenja visine kontrolne kontrakcije naziva se pB50³¹. Obično je visina kontrolne kontrakcije pola do četvrt maksimalne kontrakcije.

Za određivanje nepoznate koncentracije aktivnih supstanci pomoću izoliranih organa, tj. za esej supstanci na izoliranim inerviranim organima osim pB50 primjenjuju se druge statističke procedure od kojih je najčešće sekvencijalna analiza po Brossu³² (1952). Sekvencijalna analiza omogućava da se još u toku eksperimenta ustanovi kada se može prestati sa daljnjim eksperimentisanjem, tj. kada je dostignuta granica određenog stepena vjerovatnosti.

Supstance

Prilikom upoznavanja svojstava inerviranih izoliranih organa, osim promjene parametara električne stimulacije, upotrebljavaju se razne supstance. Prvo se upotrebljavaju fiziološki transmittori acetilholin, odnosno noradrenalin. Pošto se dobije uvid u djelovanje transmittora, daju se njihovi antagonisti raznih nivoa, odnosno receptora. Tako se za glatku muskulaturu prvo upotrijebi antagonist acetilholina — atropin, za ganglije — heksametonijum, za poprečnoprugastu muskulaturu — tuboku-

rarin. Osim ovih antagonista holinergičnog efekta stimulacije, upotrebljavaju se antiparasimpatikotonici, kao hemiholinijum, sredstvo za sprečavanje stvaranja acetilholina, botulinus i tetradotoksin, kao sredstva za sprečavanje oslobađanja acetilholina. Za sprečavanje efekata fizioloških kateholamina i adrenergične nervne stimulacije upotrebljavaju se alfa i beta-blokatori, najčešće fenoksibenzamin i dihloroizoproterenol. Osim ovih antagonista adrenergičnog nervnog efekta, upotrebljavaju se anti-simpatikotonici, životinja se tretira reserpinom, 6-hidroksidopaminom. U analizi izoliranih inerviranih organa upotrebljava se za pojačanje efekta stimulacije holinergičnih nerava antiholinesteraze, a za pojačanje efekta stimulacije adrenergičnih nerava kokain. Osim pobrojanih osnovnih supstanci upotrebljava se niz drugih supstanci u analizi svojstava pojedinih nervnih efekata.

REZULTATI I DISKUSIJA

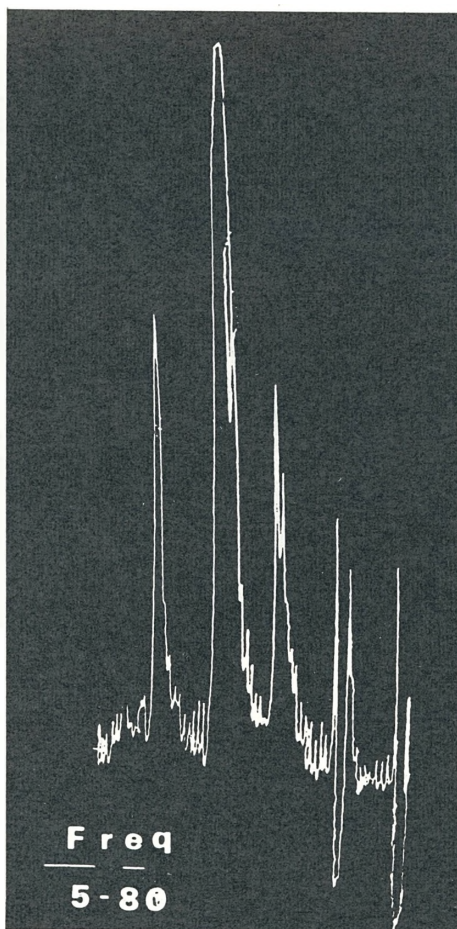
Organi sa pripadajućim nervima stavljeni u pogodne uslove preživljavaju nekoliko dana. Najpogodniji interval za ekstrakciju izoliranih inerviranih organa je neposredno nakon uginuća životinje. Glatko-mišićni organi iz genitourinarnog trakta mogu se vaditi 1—2 sata nakon dekapitacije. Efekt stimulacije nerava, mada slabo, može se izazvati 10—12 sati nakon izoliranja. Izuzetak su izolirana atrija i srce, gdje se efekt stimulacije najbolje može vidjeti neposredno nakon operacije. Prethodna perfuzija koronarnih žila dok je srce in situ osigurava mnogo bolje funkcionisanje izoliranog organa i njegovog nerva¹². Perfuzija drugih izoliranih organa kroz njihove krvne žile oksigeniziranom otopinom prije preparacije daje veoma upotrebljive izolirane inervirane organe.

EFEKTI ELEKTRIČNE STIMULACIJE NERAVA

Konstantna električna stimulacija nerava daje u određenom vremenskom intervalu nakon izolacije ravnomjerne reakcije organa. Obično je potrebno čekati period adaptacije organa prije eksperimenta, tj. 5—10 min. nakon suspenzije, i to stalno stimulirajući nerv organa. Ovisno je od eksperimenata, ali je neke organe u periodu adaptacije bolje stimulirati učestalije — svakih 15—30 sekundi. Takvi su organi ezofagus i duktus deferens. U toku i nakon perioda adaptacije posuda za izolirane organe se ispira nekoliko puta.

Postoji upravan odnos između pojedinih parametara električnog impulsa i jačine reakcije. Ovaj odnos je moguć do određene vrijednosti stimulusa. Na organima gdje se stimulira miješani nerv, kao npr. na rektumu štakora, vidi se da stimulacija nižim frekvencama dovodi do kontrakcije, dok stimulacija višim frekvencama dovodi do relaksacije (sl. 3). Na rektumu zamorca visoke frekvence do 80 Hz i više dovode samo do smanjenja visine izazvanih kontrakcija (sl. 4). Upotrebljavajući logaritam jačine, frekvence ili duljine električnih parametara u

određenom intervalu, može se naći linearan odnos između vrijednosti električnog impulsa i metamera jačine kontrakcije. Ova interpolirana linija se koristi za esej raznih supstanci i iznalaženje brojčanih vrijednosti.



Slika 3.

Kontrakcije izoliranog rektuma štakora izazvane raznim frekvencijama: 5, 10, 20, 40 i 80 Hz (10 V, 2 msec., svake 2 minute, u trajanju od 15 sekundi).

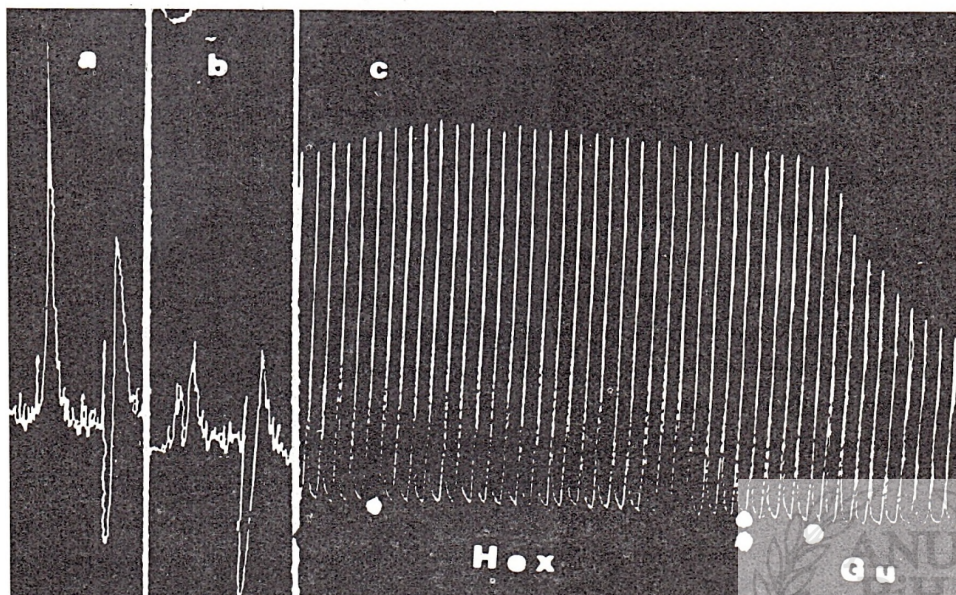


Učestala stimulacija se upotrebljava za ispitivanje brzine iscrpljivanja transmitora, kao npr. ezofagusa miša poslije trovanja botulinus toksinom⁹. Na ovoj preparaciji je pokazano da se nervi ezofagusa uzeti od otrovanih miševa brže iscrpljuju nego kontrolni nervi, pa je ova metoda preporučena za ispitivanje koncentracije botulinus toksina.

PREPARACIJE REPREZENTANTI ORGANSKIH SISTEMA

Do sada je autor uspio izolirati organe skoro svih organskih sistema koji u sebi imaju mišićnu komponentu. Izolirani su organi sa pripadajućim nervima iz digestivnog, urinarnog, reproduktivnog, kardiovaskularnog, respiratornog i lokomotornog sistema (tab. 2). Pojedine preparacije mogu poslužiti za ispitivanje sistema koji u sebi nemaju

mišićnu komponentu. Mišićna reakcija u tom slučaju služi samo kao indikator zbivanja u sistemu koji nema mišićnu komponentu. Npr., nervni sistem se može ispitivati pomoću izoliranih inerviranih organa; mišićni organi su indikator, a ispituju se zbivanja u dijelu perifernog



Slika 4.

Kontrakcije rektuma (a i b) i duktus deferensa štakora (c) izazvane submaksimalnom stimulacijom pripadajućih vegetativnih nerava.

- a) Kontrolne kontrakcije 10 Hz i 40 Hz.
- b) Hexametonium 50 γ /ml. Smanjena je kontrakcija, a ne relaksacija.
- c) Kod Hex hexametonium 1 mg/ml, kod Gu guanetidin 40 γ /ml. Dvotačka je ispiranje.

nervnog sistema. Preparacija za ispitivanje permeabiliteta³³ služi za ispitivanje prolaza supstanci kroz crijevo sa mukozne na seroznu stranu. U istoj posudi se nalazi indikator — organ na kojeg djeluje aktivna supstanca koja prolazi transmuralno. Organ za ispitivanje prolaza i organ indikator su često izolirani sa pripadajućim nervom. Ovakvi organi indikatori su mnogo osjetljiviji na male količine aktivnih supstanci nego organi izolirani bez nerava. Tako, npr., duktus deferens sa hipogastričkim nervom reagira mnogo jače na dodati adrenalin, nego bez istovremene stimulacije nerva³⁴. U tab. 2 je navedena jedna preparacija dva puta u raznim sistemima. To znači da ona može poslužiti za analizu drugog sistema. Ezofagus, npr., je naveden u mišićnom sistemu i može poslužiti kao odličan model-sistem za reakcije poprečno-prugaste muskulature¹⁰.

Tabela 2.

IZOLIRANI ORGANI SA NERVIMA KAO SREDSTVO ZA ISPITIVANJE
PRIPADAJUĆEG ORGANSKOG SISTEMA

Sistem	Organ	Nerv	Vrsta nerva	Životinja
Digestivni	ezofagus	vagus	čisti holinergični	sve laborat.
	ileum	periarter.	miješani vegetat.	zamorac
	kolon	periarter.	pretežno adrenergični	zamorac, kunić
	rektum	pelvički	pretežno holinergični	zamorac, kunić štakor, miš
Urinarni	mokr. mje- hur	pelvički	čisti holinergični	štakor, miš
Respira- torni	trahea	vagus	čisti holinergični	golub
	pluća	vagus	pretežno holinergični	žaba
Genitalni	dukt. defer.	hipogastr.	čisti adrenergični	sve laborat.
	corp. kaver.	erigens	pretežno holinergični	kunić
	corp. kaver.	hipogastr.	pretežno adrenergični	kunić, zamorac štakor
Kardio- vaskul.	atrij	akcelerans	čisti adrenergični	kunić
	atrij	vagus	pretežno holinergični	zamorac
	srce	akcelerans	čisti adrenergični	kunić
	srce	vagus	pretežno holinergični	zamorac
Mišićni — poprečno prug.	ezofagus	vagus	čisti holinergični	sve laborat.
Membrane	ileum	periarter.	miješani vegetat.	sve laborat.

UTICAJ SUPSTANCI NA EFEKTE STIMULACIJE NERAVA

1. Efekt prethodnog tretiranja antisympatikotonicima i antiparasympatikotonicima

Davanje reserpina (3 dana 1—2 mg/kg) smanjuje efekt stimulacije adrenergičnih nerava na srcu kunića², duktus deferensa zamorca⁷ i drugih adrenergičnih nerava. Prethodno tretiranje 6-hidroksidopaminom (30 mg/kg i. v.) smanjuje adrenergičnu komponentu efekta stimulacije periarterielnih nerava kolona miša³⁵.

Davanje hemiholinijuma (50—300 ug/ml) na mokraćnom mjehuru štakora smanjuje efekt stimulacije u roku od 3 sata¹⁷. Prethodno tretiranje miša sa $4 \times LD_{50}$ botulinus toksina dovodi do veoma brzog iscrpljivanja efekta stimulacije vagusa na ezofagusu⁹.

2. Aktivitet simpatikolitika i parasimpatikolitika

Neki simpatikolitici povećavaju, a drugi smanjuju efekte stimulacije holinergičnih, odnosno adrenergičnih nerava. Alfa-simpatikolitik, fenoksibenzamin povećava efekt stimulacije akceleransa na izoliranim atrijima kunića² i efekta stimulacije hipogastrikusa na duktus deferensu zamorca i kunića⁷. Beta-simpatikolitici dihaloroizoproterenol i propranolol smanjuju efekte stimulacije adrenergičnih nerava. Guanetidin smanjuje efekt stimulacije obje vrste vegetativnih nerava.

Atropin smanjuje efekt stimulacije holinergičnih i adrenergičnih nerava. Djeluje mnogo jače na neke holinergične nego na adrenergične nerve. Djelovanje atropina na holinergične nerve je mnogo slabije nego se očekuje s obzirom na jak antagonistički efekt prema acetilholinu dodatom izvana³⁶. Na izoliranom rektumu kunića i zamorca sa pripadajućim holinergičnim pelvičkim nervom atropin može dovesti do blokade efekta stimulacije nerva. Na ostalim preparacijama se vidi djelomična, a nekad potpuna rezistencija prema atropinu, mada se radi o stimulaciji holinergičnih nerava, kao npr. na mokraćnom mjehuru, plućima, traheji, rektumu štakora i miša, korpus kavernozumu, ezofagusu itd. Rezistencija prema atropinu je nađena kod psa, mačke i kunića^{37, 38, 39, 40, 41, 42}. Ovo opažanje u vezi sa atropinom navelo je mnoge da smatraju nerve parasimpatikusa neholinergičnim. Eksperimenti sa antiholinesterazama i drugim antiholinergičnim supstancama su često relevantniji u karakterizaciji nerva nego osjetljivost na atropin³⁶.

Upotrebljavajući pB, novu statističku konstantu³¹, bilo je moguće uporediti efekte specifičnih antiholinergičnih spojeva na kontrolnim organima i organima prethodno tretiranim antiholinesterazama. Pretpostavljalo se da tretiranje antiholinesterazama mijenja osjetljivost izoliranih organa prema atropinu. Nije uspjelo, međutim, u eksperimentu pokazati znatnu promjenu osjetljivosti prema atropinu⁴³. Osjetljivost prema atropinu mijenja se nešto samo u prvih nekoliko minuta, i to na organima sa glatkim mišićima. Na poprečnoprugastoj muskulaturi ezofagusa poslije antiholinesteraza atropin povećava efekt stimulacije nerava.

Kurare i sukcinilholin smanjuju efekt stimulacije holinergičnih nerava na ezofagusu kunića, zamorca, štakora i miša. Mnogo je djelotvorniji tubokurarin od sukcinilholina. Pomenute preparacije mogu poslužiti za analizu kurariformnih supstanci¹⁰.

3. Efekt parasimpatikomimetika i simpatikomimetika

Parasimpatikomimetici povećavaju efekt stimulacije obje vrste nerava, dok simpatikomimetici povećavaju efekt stimulacije pretežno adrenergičnih nerava, a, po pravilu, smanjuju efekte holinergične stimulacije. Uticaj antiholinesteraza na efekte stimulacije nerava, i to

nižom frekvencom stimulusa je, po pravilu, povećanje reakcije na obje vrste nerava. Efekti nervne stimulacije višom frekvencom (30 Hz i više) mogu biti smanjenje reakcije, kao npr. na ezofagusu prethodno tretiranom antiholinesterazama. Efekt stimulacije adrenergičnih nerava povećava se pod uticajem antiholinesteraze. Ovaj pojačavajući efekt antiholinesteraze, naročito u prisustvu atropina, inverzan efekt stimulacije simpatičkih vlakana nakon resorpina, te neke holinergične strukture u simpatičkom sistemu naveli su Burna da postavi hipotezu da acetilholin igra ulogu u oslobađanju noradrenalina iz simpatičkih postganglionarnih vlakana. Slično djelovanje holinergičnih vlakana imamo u nadbubrežnoj žlijezdi^{44, 5}.

Glavni efekt antiholinesteraza na tetaničke kontrakcije poprečno-prugastih mišića je depresija, bilo zbog depolarizacionog bloka uzrokovanog akumulacijom acetilholina⁴⁵, bilo zbog većeg broja i veličine oslobođenih kvanta acetilholina i mogućnosti acetilholina u toj situaciji da aktivira »inhibitorne centre«⁴⁶. Simpatikotonici, kao kokain, dovode do povećanja efekta stimulacije adrenergičnih nerava ukoliko ne prevlada u posudi za izolirane organe lokalanestetski efekt kokaina. Pri likom karakterizacije izoliranih organa sa adrenergičnim nervima veoma često se upotrebljava kokain. Kokain povećava efekt stimulacije adrenergičnih nerava.

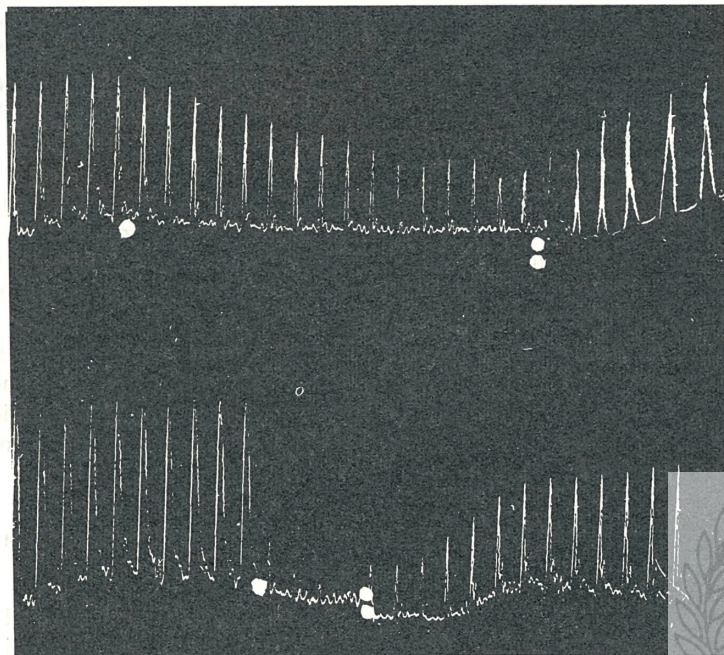
4. Ganglionstimulatori i blokatori na izoliranim inerviranim organima

Ganglionstimulatori povećavaju efekt stimulacije holinergičnih⁴⁷ i adrenergičnih nerava. Efekti stimulacije su prilično rezistentni prema ganglionblokatorima, posebno efekti stimulacije adrenergičnih nerava (sl. 4 c). Izuzetak je rektum štakora, miša i zamorca čija je holinergička komponenta osjetljiva prema heksametonijumu. Adrenergička komponenta, stimulacija, periarterijalnih nerava nije reagovala na heksametonijum, kako se to vidi na sl. 4 a i 4 b. U većim koncentracijama ganglionblokatori dovode do bloka efekta stimulacije, ali se tu radi o nespecifičnom efektu heksametonijuma. Na sl. 5. se vidi efekt infundiranog heksametoniuma 0,5 gama/ml na rektumu miša. Vidi se da je preparacija osjetljiva na heksametonijum i da brzo dolazi do bloka efekta stimulacije raznih stepeni. Nikotin redovito dovodi prvo do povećanja, a zatim smanjenja efekta stimulacije obje vrste nerava. Ovisno je od koncentracije i vremena djelovanja to koja komponenta će se bolje vidjeti.

5. Uticaj iona, autakoida, hormona, antivitamina, hemoterapeutika, toksina i dr. supstanci

Ioni kalija dovode do jake kontrakcije mišića i bloka efekta stimulacije. Smanjivanjem koncentracije K^+ veoma se brzo vraća efekt stimulacije nerava na kontrolne vrijednosti. Kalcijum također dovodi do povećanja tonusa, ali za razliku od K^+ ujedno i povećava efekt stimulacije. Ioni kalcija ne dovode do bloka nerava⁴⁷. Ca^{++} na izoliranim plućima prvo dovode do povećanja tonusa, a iza toga do relaksa-

cije. Relaksacija uslijedi nakon stimulacije nerva, pa se pretpostavlja da je pod uticajem povećane količine Ca^{++} posebno povećan efekt adrenergične komponente nervne stimulacije⁴⁸.

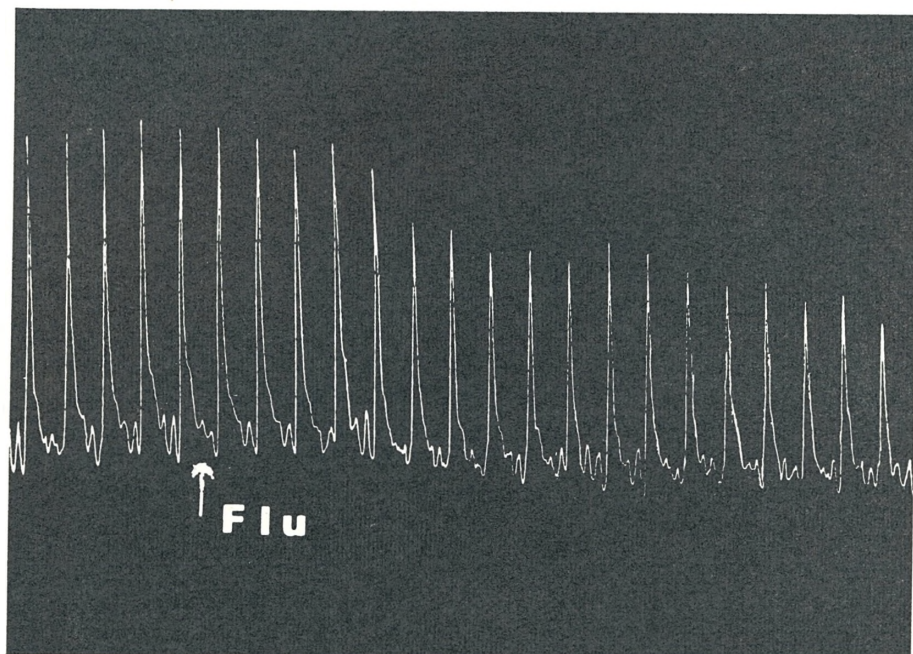


Slika 5.

Kontrakcije izolovanog rektuma miša izazvane submaksimalnom električnom stimulacijom nerava (20 Hz, 1 msec. svake minute, 1 sek.). Gore — infuzija heksametonijuma 0,5 γ /min/ml. Dolje — 50 γ /ml. heksametonijum.

Na mnogim organima ispitivan je aktivitet bradikina, 5-hidroksitriptamina i histamina. Efekti su različiti. Bradikinin obično dovodi do povećanja efekta stimulacije obje vrste nerava. 5-HT djeluje izuzetno na plućima kao jaki relaksans²⁰, inače povećava efekt stimulacije obje vrste nerava. Histamin u mnogim slučajevima djeluje kao agonist acetilholina, ali na rektumu štakora i miša dovodi do relaksacije, efekta sličnog stimulaciji adrenergičnih nerava, odnosno dovodi do kontrakcije korpus kavernozuma slično noradrenalinu i stimulaciji adrenergičnih nerava¹².

Hormoni topivi u vodi djeluju na efekt stimulacije holinergičnih i adrenergičnih nerava na različit način, ali pretežno smanjuju efekt stimulacije nerava i djeluju spazmolitički. Pretežno djeluju spazmolitički hormoni kore nadbubrežne žlijezde⁴⁹. Na sl. 6 se vidi depresorni uticaj 9-alfa-hidroksikortizona na efekt stimulacije pelvičkog nerva na mokraćnom mjehuru. Organi reagiraju na holinergičnu inervaciju veoma slično kontrolnim organima ukoliko su uzeti od životinja prethodno tretiranih antivitaminima⁵⁰.



Slika 6.

Mikcione kontrakcije štakora izazvane submaksimalnom električnom stimulacijom nerva (20 Hz, 1 msek. svake minute, 2 sek.). Kod flu dodan je 9 α -fluorohidrookortizon 100 γ /ml.

Uticaj streptomicina, paraaminosalicilne kiseline i izoniacida ispitivan je na izoliranim inerviranim plućima. Ustanovljeno je da pomenuti tuberkulostatici smanjuju efekte stimulacije i dovode do relaksacije alveolarne muskulature⁵¹.

Uticaj etanola je na neke organe spastički, a na druge spazmolitički. Na mokraćnom mjehuru, plućima i krvnim žilama etanol djeluje spastički i povećava efekt stimulacije⁵². Spasmolitički etanol djeluje na ileum, duktus deferens i ezofagus⁵³ (Huković et al., 1967), odnosno smanjuje efekt stimulacije nerava. Od ostalih otrova treba spomenuti depresorni uticaj baritne prašine na plućnu reakciju⁵⁴, spastički i spazmolitički efekt raznih derivata fenola, toluola, nitrotoluola itd.⁵⁵.

Posebno se izolirani organi sa pripadajućim nervima upotrebljavaju u ispitivanju potencijalnih bojnih otrova. Organi otrovani bojnim otrovima reaguju u početku pojačano na nervnu stimulaciju, a kasnije dolazi do depresornog efekta i smanjenja funkcija. Na ovako otrovanim organima ispituju se supstance da se ustanovi njihova reaktivatorna sposobnost.

6. Efekti alergične reakcije na izolirane inervirane organe

Alergična reakcija pojačava efekt stimulacije holinergičnih i adrenergičnih nerava na glatkoj muskulaturi. Efekt nervne stimulacije na poprečnoprugastoj muskulaturi je smanjen u toku reakcije antigen—

antitijelo. Spomenuti efekti mogu se protumačiti povećanim oslobađanjem histamina i kombiniranim djelovanjem histamina sa transmitsorima vegetativnog nervnog sistema⁵⁶.

Numeričke vrijednosti

Uticaj raznih supstanci na efekt stimulacije nerava najčešće se izražava kvalitativno, tj. tvrdi se samo da dolazi do povećanja ili smanjenja reakcije. Postoji potreba da se uticaj određene koncentracije modifikatora nervne transmisije izrazi kvantitativno. U tom cilju izrađena je statistička konstanta pB_x^{31} . pB_{50} je negativni logaritam molarne koncentracije supstance koja dovodi do 50% smanjenja visine kontrakcije. Ova vrijednost je farmakološka karakteristika svake supstance, kao što su njene fizikalno-hemijske karakteristike, npr., topivost, apsorpcioni spektar itd. Neki primjeri pB_{50} mogu se vidjeti na tab. 3.

Tabela 3.

PROMJENA EFEKTA STIMULACIJE PRIPADAJUĆIH NERAVA POD UTICAJEM SPECIFIČNIH I NESPECIFIČNIH BLOKATORA NERVNOG SISTEMA i NJENA NUMERIČKA VRIJEDNOST pB_{50} *)

Supstanca	ORGAN IZOLIRAN SA PRIPADAJUĆIM NERVOM				
	Ezofagus	Trahea	Rektum	Mok. mjeh.	Duk. def.
Atropin	$3,87 \pm 0,5$	$4,00 \pm 0,4$	$9,11 \pm 0,3$	$3,79 \pm 0,1$	—
Heksametonium	$3,86 \pm 0,1$	$6,87 \pm 0,5$	$7,05 \pm 0,1$	—	—
Sukcinilholin	$6,19 \pm 0,1$	$5,94 \pm 0,1$	$3,52 \pm 0,4$	$3,93 \pm 0,3$	—
Prokain	$4,23 \pm 0,3$	$5,28 \pm 0,1$	$4,59 \pm 0,4$	$4,16 \pm 0,4$	—
Toksogonin	$2,77 \pm 0,1$	—	—	$2,80 \pm 0,1$	$3,63 \pm 0,1$
TMB-4	$3,46 \pm 0,1$	—	—	$2,11 \pm 0,1$	$3,07 \pm 0,2$
Pralidoksim	$2,51 \pm 0,3$	—	—	$1,76 \pm 0,3$	$1,21 \pm 0,2$

*) pB_{50} negativni logaritam molarne koncentracije blokatora, koji za 50% smanjuje izazvanu kontrolnu kontrakciju.

Svakoj supstanci u farmakološkoj analizi treba odrediti pB . Ova vrijednost može da bude mjera sporednog djelovanja lijekova. Predstoji veliki posao u evaluaciji medikamenata, jer treba naći numeričke vrijednosti, farmakološke konstante iz kojih će se moći uočiti farmakodinamska, odnosno toksična, sporedna svojstva.

Budući zadaci

Upotreba izoliranih inerviranih organa olakšava istraživanja u farmakologiji i ostalim eksperimentalnim medicinskim disciplinama. Jedan od glavnih zadataka u farmakologiji je analiza nosintetiziranih supstanci. Danas se supstance mnogo brže sintetiziraju nego farmakološki ispituju. Prema tome, farmakološka analiza mora biti ubrzana

i unaprijedena. Posebno je važno naći mogućnost da se ocijeni sporedni efekt medikamenata. Za ovu ocjenu postoji urgentna potreba u farmakologiji. Tehnika koja se danas upotrebljava je spora i relativno skupa. Najopasnije je to što postoji mogućnost da promakne važna supstanca, tj. da se neka supstanca u početnom dijelu analize neopravdano proglasi neinteresantnom i nevažnom.

Mislimo da će daljnjim usavršavanjem izoliranih organa sa pripadajućim nervima biti stvorena mogućnost za brže, sigurnije i jeftinije analize, a posebno u kritičnoj fazi akceptiranja ili odbacivanja novosintetiziranih supstanci. Pomenute preparacije će omogućiti također da se nađu numeričke vrijednosti farmakodinaskog, odnosno toksikološkog efekta pojedinih supstanci. Pronalaženje numeričkih vrijednosti svake supstance, kao i njihova sistematizacija po farmakodinamskom djelovanju omogućiće u farmakologiji novu orijentaciju u istraživanju novih lijekova.

ZAKLJUČAK

Izolirani su organi sa pripadajućim egstrinzičkim nervima iz 5 organskih sistema iz digestivnog, reproduktivnog, kardiovaskularnog, respiratornog i urinarnog sistema. Organi in vitro regularno reaguju na konstantne električne stimuluse nerava.

Zaključci izvedeni iz rezultata dobivenih na organima izoliranim sa pripadajućim nervima su relevantniji za organizam kao cjelinu nego oni na organima bez nerava. Organi izolirani sa nervima su veći dijelovi cjeline na kojima se vrše ispitivanja u jednostavnim uslovima.

Farmakološke konstante supstanci, kao što je koncentracija za 50% smanjenja ili povećanja efekta stimulacije, potrebne su za evaluaciju rezultata o djelovanju neke supstance na izolirane inervirane organe. Ove konstante treba unositi u kataloge skupa sa drugim fizikalno hemijskim konstantama.

U analizi svojstava izoliranih inerviranih organa upotrebljava se nekoliko desetina supstanci, među koje spadaju grupe supstanci kao što su antiadrenergici i antiholinergici, stimulatori adrenergičnog i holinergičnog sistema, simpato i parasimpatikomimetici i litici. Nakon što se utvrde svojstva preparacije, ispituju se novosintetizirane supstance.

Na ovim organima do sada je ispitivano približno 100 raznih supstanci. Rezultati većine radova su ukratko uneseni i objašnjeni. Veći broj rezultata odnosi se na potencirajući uticaj antiholinerazaza na obje vrste nerava, atropinsku rezistenciju, te uticaj antiparasympatikonika i antisympatikonika.

Na seriji izoliranih organa sa vanjskim nervima moći će se ubrzati analiza novosintetiziranih supstanci. Moći će se isto tako steći brži uvid u prirodne zakone i poboljšati tehnika u eksperimentalnoj medicini.

SEID HUKOVIĆ

DIE MODELL-SYSTEMEN IN DER EXPERIMENTALLER PHARMAKOLOGIE

ZUSAMMENFASSUNG

Es werden Organe mit zugehörigen egstrinsischen Nerven aus 5 Organsystemen: dem digestiven, reproduktiven, kardiovaskulären, respiratoren und urinären System, isoliert. Die Organe reagieren regulär in vitro auf konstante elektrische Stimuluse der Nerven. Organe mit isolierten Nerven sind grössere Teile eines Ganzen, an denen man unter einfachen Bedingungen, Forschungen durchführt. Nach dem man die Präparationen feststellt, werden an ihnen neusynthetisierte Substanzen untersucht. An diesen Organen sind bis jetzt schon annähernd 100 verschiedene Substanzen untersucht worden. Man wird an einer Serie isolierter Organe mit äusseren Nerven, die Analyse neusynthetisierter Substanzen beschleunigen können, sowie auch eine schnellere Einsicht in die Gesetze der Natur gewinnen und die Technik in der experimentellen Medizin verbessern.

LITERATURA

1. Ther L.: »Grundlagen der experimentellen Arzneimittelforschung«, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1965).
2. Huković S.: Brit. J. Pharmacol. 14, 372 (1959).
3. Huković S.: Brit. J. Pharmacol. 15, 117 (1960).
4. Huković S., Muscholl E.: Naunyn-Schmiedebergs' Arch. exp. Path. Pharmac. 244, 81 (1962).
5. Burn J. H. u. Huković S.: J. Physiol. 186, 33P (1966).
6. Huković S.: Brit. J. Pharmacol. 28, 273 (1966).
7. Huković S.: Brit. J. Pharmacol. 16, 188 (1961).
8. Schueler F. W.: »Chemobiodynamics and drug design«, McGraw-Hill Book Com., New York (1960).
9. Huković S. u. Stern P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmac. 254, 401 (1966).
10. Huković S.: Societas Pharmacologica Hungarica IV, Conferentia Hungarica pro therapia et investigatione in pharmacologia 503 (1967).
11. Huković S. u. Muscholl E.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 243, 348 (1962).
12. Huković S. et Bubić I.: Path. Biol. 15, 153 (1967).
13. Gillespie J. S. and Mackenna B. R.: J. Physiol. (Lond.) 147, 31P (1959).
14. Boyd H., Burnstock G., Campbell G., Jowett A., O'Shea J. a. Wood M.: Brit. J. Pharmacol. 20, 418 (1963).
15. Huković S. a. Smomogyi Gy.: Pharm. Research Comm. (u štampi, 1969).
16. Huković S. i Bubić I.: Naučno društvo SRBiH, »Radovi« 21, Odjelj. med. nauka, knj. 9, 127 (1963).
17. Huković S., Rand M. J. and Vanov S.: Brit. J. Pharmacol. 24, 178 (1965).
18. Huković S., Brankov K. and Igić R.: Jugoslav. physiol. pharmacol. acta 4, 129 (1968).
19. Huković S., Igić R. and Brkić S.: Jugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta 2—3, 119 (1965).

20. Huković S. und Stern P.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. exp. Path. 259, 210 (1968).
21. Malik K. U. i Huković S.: Medicinski vjesnik 3—4, 51 (1966).
22. Magnus cit. Ther L.: »Grundlagen der experimentellen Arzneimittelforschung«, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1965).
23. Gaddum J. H.: Brit. J. Pharmacol. 8, 321 (1953).
24. Tyrode M. V.: Arch. Inter. Pharmacodyn. 20, 205 (1910).
25. Krebs H. A. und Henseleit K.: Hoppe-Seylers Z. 210, 33 (1932).
26. Krebs H. A.: Biochim. Biophys. Acta 4, 249 (1950).
26. Krebs H. A.: Biochem. Biophys. Acta 4, 249 (1950).
27. McEwen I. M.: J. Physiol. (Lond.) 131, 678 (1956).
28. Locke cit. Ther L.: »Grundlagen der experimentellen Arzneimittelforschung«, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1965).
29. Burn J. H. a. Rand M. J.: J. Physiol. (Lond.) 150, 295 (1960).
30. Paton W. D. M.: Brit. J. Pharmacol. 11, 119 (1957).
31. Huković S.: Akademija nauka i umjetnosti BiH, »Radovi« 31, odjelj. med. nauka, knj. 12, 83 (1966).
32. Bross J.: Biometrics 8, 188 (1952).
33. Malik K. U. a. Huković S.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. exp. Path. 257, 42 (1967).
34. Huković S. a. Malik K. U.: Iugoslavica Physiologica et Pharmacologica Acta 1, 157 (1965).
35. Stern P. u. Huković S.: u pripremi za štampu.
36. Ambache N.: Pharmacol. Rev. 7, 467 (1955).
37. Langley J. N. a. Anderson H. K.: J. Physiol. (Lond.) 19, 71 (1895).
38. Henderson V. E. a. Roepke M. H.: J. Pharmacol. exp. Ther. 54, 408 (1935).
39. Edge N. D.: J. Physiol. (Lond.) 127, 54 (1955).
40. Ursillo R. C. a. Clark B. B.: J. Pharmacol. exp. Ther. 118, 338 (1956).
41. Ursillo R. C.: J. Pharmacol. exp. Ther. 131, 231 (1961).
42. Burnstock G. a. Campbell G.: J. exp. Biol. 40, 421 (1963).
43. Huković S., Brankov K., Miletić S.: Iugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta, 4, 73 (1968).
44. Burn J. H. a. Rand M. J.: Nature 184, 163 (1959).
45. Blaber L. C. and Bowman W. C.: Brit. J. Pharmacol. 20, 326 (1963).
46. Huković S., Igić R., Miletić S.: Iugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta 3, 295 (1967).
46. Huković S. i Bubić I.: Acta Medica Iugoslavica 17, 279 (1963).
48. Huković S. and Jordanov T.: Iugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta 3, 299 (1967).
49. Huković S. i Sarajlić E.: Folia Medica Facultatis Medicine Universitatis Saraeviensis 3, 203 (1968).
50. Huković S., Igić R. and Bašagić E.: Folia Medica Facultatis Medicinae Universitatis Saraeviensis 3, 257 (1968).
51. Serdarević H. and Huković S.: Folia Medica Facultatis medicinae Universitatis Saraeviensis 2, 65 (1967).
52. Huković S. i Rustembegović F.: Medicinski zbornik 5, 21 (1967).
53. Huković S., Malik K. U., Smajkić A.: Alcoholism 3, 1 (1967).
54. Huković S., Mikšić J.: Medicinski vjesnik 1—2, 55 (1967).
55. Huković S. and Stanković D.: Folia Medica Facultatis medicinae Universitatis Saraeviensis, 1969 (u štampi).
56. Huković S. and Stern P.: Folia Medica Facultatis medicinae Universitatis Saraeviensis 2, 73 (1967).