

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

R A D O V I

KNJIGA XL

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 15.



Urednik

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

SARAJEVO
1970

S. HUKOVIĆ, M. BEGIĆ I M. RADIVOJEVIĆ

**IZOLIRANI ŽELUDAC ŠTAKORA I MIŠA SA PRIPADAJUĆIM
NERVIMA KAO MODEL-SISTEM ZA ISPITIVANJE U FARMA-
KOLOGIJI***

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 23. I 1970. g.)

U V O D

Za ispitivanje farmakoloških svojstava pojedinih supstanci, a posebno onih koje djeluju na glatku muskulaturu probavnog trakta, najčešće se upotrebljava izolirani komadić ileuma. Mnogo rjeđe se upotrebljavaju drugi dijelovi gastrointestinalnog sistema (GIS), a veoma rijetko izolirani dijelovi sa pripadajućim autonomnim nervima. Upotreba organa izoliranih skupa sa pripadajućim nervima znatno unapređuje mogućnosti istraživanja i iskaza na osnovu eksperimenta (Huković, 1967). Dosada su opisivani rezultati sa model-sistemima, izoliranim organima sa pripadajućim nervima iz GIS-a kao izolirani rektum zamorca sa nervom (Boyd et al., 1963), izolirani rektum štakora i miša (Huković and Somogyi, 1969), izolirana crijeva sa transmuralnom stimulacijom (Paton, 1957) i izolirani ezofagus sa vagusnim nervom raznih životinja (Huković und Stern, 1968).

Izolirani želudac raznih eksperimentalnih životinja sa pripadajućim vanjskim i unutrašnjim nervima dosada je bio upotrebljavan za farmakološku analizu raznih spojeva od strane Patona i Vanea (1963). Registrovana je promjena volumena i pritiska unutar želuca pod uticajem električne stimulacije nerava i raznih supstanci. U ovom radu će biti opisana preparacija izoliranog želuca štakora i miša, koja omogućava analizu na osnovu simultane aplikacije supstanci i električne stimulacije unutrašnjih i vanjskih nerava i kontrakcija longitudinalne glatke muskulature želuca. Analiziraće se uticaj direktnih i indirektnih spastika, odnosno spazmolitika, kao npr. papaverina, morfina, aminofilina, benaktizina, barijuma, acetilholina i fizostigmina.

* Izrada rada je finansirana od strane Saveznog fonda za finansiranje naučnih delatnosti.

METODA

Za eksperimente su uzimani želuci štakora prosječne težine 200 g i miševa 25 g prosječne težine oba pola. Životinje se ošamute udarcem u glavu i dekapitiraju. Reže se toraks parasternalno, obostrano i odstrane se pluća i srce. Nađe se ezofagus i otpreparira kroz dijafragmu do kardije. Rr. oesophagei n. vagi otprepariraju se od jednjaka i zavežu. Prepariraju se nervi do rr. gastrici anteriores n. vagi. Pošto su nervi kod miša jako nježni, moguće je zavezati čitav ezofagus i uvlačiti ga u elektrodu kao pojačanje nježnim nervima. U nekim eksperimentima odljušti se skupa sa nervima adventicija ezofagusa i ona se uvlači u elektrodu. Organ se suspendira u posudu za izolirane organe, volumena 40 ml, u otopinu Tyrodea zagrijanu na $33^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ i oksigeniziranu karbogenom. Fundus želuca se zaveže za frontalnu pisaljku. Povećanje na pisaljki je 5 puta, a opterećenje 1 g.

Elektroda za stimulaciju vanjskih nerava je platinski prsten dijametra 1,5 mm, udaljen od drugog istog prstena za 5 mm (Burn and Rand, 1960). Jedna elektroda za transmuralnu stimulaciju je zatupljena platinska žica, koja se uvodi sa pilorične strane. Ova elektroda je utaljena u stakleni štap, koji ujedno služi za fiksaciju organa. Druga platinska elektroda se nalazi u otopini u posudi za izolirane organe. Električni stimulusi su sljedećih parametara: 10 V, 16 Hz, 2 msek, ponavljaju se svakih 2 minuta u trajanju od 10 sek.

Upotrijebljene su sljedeće supstance, acetilholin, hidrohlorid, papaverin hlorid, morfin hlorid, aminofilin »Pliva«, barijum hlorid i fizostigmin salicilat. Pošto se registruju 3—4 kontrolne kontrakcije, aplicira se ispitivana supstanca i registruju 3—4 kontrakcije. Nakon simultanog električnog nadražaja i aplikacije supstanci ispira se posuda za izolirane organe i registruje efekt nakon ispiranja.

REZULTATI

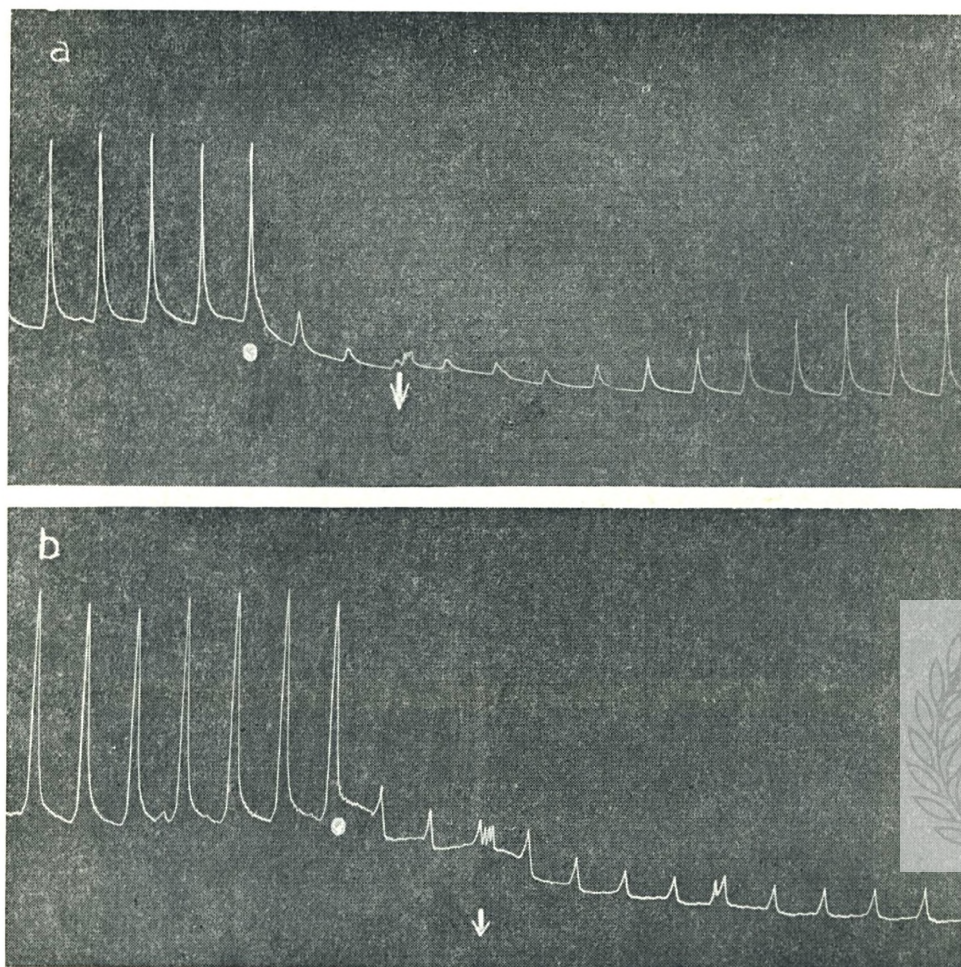
1. Efekt električne stimulacije

Konstantni stimulusi vanjskih i unutrašnjih nerava izazivaju ravnomjerne kontrakcije longitudinalne muskulature izoliranog želuca štakora i miša.

2. Efekt simultanog davanja supstanci i električnih simulusa

a. Efekt spasmolitika

Papaverin u kontrakciji 10^{-5} M smanjuje izazvane kontrakcije izoliranog želuca štakora do potpunog bloka. Osim smanjenja kontrakcija, može se registrovati spuštanje bazalne linije, tj. smanjenje tonusa. Tonus koji je smanjen nakon dodavanja papaverina sporije se vraća prema kontrolnim vrijednostima nakon ispiranja nego što se normalizira visina izazvanih kontrakcija (sl. 1a).



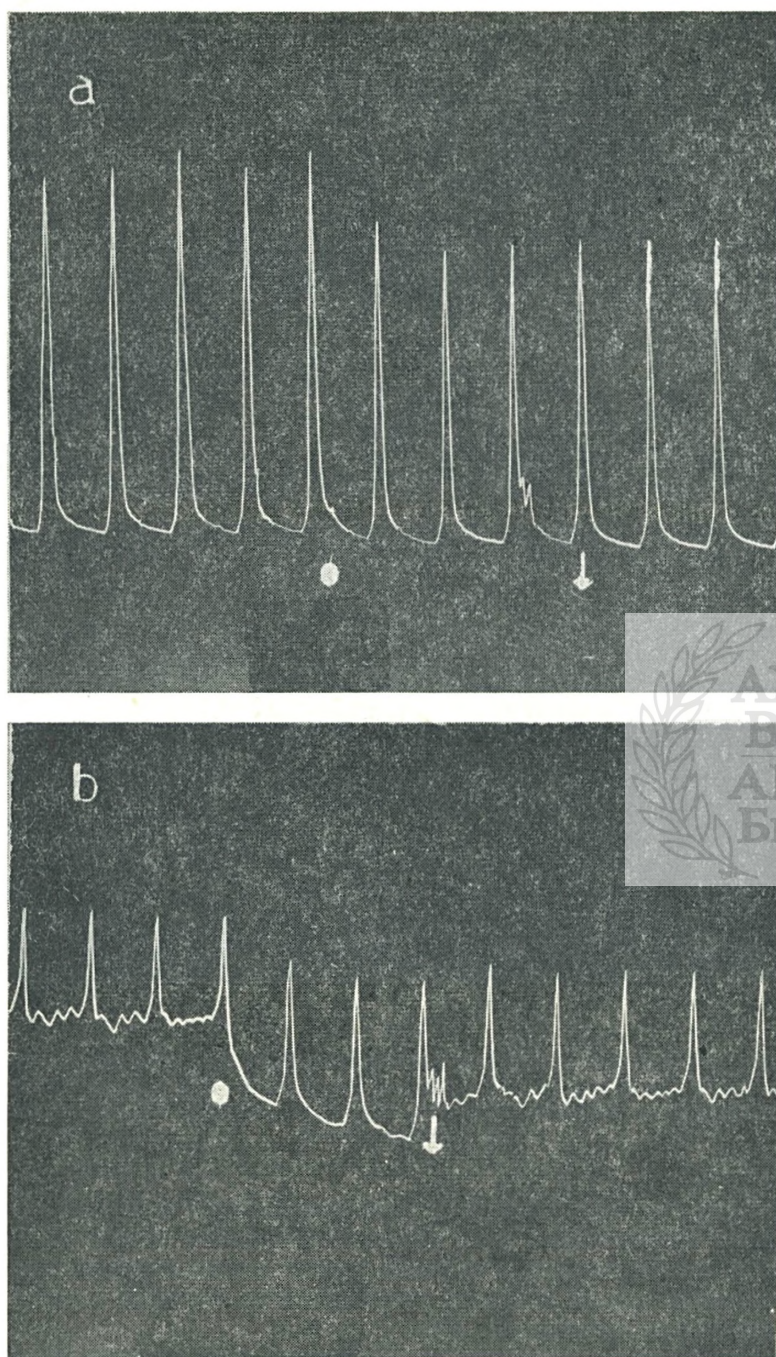
Slika 1.

Registracija kontrakcija izoliranog želuca izazvanih električnom stimulacijom n. vagusa (10 V, 16 Hz, 2 m sek, svake 2 min. po 10 sek.). Kod tačke je injicirana supstanca, a strelica označava ispiranje posude: a) Papaverin 10^{-5} M b) Morfin 10^{-5} M.

Morfin u koncentraciji 10^{-5} M smanjuje efekt stimulacije i visinu izazvanih kontrakcija. Osim jakog blokirajućeg efekta na izazvane kontrakcije, morfin izaziva smanjenje tonusa glatke muskulature želuca. Nakon ispiranja veoma sporo se vraća efekt stimulacije i tonus prema kontrolnim vrijednostima (sl. 1b).

Benaktizin i atropin u koncentraciji 5×10^{-7} M blokiraju efekt električne stimulacije nerava. Nakon ispiranja efekt stimulacije i tonus se vraćaju prema kontrolnim vrijednostima u roku od 20–30 min (sl. 2 a, b).

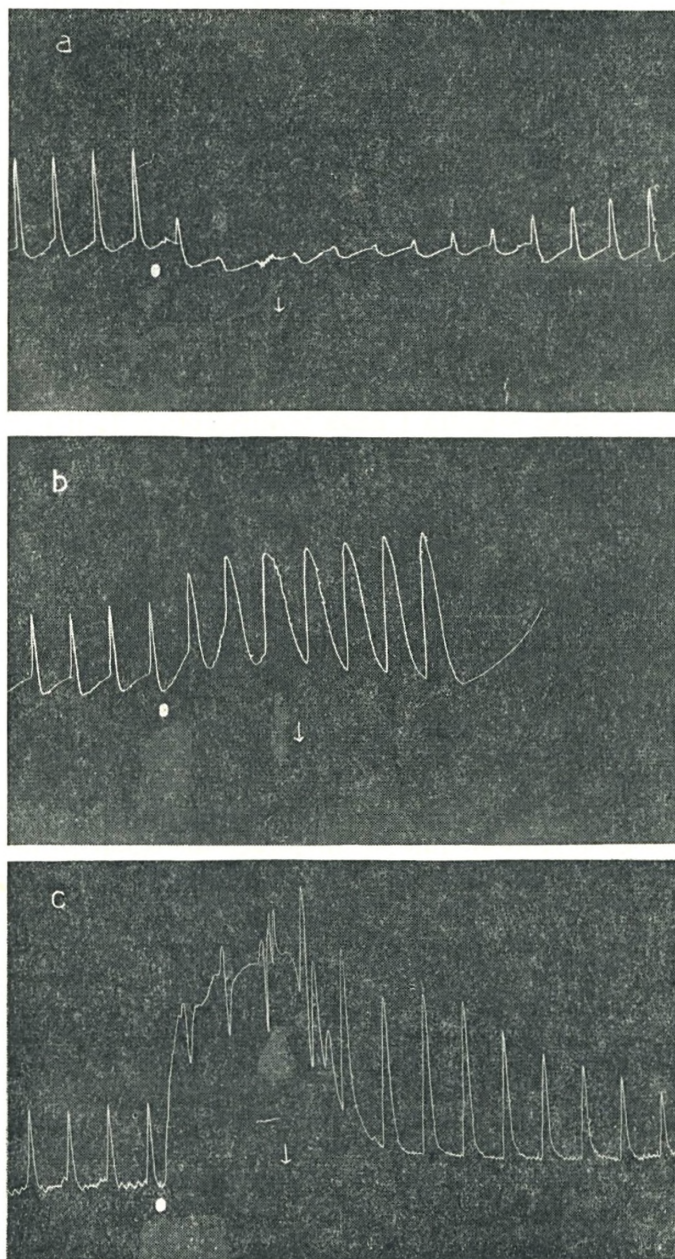
Aminofilin u koncentraciji 10^{-5} M izaziva smanjenje izazvanih kontrakcija. U koncentraciji 10^{-4} M, osim djelovanja na kontrakcije, do-



Slika 2.

Registracija kontrakcija izoliranog želuca izazvanih električnom stimulacijom n. vagusa (10 V, 10 Hz, 2 msec. svake 2 min po 10 sek.). Kod tačke je injicirana supstanca a kod strelice je ispiranje posude: a) Aminofilin 10^{-4} M, b) Aminofilin 10^{-4} M.

vodi do spuštanja bazalne linije, tj. do smanjenja tonusa (sl. 3a). Nakon ispiranja efekt stimulacije se postepeno vraća prema kontrolnim vrijednostima.



Slika 3.

Registracija kontrakcija izoliranog želuca izazvanih električnom stimulacijom n. vagusa (10 V, 16 Hz, 2 msec, svake 2 min. po 10 sek.). Kod tačke je injicirana supstanca a strelica označava ispiranje posude: a) Benaktizin 5×10^{-7} M, b) Fizostigmin 10^{-6} M i c) Barium klorid 10^{-3} M.

b. Efekt spastika

Acetilholin u koncentraciji 10^{-7} M izaziva povećanje kontrakcije i tonusa. Nakon ispiranja efekt stimulacije vrlo brzo dobiva kontrolne vrijednosti. Fizostigmin u koncentraciji 10^{-6} M povećava efekt stimulacije nerava i dovodi do povećanja tonusa (sl. 3b). Nakon ispiranja efekt stimulacije se veoma sporo vraća kontrolnim vrijednostima.

Barijum hlorid, ovisno od koncentracije, izaziva povećanje efekta stimulacije i tonusa. U koncentracijama 10^{-5} M izaziva povećanje kontrakcija. U koncentracijama 10^{-3} M dovodi do jakog povećanja tonusa i inverzne reakcije na stimulaciju nerava. Stimulacija nerava je u ovom slučaju izazvala dvofaznu reakciju: prvo kontrakciju, iza koje uslijedi relaksacija. Nakon ispiranja tonus i efekt stimulacije se relativno brzo vraćaju prema kontrolnim vrijednostima (sl. 3c).

DISKUSIJA

Izolirani želudac štakora i miša upotrijebljen je u ovom radu da se analizira simultano djelovanje stimulacije nerava, spasmolitika i spastika. Izolirani organ se ravnomjerno kontrahira pod uticajem konstantnih električnih stimulusa. Direktni spastici, kao npr. barijum ioni, acetilholin i dr., izazivaju, ovisno o dozi, povećanje kontrakcija i tonusa. Ukoliko je kontrakcija veća, tim je veći efekt na tonus. Slično djelovanje imaju indirektni spastici, kao npr. fizostigmin; on, međutim, jače djeluje na kontrakcije. Indirektni i direktni spasmolitici dovode do smanjenja izazvanih kontrakcija i tonusa. Posebno je jako spasmolitički djelovao morfin.

Izolirani želudac sa nervima iskorišćavan je ranije za analizu djelovanja spastika i spazmolitika. Registrovana je promjena volumena i pritiska pod uticajem nervne stimulacije (Paton and Vane, 1963). U ovom radu je registracija jednostavnija i konstantnija, tj. prilikom upotrebe kontrakcije longitudinalne muskulature za registraciju. Efekti koji su registrovani pod uticajem stimulacije vanjskih nerava ukazuju na veliki značaj vagalnih nerava u regulaciji tonusa želuca. Postoji mišljenje da vagus samo modulira funkciju želuca, a da su tonus i kontrakcija glatkih mišića pretežno pod uticajem intrinzičkog plexusa. Unutar zida želuca mogući su dugi refleksi koji povezuju razne segmente želuca, a unutar čitavog gastrointestinalnog trakta postoje dugi refleksi koji povezuju razne segmente alimentarnog trakta (Murray, 1967).

Buelbring et al. (1958) mogla je pokazati da refleks za promjene tonusa polazi iz mukoze, gdje su smješteni presoreceptori i hemoreceptori. Ovo je pokazano na crijevu zamorca. Pretpostavlja se da sličan refleks postoji u želucu. Postoji više miliona ganglijskih stanica u zidu želuca (Agostoni et al., 1957). Samo mali dio ganglionarnih stanica unutrašnjeg nervnog plexusa ima direktan kontakt sa vagusnim nervom. Te stanice djeluju kao međuneuroni, povezujući jedan lokalni refleks sa drugim (Paton and Vane, 1963). Kao što je navedeno, u ovom radu je konstatovan znatan uticaj vagusa na mehaničke funkcije želuca, pa se može tvrditi da vagus ima mnogo jači uticaj nego da modulira refleksne motorne promjene u želucu izazivane funkcijom unutrašnjih nerava.

Nervi stimulirani u ovom eksperimentu su miješani holinergični pre- i postganglionarni i adrenergični postganglionarni. Pretežno su holinergični nervi. Od izvjesnog kliničnog značaja može biti veoma intenzivno djelovanje morfina koje dovodi do smanjenja spazma i izazvanih kontrakcija. Upoređujući razna spasmolitička sredstva, morfin je djelovao najjače.

ZAKLJUČAK

Konstantna električna stimulacija vanjskih i unutrašnjih nerava izoliranih želudaca štakora i miša izaziva ravnomjerne kontrakcije longitudinalne glatke muskulature.

Neurotropni i muskulotropni spastici i spasmolitici modificiraju efekte stimulacije nerava i tonus muskulature želuca. Acetilholin, ioni barijuma, fizostigmin povećavaju tonus i izazvane kontrakcije. Morfijum, papaverin, aminofilin, benaktizin i atropin smanjuju izazvane kontrakcije i tonus mišića.

Posebno je registrovan intenzivan blokirajući i spasmolitički efekt morfijuma.

U regulaciji motornih funkcija želuca vagalni nervi imaju mnogo jači uticaj nego što se pretpostavljalo, tj. kontrolišu tonus i kontrakcije glatke muskulature, a ne samo da je moduliraju.

S. HUKOVIĆ, M. BEGIĆ AND M. RADIVOJEVIĆ

ISOLATED INNERVATED STOMACH OF RATS AND MICE AS A MODEL-SYSTEM FOR PHARMACOLOGICAL RESEARCH

SUMMARY

The constant electrical stimulation of extrinsic and intrinsic nerves of isolated rats and mice stomach produced the regular contractions of longitudinal smooth muscle. Neurotropic and muscletropic spastics and spasmolitics modified the effect of nerve stimulations and tonus of the smooth muscle. Acetylcholine, Barium, Physostigmine increased tonus and induced contractions. Morphine, Papaverine, Aminophyllin, Benactisine and Atropine decreased the contractions and tonus of stomach. The vagale nerves control tonus and contractions of stomach muscle more apparent than it was supposed.

LITERATURA

- Agostoni E., Chinnock J. E., Daly M. de Burgh and Murray J. G.: *J. Physiol.* 135, 182 (1957).
Boyd H., Burnstock G., Campbell G., Jowett A., O'Shea J. and Wood M.: *Brit. J. Pharmacol.* 20, 418 (1963).
Buelbring E., Lin R. C. Y. and Schofield G.: *Quart. J. exp. Physiol.* 43, 26 (1958).
Burn J. H. and Rand M. J.: *J. Physiol.* 150, 295 (1960).

- Huković, S. and Somogyi Gy.: Pharmacol. Res. Commun. 1, 271 (1969).
- Huković S. und Stern P.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. exp. Path. 259, 200 (1968).
- Huković, S.: Radovi Akad. nauka i umjet. BiH 34, 67 (1967).
- Murray J. G.: The nerve supply of the stomach and its relationship to secretion, in Gastric secretion, 75, Pergamon Press, Oxford (1967).
- Paton W. D. M. and Vane J. R.: J. Physiol. 165, 10 (1963).
- Paton W. D. M.: Brit. J. Pharmacol. 11, 119 (1957).

