Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

RADOVI LXVII, knj. 21.

Huković, Seid

1982

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/items/2c9c963f-d255-49e6-b883-63b7b431f77b

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/

YU — ISSN 0350-0071
AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA LXVII

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 21.

ZBORNIK RADOVA

U SPOMEN AKADEMIKA

JOSIPA JEŽIĆA

ANU BiH АНУ БиХ

Urednik
SEID HUKOVIĆ,
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine

Tehnički urednik
ENES EKIĆ

SARAJEVO
1982.

N. MULABEGOVIĆ i S. HUKOVIĆ*

MODIFIKACIJA NEUROMIŠIĆNE TRANSMISIJE U ONTOGENEZI**

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 8. V 1978, na osnovu recenzija prof. dra H. Hadžiselimovića i prof. dra J. Gaona.)

APSTRAKT: Ispitivana je osjetljivost izoliranih organa životinja razne starosti prema nervnoj stimulaciji. Uzeta su tri organa, i to: želudac, ezofagus i mokraćni mjehur kunića. Kunići su bili stari 1, 6 i 16 dana. Cilj je bio da se ustanove kvalitetne razlike u reakciji na nervnu stimulaciju. Ustanovljeno je da organi kvalitativno slično reaguju, bez obzira na starost. Izuzetak je mokraćni mjehur, kod kojega se starenjem povećava rezistencija na atropin.

Neuromišićna transmisija vegetativnih organa pokazuje strukturalne i funkcionalne razlike u različitim periodima života. Razlika se vidi u oba dijela sistema: adrenergičkom i holinergičkom. Buckly i Heather (1968) i Kuromi i Hasegawa (1975) mogli su pokazati da kod starijih životinja neki mišići dobro reaguju na adrenomimetske, a slabije na holinomimetske lijekove.

Mišići mladih životinja su podjednako osjetljivi na adrenomimetske i holinomimetike. Osjetljivost mišića je dobar indikator djelovanja fizioloških transmitora neurotransmisije, pa u raznim periodima života postoji različita osjetljivost na stimulaciju nerava koji im pripadaju. Smanjenje osjetljivosti tokom razvoja prema efektu stimulacije holinergičkih nerava, odnosno prema holinomimeticima, može se spriječiti hemijskom simpatektomijom (Kuromi i Hagihara, 1976).

Navedena ispitivanja izvršena su na piladima, a poznato je da je vegetativni sistem ptica pojedinih izoliranih funkcionalno različit u odnosu na sisare (Huković et al., 1968). U vezi sa ispitivanjem neuromišićne transmisije izoliranih inerviranih organa (Huković, 1978; Mulabegović, 1978) ispitivana je transmisija kod tek rođenih sisara: kunića, štakora i miševa i ustanovljene su razlike efekta stimulacije vegetativnih nerava u odnosu na kasnije periode razvoja.

* Institut za farmakologiju i toksikologiju UMC-a, Sarajevo

** Republičkoj zajednici za naučnoistraživački rad zahvaljujemo na materijelnoj pomoći.

Cilj ovoga rada je bio da se ispita efekat stimulacije autonomnih holinergičkih nerava izoliranog želuca, mokraćnog mjehura i ezofagusa kunića u tri rana perioda života i da se pokažu razlike efekta stimulacije nerava u raznim dobima života. Na taj način će se možda dobiti povoljniji model-sistemi za ispitivanja djelotvornosti različitih lijekova, jer će nervni sistem biti manje kompleksan.

METOD

Iskorišteni su kunići raznih doba starosti (od jednog dana, do 6 dana i do 16 dana). Životinja se dekapitira, laparatomira i fiksira. Preparacija ezofagusa se vrši na taj način što se uzima rr. oesophagei nervi vagi sa 3 cm ezofagusa, i to distalnog dijela, slično preparaciji ezofagusa na manjim eksperimentalnim životinjama (Huković und Stern, 1966). Želudac kunića se preparira sa rr. gastrici nervi vagi, i to na taj način što se uzme abdominalni dio ezofagusa i uvlači u prstenastu elektrodu. Prethodno se presiječe mišićni dio ezofagusa, slično preparaciji i izolaciji želuca miša (Huković, 1973). Mokraćni mjehur kunića se preparira sa pelvičkim nervom (Huković et al., 1965). Ispreparirani organ se suspenduje u posdu za izolirane organe, u kojoj se nalazi 20 ml Tyrodove otopine zagrijane na 32°C i aerirane karbogenom.

Mišićni dio organa se veže za izotonični transducer sa opterećenjem od 1 g. Nervi se uvlače u bipolarnu platinsku elektrodu, koja se fiksira u blizini organa (Burn and Rand, 1960). Organi se stimulišu električnim stimulusom, čiji se parametri (jačina, frekvencija, dužina impulsa, interval, broj impulsa u jednoj minuti) mijenjaju. Kada se vrše eksperimenti sa dodavanjem supstanci (acetilholin-hidrohlorid, fiziostigmin sulfat i atropin-sulfat), onda je stimulus 10 mA, 1 mSec, 20 Hz svake minute u trajanju od 1 sec, izuzev kod želuca gdje je trend impulsa davan svake 2 minute u trajanju od 5 sec. Posuda se ispira najmanje svakih 10 minuta, ukoliko se ne ispira nakon dodavanja supstance. Efekt stimulacije se prosuđuje prema promjenama izazvanih kontrakcija i tonusa. Promjena kontrakcija može biti relativna i apsolutna. Apsolutna promjena visine se računa od kontrolne bazne linije, dok se relativna računa od promijenjene bazalne linije.

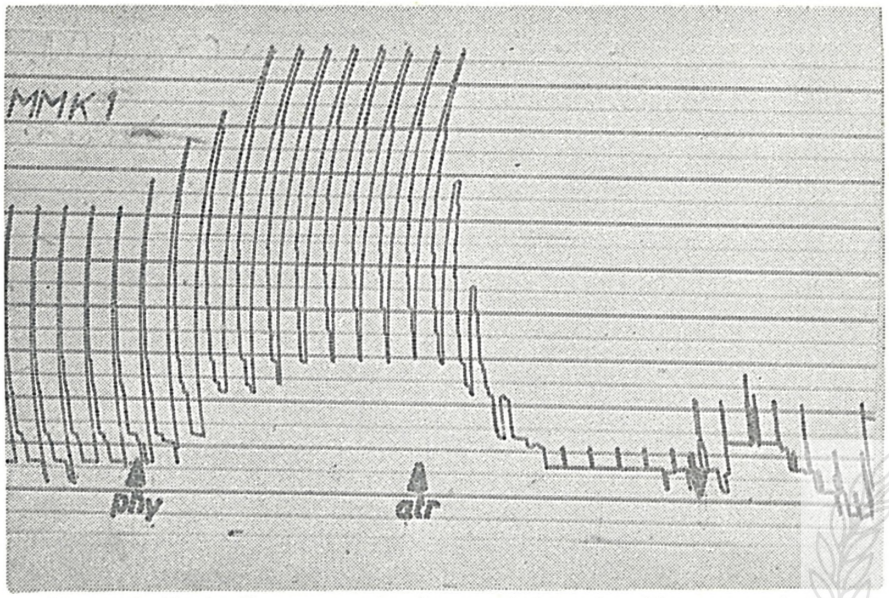
REZULTATI

Stimulacija holinergičkih nerava izaziva kontrakcije svih ispitivanih organa mladih. Visina izazvanih kontrakcija zavisi od jačine stimulusa. Konstantni električni stimulusi izazivaju nešto manje ravnomjerne kontrakcije. Organi mladih životinja bolje preživljavaju u uslovima in vitro nego organi starih životinja i manje su osjetljivi na hipoksiju.

1. 1. Efekat stimulacije holinergičkih nerava kunića starog do jednog dana — in vitro

Želudac tek rođenog kunića se kontrahira pod uticajem stimulacije nerava. Kontrakcije su sporije i nešto niže, a relaksacija je također spora. Ravnomjernost visine kontrakcija je nešto manja. Varijacija je oko 10%.

Mokraćni mjehur kunića starog do jednog dana stimulacijom pelvičkih nerava pokazuje snažnu mikcionu kontrakciju. Organ se dosta sporo relaksira, pa do potpune relaksacije prođe 30 sec. (sl. 1).



Sl. 1. — Kontrakcije izoliranog *mokraćnog mjehura* kunića starog jedan dan izazvane električnom stimulacijom pelvičkog nerva. Kod ▲1 dodan je fizostigmin 1 μg/ml. Kod znaka ▲2 dodan je atropin 0,1 μg/ml.. Kod znaka ▼3 ispiranje.

Ezofagus, stimulacijom ezofagealnih nerava, daje dvije kontrakcije: brzu kontrakciju i relaksaciju, nakon čega slijedi spora kontrakcija i relaksacija.

1. 2. Djelovanje fizostigmina i atropina na izazvane kontrakcije izoliranih organa kunića starog do jednog dana

Želudac, tretiran fizostigminom, kao posljedicu stimulacije nerava pokazuje povećane kontrakcije i tonus. Atropin blokira kontrakcije, smanjujući ujedno tonus želuca.

Mokraćni mjehur, tretiran fizostigminom (1 μg/ml), pokazuje povećan efekat stimulacije pelvičkih nerava i tonusa glatkog mišića. Nakon fizostigmina mikciona kontrakcija postaje dvofazna: prvo nastupi brza kontrakcija, iza koje dođe do brze relaksacije, a na nju se sada nadovezuje spora kontrakcija. Atropin, u dozi 0,1 μg/ml, smanjuje efekat stimulacije i povećani tonus. Mikcione kontrakcije gotovo potpuno iščezavaju, a tonus ostaje na nivou kontrolnog tonusa. Nakon ispiranja kontrakcije se veoma teško vraćaju prema kontrolnim.

Ezofagus, tretiran fizostigminom u koncentraciji 1 μg/ml, reaguje jako povećanom sporom kontrakcijom, dok je brza kontrakcija nešto sma-

njena. Spora kontrakcija je povećana, relaksacija je usporena. Atropin potpuno inhibira spore kontrakcije, dok su brze kontrakcije nepromijenjene.

2. 1. Efekat stimulacije holinergičkih nerava kunića starog do 6 dana — in vitro

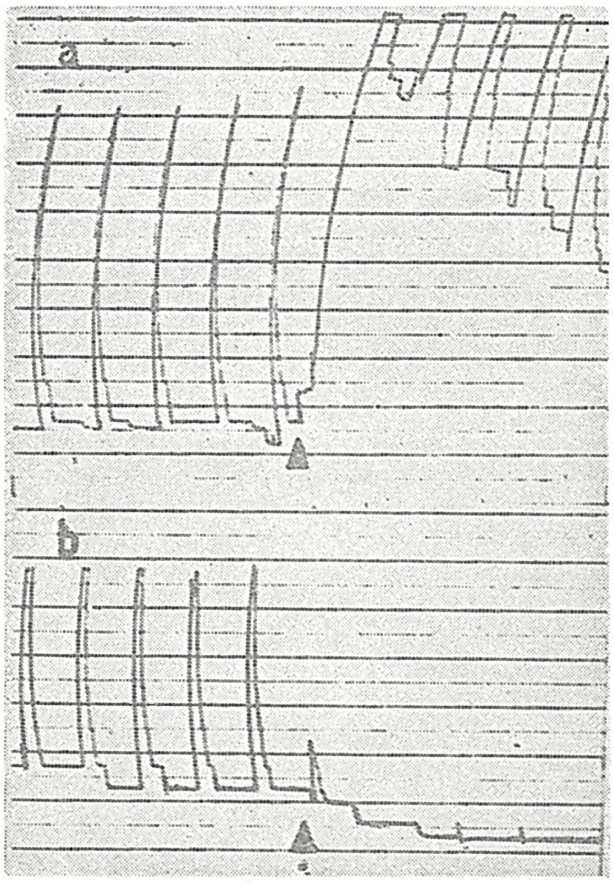
Želudac kao posljedicu stimulacije nerava daje kontrakciju. Kontrakcije su brže, ravnomjernije i mogu se ponavljati svake dvije minute. Postoje lagane spontane kontrakcije između dva stimulusa.

Mikcione kontrakcije mokraćnog mjehura se mogu izazvati stimulacijom pelvičkih nerava. Kontrakcije su ravnomjerne; do potpune relaksacije dolazi pola minute nakon stimulacije.

Ezofagus kao posljedicu stimulacije ima dvofaznu kontrakciju, i to: prvo, brzu, nakon čega slijedi brza relaksacija, a onda dolazi do spore kontrakcije, koja traje 10 sekundi. Kontrakcije su ravnomjerne.

2. 2. Djelovanje fizostigmina i atropina na izazvane kontrakcije izoliranih organa kunića starog do 6 dana

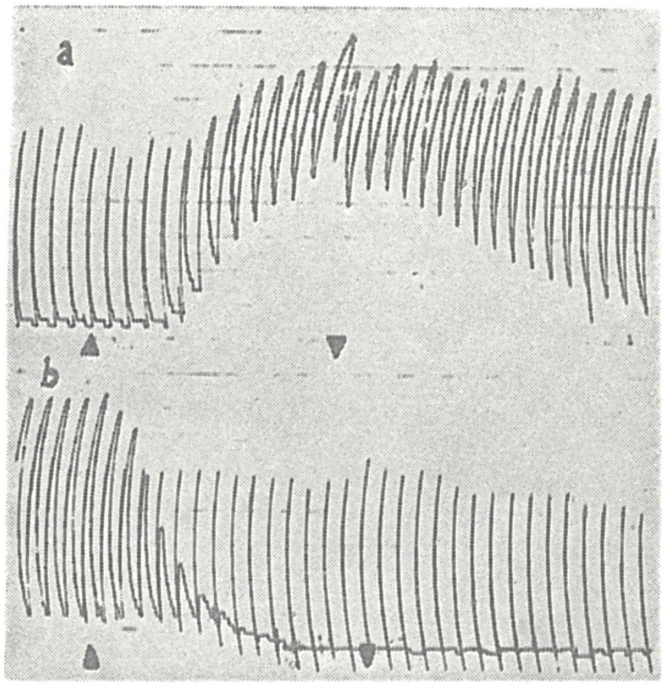
Želudac, tretiran fizostigminom u koncentraciji 1 μg/ml, ima povećane kontrakcije i tonus. U manjem broju slučajeva (1 trećina), poslije davanja



Sl. 2. — Kontrakcije izoliranog *želuca* kunića starog 6 dana izazvane električnom stimulacijom vagusa. Kod znaka ▲ dodana je supstanca. a) fizostigmin 1 μg/ml, b) atropin 0,1 μg/ml.

ANU BiH АНУ БиХ

fizostigmina mogu se primijetiti brze kontrakcije, kojih inače nije bilo bez prisustva fizostigmina. Atropin (0,1 μg/ml) smanjuje efekat stimulacije nerava do potpunog prestanka reakcije (sl. 2). U manjem broju slučajeva ostane jedan dio rezistentan na atropin. Rezistentni dio je na račun brzih kontrakcija.



Sl. 3. — Kontrakcije izoliranog *ezofagusa* kunića starog 6 dana izazvane električnom stimulacijom nerva. Kod znaka ▲ supstanca je dodana, a kod znaka ▼ posuda je isprana. a) fizostigmin 1 μg/ml, b) atropin 0,1 μg/ml. Primjetna je dvofazna kontrakcija (spora) koju potpuno inhibira atropin.

Mokraćni mjehur, tretiran fizostigminom (1 μg/ml), ima jako povećan tonus. Atropin (0,1 μg/ml) smanjuje mikcione kontrakcije i tonus. Nakon ispiranja efekat stimulacije se postepeno vraća ka kontrolnim vrijednostima.

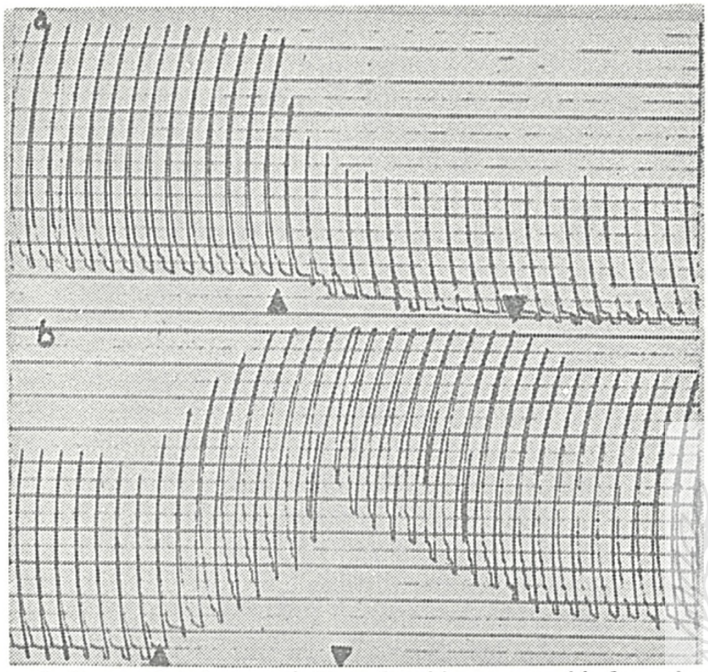
Ezofagus, tretiran fizostigminom u koncentraciji 1 μg/ml, povećava kontrakcije i tonus. Povećane su spore kontrakcije, a smanjena je brza kontrakcija. Nakon ispiranja efekat stimulacije se postepeno vraća na početne vrijednosti. Atropin (0,1 μg/ml) potpuno blokira efekat stimulacije na spore kontrakcije, dok brze kontrakcije ostaju nepromijenjene (sl. 3).

3. 1. Efekat stimulacije holinergičkih nerava kunića starog do 16 dana

Želudac, stimulisan preko nerava, ima ravnomjerne kontrakcije. Kontrakcije su spore, a relaksacija još sporija i traje gotovo 40 sekundi.

Mokraćni mjehur (sl. 4) kontrahuje se stimulacijom pelvičkih nerava. Kontrakcije su ravnomjerne, relaksacija nije brza i traje gotovo 30 sekundi.

Ezofagus, stimuliran preko nerava koji mu pripadaju, daje kontrakcije kod kojih se mogu razlikovati brza i spora faza. Spora faza je kraća nego kod ezofagusa mlađih životinja.



Sl. 4. — Kontrakcije *mokraćnog mjehura* kunića starog 16 dana izazvane električnom stimulacijom pelvičkog nerva. Kod znaka ▲ dodana je supstanca. Kod znaka ▼ posuda je isprana. a) atropin 0,1 μg/ml, b) fizostigmin 1 μg/ml. Primjetna je rezistencija na atropin.

3. 2. Djelovanje fizostigmina i atropina na izazvane kontrakcije izoliranih organa kunića starog do 16 dana

Želudac, tretiran fizostigminom u koncentraciji 1 μg/ml, reaguje snažnim povećanjem tonusa i izazvanih kontrakcija. Atropin (0,1 μg/ml) potpuno blokira efekat stimulacije nerava.

Mokraćni mjehur pod uticajem fizostigmina povećava tonus i izazvane mikcione kontrakcije. Nakon ispiranja tonus se postepeno vraća na kontrolne vrijednosti, a kontrakcije ostaju povećane. Atropin smanjuje izazvane kontrakcije do, po prilici, na polovicu (sl. 4). Pojavljuje se rezistencija na atropin.

Ezofagus, tretiran fizostigminom u koncentraciji 1 μg/ml, reaguje povećanjem tonusa i izazvanih kontrakcija. Atropin (0,1 μg/ml) smanjuje efekat stimulacije ezofagealnih nerava, i to sporu kontrakciju, dok je brza kontrakcija rezistentna na atropin.

DISKUSIJA

Izolirani želudac kunića in vitro se kontrahira pod uticajem stimulacije ezofagealnih nerava. Kontrakcije idu na račun fundusa. Ne postoji kvalitativna razlika s obzirom na tri starosne grupe, jer ni za jednu grupu nije potrebna veća energija da se izazovu kontrakcije. Jedina razlika je što postoji više spontanih kontrakcija kod želudaca uzetih od mlađih životinja. Postoji, međutim, kvantitavna razlika: kontrakcije želuca uzetog od starijih životinja su snažnije i ravnomjernije. Reakcija na fizostigmin i atropin je kvalitativno slična kod svih grupa. Fizestigmin povećava tonus izazvane kontrakcije, atropin potpuno blokira efekat stimulacije i smanjuje tonus. Nije signifikantan nalaz po kome u manjem broju slučajeva (1 trećina) sasvim mladih životinja dolazi do rezistencije na atropin.

Starenjem životanja reakcija mokraćnog mjehura in vitro ne mijenja se kvalitativno. Mikcione kontrakcije su ravnomjerne, nešto su snažnije kod starijih organa i relaksacija im je brža. Isto tako, nema kvalitativne razlike u reakciji na fizostigmin. Kvalitativna razlika se pojavljuje u reakciji na atropin. Dok je mokraćni mjehur životinja starih svega jedan dan veoma osjetljiv na atropin, jer atropin može izazvati potpunu blokadu, dotle se kod životinja starih 16 dana registruje rezistencija na atropin.

Ezofagus, uzet od životinja u raznim periodima razvoja i starosti (1 dan, 6 dana, 16 dana), kontrahira se pod uticajem električne stimulacije nerava. Mogu se jasno razlikovati brza kontrakcija, koja nastaje kao rezultat kontrakcije poprečnoprugastih mišića, i spora kontrakcija, koja nastaje kao rezultat kontrakcije glatkih mišića (Huković, 1965). Fizostigmin povećava spore kontrakcije, a smanjuje brze. Atropin ukida efekat sporih kontrakcija. Nisu konstatovane kvalitativne razlike u reakciji ezofagusa, bez obzira na starost životinja. Kvantitativno postoji razlika u jačini reakcija.

Model-sistemi koji se upotrebljavaju za ispitivanje lijekova, a uzeti su od odraslih životinja, pokazuju utvrđene reakcije, od kojih su najvažnije rezistencija na atropin, reakcija na egzogene amine itd. U ovom radu je moglo biti pokazano da se rezistencija na atropin mokraćnog mjehura pojavljuje tokom rasta životinje i da je najizraženija u trećoj grupi. Organi tek rođenih i mladih životinja (starih 1, 6, 16 dana) lako se prepariraju i bolje preživljavaju u uslovima in vitro.

MULABEGOVIĆ, N. and HUKOVIĆ, S.

THE MODIFICATION OF NEUROMUSCULAR TRANSMISSION IN ONTOGENESIS

SUMMARY

The sensitivity to the effect of nerve stimulation of isolated organs were investigeted in rabbits just born. The organs were taken from rabbits

one, six and sixteen days old. The isolated organs were prepared with their cholinergic motore nerves. Stomach, eosophagus and urinary bladder were taken out. The aim was to find out qualitative and quantitative differences of the response to the nerve stimulation in different period of development. The physiostigmine and atropine were added, too. The organs' response was qualitatively similar regadless of the age. The responses to the nerve stimulation were weaker in younger animals. The exceptions was urinary bladder, where resistance to atropine increased during development.

LITERATURA

Buckley, G. A. and Wheater, L. E. (1968): *The isolated expansor secundariorum a smooth muscle preparation from the wing of the domestic fowl,* J. Pharm. Pharmacol 20 suppl. 114 s.

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.

Huković, S. und Stern, P. (1966): *Prüfung der Botulinustoxinwirkung am in vivo vergifteten isolierten innervierten Oesophagus der Maus,* Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 254, 401—405.

Huković, S. (1968): *Oesophagus of rat, rabbit, guinea-pig and mouse isolated with its motor nerve supply as pharmacological test preparation,* IV. Conferentia Hungarica pro therapia et investigatione in pharmacologia. 503 s., Budapest.

Huković, S., Brankov, K. and Igić, R. (1968): *The Eeffect of Adrenergic Agents on the Isolated Innervated Trachea,* Iugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta *4,* 129—132.

Huković, S. (1974): *Uticaj digestanata i autokoida na motilitet želuca (ispitivanje in vitro),* Radovi Akademije nauka i umjetnosti BiH 18, 5—13.

Huković, S. (1977): *The influence of endogenic active substances and prostaglandins on the effect of extrinsic nerve stimulation of isolated organs,* Proc. of Sixth Congress of the Polish Pharmacological Society. s. 30, Katowice.

Kuromi, H. and Hagihara, Y. (1976): *Influence of sympathetic nervs on development of responsiveness of the chick smooth muscle to drugs, European* J. Pharmacol. 36, 55—60.

Kuromi, H. and Hasegawa (1975): *Changes in acetylcoline and noradrenaline sensitivity of chick smooth muscle wholly innervated by sympathetic nerve during development,* European J. Pharmacol. 33, 41—46.

Mulabegović, N. (1978): *Unapređenje metoda za istraživanje lijekova korištenjem model-sistema iz mladih organizama* (u štampi).