



Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

RADOVI XLIV, knj. 16.

Stern, Pavao

1972

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

<https://bastina.anubih.ba/items/2614e960-d550-457b-98eb-9c8268591f92>

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

<https://bastina.anubih.ba/>

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA XLIV

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

KNJIGA 16.

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



SARAJEVO
1972

SEID HUKOVIĆ*

**IZAZIVANJE MODEL-OBOLJENJA I ISPITIVANJE
KONZEKUTIVNIH PROMJENA SEROTONINA I
MONOAMINOKSIDAZE U RAZNIM TKIVIMA****

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 21. VI 1971. godine)

APSTRAKT. Serotonin i njegov razgradni enzim djeluju na pojedine organe i čitav organizam na još nepoznat način. Efekt 5-HT u CNS, kardiovaskularnom sistemu, urinarnom sistemu i probavnom sistemu dugo je ispitan i znatan je. Serotoninu i njegovom razgradnom enzimu se propisuju različite uloge u mnogim poremećajima organizma. Nije poznato kako se mijenja količina 5-HT i aktivitet MAO u raznim oboljenjima. Izazvana su model-oboljenja enzimopatija, toksikomanije, dijabetesa i hipertenzije injiciranjem supstanci kao što su adrenalin, morfin, aloksan, renin, pirogeni i SKF-525-A. Rezultati dobiveni kod injiciranih štakora u mozgu, bubregu, jetri i crijevima su upoređeni sa onim kod zdravih štakora. Iste supstance su pojedinačno i u kombinacijama sa 5-HT aplicirane na izolirani inervirani želudac štakora u cilju ispitivanja akutnog efekta i uzajamnog djelovanja. Nadeno je da adrenalin i morfin povećavaju 5-HT, prvi u jetri i mozgu, a drugi u bubrezima i crijevima. Ustanovljeno je također da, osim u bubregu, obje supstance signifikantno smanjuju aktivitet MAO. Izuzetak je bubreg kod hipertenzivnih štakora, gdje je ustanovljeno povećanje aktiviteta enzima. Pirogeni i SKF-525-A djeluju slično, smanjujući aktivitete enzima u jetri, a povećavajući ih u mozgu. U radu je diskutovano o vezi između promjena biohemijskih ekvivalenata 5-HT i model-oboljenja. Rezultati dobiveni in vitro u skladu su sa tipizacijom, tj. adrenalin i morfin djeluju slično, a aloksan i renin također slično jedan drugome. Prvi par supstanci smanjuje efekt nervne stimulacije, a drugi par povećava pomenuti efekt. Ni jedni ni drugi ne smanjuju efekt serotonina.

* Adresa autora: Prof. dr S. Huković, Institut za farmakologiju, Medicinski fakultet, Sarajevo, 71001, Jugoslavija.

** Izrada rada je pomognuta sredstvima Republičkog fonda za naučni rad SRBiH.

1. U V O D

11. *Autakoidi*

Veći broj aktivnih supstanci stvara se u organizmu i djeluje u malim koncentracijama. To su histamin, serotonin, polipeptidi (angiotenzin, bradikinin, kalidin) i lipidi kao prostaglandini. Sve je njih Douglas nazvao autakoidima.¹⁷ Autakoidi su bili predmet ogromnog broja radova, a danas također predstavljaju predmet istraživanja velikog broja istraživača. Interes za njih je naglašen zbog pretpostavke da su oni osnovni činioci raznih normalnih, a naročito patoloških pojava.

12. *Serotonin, 5-hidroksitriptamin (5-HT), enteramin*

Serotonin, ranije nazivan vazotonin i enteramin,¹⁹ dokazan je u serumu 1948. godine i dobio je ime po serumu serotonin.⁴³ Rapport je 1949. pokazao da je serotonin indolski derivat.⁴⁴ Hammlin i Fischer su ga sintetizirali 1951.²⁹ Danas se drži da su Erspamer i saradnici otkrivači 5-HT.

13. *Monoaminoooksidaza (MAO)*

Monoaminoooksidaza je intracelularni, ubikvitarni enzim mitohondrija koji katalizira oksidaciju mnogih amina, među kojima i 5-HT.⁸ Amini su oksidativno deaminirani po sljedećoj formuli: $R_1CH_2NR_2 + O_2 + H_2O \rightarrow R_1CHO + NHR_2 + H_2O$. U mitohondrijama je pola aktiviteta, a u mikrozomama jedna četvrtina. U jetrenim stanicama MAO je pretežno u mikrozomama, za razliku od drugih tkiva. Aktivitet enzima se određuje manometrijski ili mjerenjem stvaranja amonijaka.^{8,14}

14. *Značaj 5-HT i MAO u organizmu*

Biološki aktivnim aminima, naročito serotoninu i enzimima razgradnje amina, a posebno monoaminoooksidazi, pridavani su u raznim epohama različiti značaji: od ključnog u mehanizmima djelovanja do beznačajnog i perifernog. Posebno se 5-HT uzima za tumačenje raznih upalnih, alergijskih, kardiovaskularnih i neuroloških pojava od 1950. do 1965. godine. Naročito treba naglasiti stavljanje sistema 5-HT u centar psihofarmakoloških pojava.²⁷

141. *Pretpostavka o ulozi 5-HT u CNS*

Snažan podsticaj istraživanja biohemije mozga je otkriće serotona u mozgu. Početna ideja za biohemijska istraživanja rodila se u opažanju da dietilamid lizerginske kiseline (LSD) djeluje kao jak antagonist²⁵ 5-HT, a ujedno djeluje psihotomimetski. Ova ideja je podržana pronalaskom da antiboliti 5-HT mogu također djelovati psihotički.⁵⁴ Kada je bilo pokazano da sredstva kao rezerpin smanjuju depoziciju 5-HT u mozgu i djeluju kao neuroleptici, odnosno da ona sredstva koja sma-

njuju razgradnju 5-HT djeluju kao antidepresivi,¹² ideja da je 5-HT jedan od najvažnijih činioca procesa i fenomena CNS bila je na vrhuncu.³¹ Treba naglasiti da je već u to doba pokazano da brom-LSD ne djeluje psihotomimetski, ali jako antagonizira djelovanje 5-HT, da druge supstance mogu smanjiti depoziciju 5-HT a da nemaju neuroleptički efekt i da antidepresivno mogu djelovati supstance koje ne mijenjaju razgradnju 5-HT.

142. Uticaj 5-HT na funkcije CNS

Nalaz serotonina u CNS, identifikacija njegovih enzima za sintezu i inaktivaciju, intenzivan promet 5-HT, djelovanje njegovih antagonista, antibolita i depletora, ukazuju na ulogu serotonina kao neurohormona u mozgu.³⁴ Na žalost, tačna funkcija 5-HT i MAO nije još ustanovljena. Mnogi efekti koji su ranije pripisivani direktnom djelovanju serotonina su sekundarne, nespecifične i periferne posljedice djelovanja.⁴¹ U dozama u kojima se upotrebljava mijenja krvni pritisak, smanjuje cerebralni protok, snižava tjelesnu temperaturu, potencira opštu anesteziju, osim one sa halotanom, izaziva cerebralni edem i bol. Injiciran, 5-HT izaziva sedaciju kod životinja i čovjeka. Znatne promjene ponašanja nisu primijećene. Ustanovljeno je izvjesno poboljšanje EEG-a kod bolesnika sa hepatičkom komom ako je dato 10—40 mg prekursora serotonina 5-hidroksitriptofana (5-HTP), koji kao aminokiselina prolazi u mozak. U manjim dozama 5-HTP smanjuje spontanu aktivnost, a u većim, posebno poslije iproniazida, inhibitora MAO, izaziva tremor i agitaciju. Slični fenomeni su zapaženi na štakoru poslije LSD.²⁷

Općenito je 5-HT u malim dozama depresor raznih električkih fenomena, a u većim dozama povećava električki aktivitet mozga i pojedinih moždanih stanica. Serotonin povećava broj pulsacija stanica oligodendroglije. Misli se, međutim, da je depresorno djelovanje nespecifičan sekundarni efekt poslije reakcije krvnih žila, edema mozga i smanjenja tenzije kisika.⁴¹ Pokazano je također da 5-HT nema posebnog uticaja na konvulzije izazvane kamforom, kardiazolom, strihninom i pikrotoksinom, osim ako nije davan nekoliko dana uzastopce. Poslije konvulzija izazvanih elektroškovom Garattini i saradnici su našli povećanje 5-HT u mozgu, naročito u mezencefalonu i hipotalamusu, a bez pojave promjene aktiviteta MAO.²⁷

143. Biotransformacija serotonina u CNS-u

Serotonin je nejednako raspoređen u mozgu. Najviše ga ima u substantia nigra u hipotalamusu i corpora quadrigemina (0,86—0,700 ug/g).²⁷ U mozgu biva sintetiziran iz triptofana ili iz 5-hidroksitriptofana pomoću 5-hidroksitriptofan-dekarboksilaze, koja je identična sa DOPA-dekarboksilazom.⁴⁸ Postoje dvije forme: »vezani« i »slobodni« serotonin. Vezan je kao baza sa kiselinama kao ATP, heparin ili lipidnim supstancama. Trećina 5-HT egzistira kao slobodna, odnosno nevezana. Nalazi se u granulama, nervnim završecima, simpatičkim vezikulama i mikrozomama. Granule su različite od onih koje sadrže acetilholin ili histamin.

Serotonin *in vitro* reverzibilno inhibira holinesterazu. *In vivo* izgleda da je aktivira u hipotalamusu štakora. Osim ovog djelovanja na holinesterazu, 5-HT može djelovati na acetilholinski sistem i na taj način što antagonizira acetilholin.³ Serotonin ne prolazi hemoencefaličnu barijeru, pa je iznenađujuće saopštenje da ima u dozi od 0,5 terapijski efekt kod paranoičara.⁵ 5-HT dat direktno u mozak niti sam niti u kombinacijama sa inhibitorima MAO ne smanjuje šizofreničku psihozu. Takva kombinacija brzo smanjuje depresiju. Pacijenti sa karcinoidom, u kojemu se stvaraju ogromne količine 5-HT koje se luče u krv, ne pokazuju nikakav mentalni poremećaj.⁴⁶ Smanjenje serotonina je paralelno i slično smanjenju dopamina u nukleus kaudatusu, putamenu, palidumu, talamusu, hipotalamusu i supstanciji nigra. Kod fenilketonurije nalazimo poremećaj metabolizma indola i smanjenje serotonina u serumu, povećanu eliminaciju indolactene kiseline i druge prateće pojave poremećaja sinteze serotonina i fenilalanina. Smanjenje poremećaja metabolizma fenilalanina i indola smanjuje se dijetom sa niskim fenilalaninskim vrijednostima.⁴⁰

144. Serotonin u gastrointestinalnom sistemu (GIS)

Sluznica GIS-a vrlo je bogata sa 5-HT. Raspodjela nije uniformna u raznim dijelovima sluznice. Serotonin se nalazi u granulama mukoznih stanica i nije osjetljiv na djelovanje prekursora, rezerpina i inhibitora MAO. Serotonin je zapravo otkriven u sluznici želuca, pa je nazvan enteramin.²¹ Dokazan je u jetri. Pokazalo se da je 5-HT najviše koncentrovan u stanicama koje imaju tipične reakcije enterohromafinog tkiva. Te su reakcije bojenje granula, koje su argentofilne, sjedinjuju se sa solima diazonijuma, fluoresciraju u WOOD-ovom svjetlu i drugo. Kako je navedeno, serotonin u GIS-u otporan je prema rezerpinu, međutim ta otpornost nije jednaka za sve dijelove sluznice. U želucu je, npr., osjetljiva sluznica pilorusa, dok je sluznica fundusa gotovo bez promjena. 5-HT u većim dozama izaziva ulkus, ulcerogeno u većim dozama djeluje i njegov prekursor 5-HTP.⁷ Gastrički ulkus izazvan sa 5-HT ili 5-HTP nije u isto vrijeme praćen povećanjem aciditeta i volumena želuca. Kod čovjeka, psa i štakora postoji smanjenje gastričkog sadržaja i aciditeta. Rezerpin i ulkus želuca su bili čest predmet istraživanja. Rezerpin u malim dozama smanjuje, a u većim povećava nastajanje ulkusa izazvanog raznim ulcerogenim supstancama i procedurama.³⁷

Jedno od najmarkatnijih djelovanja serotonina je njegov motorni efekt na probavni trakt. Naročito se jako kontrahira fundus želuca, pa se fundus želuca štakora upotrebljava za dokazivanje malih količina 5-HT.⁴⁹ Za ovu svrhu se također upotrebljava vrlo osjetljiv preparat kolon štakora.¹⁶ G a d d u m i saradnici su zaključili da 5-HT može djelovati direktno i da nije jedino u vezi sa oslobađanjem acetilholina i histamina, mada se ne može isključiti holinergična komponenta. Razlikuju se dva receptora za 5-HT: M-receptor, koji blokira morfin, i D-receptor, koji blokira dibenzilin. M-receptori su u nervnom tkivu, a D-receptori su u glatkomišićnim nitima.²⁶ 5-HTP može izazvati dva suprotna efekta na GIS-u. Preovlađuje ekscitatorni efekt, nakon čega nastupi inhibicija mo-

tiliteta. Tipična reakcija se kod čovjeka sastoji u intenzivnom spazmu, slijedi povećani tonus sa ritmičkim propluzivnim kontrakcijama, iza čega dolazi do inhibicije spontanog aktiviteta. Kod neuroendokrinih enteropatija provocirana serotoninemija može dovesti do funkcionalnih promjena koje jako liče na idiopatske crijevne poremećaje. Ona se pojavljuje u primarnom stepenu digestivno provocirane serotoninemije kod pacijenata sa dumping sindromom sa vazomotornim reakcijama.⁶ Bülbriing i saradnici su ispitivali ulogu 5-HT u želucu i crijevima. Nađeno je da on stimulira peristaltiku, smanjuje prag intraluminalnog pritiska potrebnog za izazivanje refleksa, povećava frekvencu kontrakcija i volumen transporta sadržaja. Osim povećanja motiliteta, primijećeno je da intraluminalni pritisak oslobađa 5-HT, pa čak i onda kada je peristaltički refleks inhibiran sa heksametonijumom i prokainom.⁹ Inhibitorna komponenta 5-HT ide preko triptaminergičnih nerava, odnosno mienteričkih ganglija koje djeluju inhibitoryno ukoliko budu nadražene serotoninom.¹⁰ Ovaj efekt se vidi naročito onda kada se aplicira 5-HT zajedno sa morfijem i simultano stimulira vagalni nerv.³⁰

145. Djelovanje serotonina na bubrežne funkcije

Erspamer je u velikom eksperimentu na 12 hiljada hidriranih štakora injicirao razne doze 5-HT i našao da 4 ug/kg štakora značajno smanjuje diurezu.²¹ Redukcija diureze je skopčana sa povećanjem izlučivanja klorida. Osmotski aktivitet, izlučivanje kreatinina, klirens manitola i parahipurne kiseline je također smanjen pod uticajem serotonina. Potrebno je naglasiti da ima autora koji nisu ustanovili njegov efekt na diurezu. 5-HT djeluje na aferentne arteriole glomerula, gdje dolazi do vazokonstrikcije i smanjenja filtracije. Ako se prethodno hidriranoj životinji da antagonist 5-HT, izostaje oligurički efekt supkutano datog serotonina.²¹ Što se tiče mehanizma djelovanja, mnogi su mišljenja da je posrijedi izbacivanje vazopresina, bol, kontrakcija uretera, stvaranje edema i slično — kao uzročnici oliguričkog efekta. Moguće je da je efekt serotonina na diurezu rezultat kombinacije smanjenja filtracije i facilitacije reapsorpcije vode u tubulima.²⁷

146. Vaskularna djelovanja 5-HT

U kardiovaskularnom sistemu je 5-HT u vezi sa krvlju i funkcijama srca i krvnih žila. Krv i krvni elementi, pretežno trombociti, nisu samo prenosioci nego i mjesta gdje se deponira i šteti 5-HT.²⁰ U trombocitima nema MAO. Pored trombocita, 5-HT deponira se na eritrocite.⁴⁷ Kod zdravih mladih ljudi može se dokazati 0,12 ug/ml krvi, a kod starijih ljudi 0,09 ug/ml, kod hipertoničara je najmanja količina 5-HT i iznosi 0,06 gama/ml krvi. 5-HT jako podiže kapilarni permeabilitet, pa se serotoninu pripisuje uloga u alergičkim i anafilaktičkim reakcijama. Danas se misli da je njegova uloga vjerovatna, ali sekundarna.¹⁵

Djelovanje na krvne žile je veoma kompleksno. Injiciran čovjeku u krv, on izaziva arteriolarnu vazodilataciju, koja je odgovorna za pad krvnog pritiska. Mnogo rjeđe, i to kod pacijenata kod kojih je smanjen

krvni pritisak, može izazvati lagano povećanje krvnog tlaka. Dokazana je vazodilatacija u mišićima, a vazokonstrikcija, eritem i edem poslije supkutane injekcije. To nije direktno djelovanje na kapilare nego indirektno, oslobađajući histamin. Djelovanje na koronarnu cirkulaciju je jedva poznato kod čovjeka. Međutim, u eksperimentima na životinjama nađeno je da koronarni sistem nije osjetljiv na 5-HT.³⁸

147. Uticaj serotonina na endokrini i metabolički aktivitet

Postoje mnogi podaci o tome da 5-HT djeluje na endokrini sistem. Ovi rezultati su dobiveni sa malim farmakološkim dozama, pa o njima treba voditi računa. Ima niz podataka da 5-HT djeluje na hipofizu i njeno povećano izlučivanje ACTH.⁴ S druge strane, hormon rasta izgleda da kontrolira »Clear Cells System« F e y r t e r - a, koji je odgovoran za produkciju serotonina i čiji je samo jedan dio entero-hromafini stanični sistem K u l t c h i s k y - M a s s o n - a. Hiperglikemički efekat hormona rasta mogao bi da ide preko 5-HT, koji sa svoje strane aktivira 3' 5' cikličku AMP.¹³ Osim djelovanja na hipofizu, 5-HT može djelovati direktno na adrenalnu žlijezdu tako da se smanjuje adrenalna askorbična kiselina i holesterol. Ako se 5-HT injicira u arteriju adrenalne žlijezde, onda on izaziva naglo pražnjenje kateholamina i depolarizaciju hromafilnih ćelija. Isto tako 5-HT oslobađa hidrokortizon, kortikosteron i aldosteron; misli se da je ovaj efekat preko 3'5'-AMP, koji sa svoje strane može oslobađati kortikoide u nedostatku ACTH.⁵² Osim ovoga, 5-HT oslobađa adrenalin iz nadbubrežne žlijezde. Posebno treba spomenuti tzv. adrenglomerulotropin u pinealnoj žlijezdi, koji je sto puta aktivniji od serotonina. Serotonin inhibira sekreciju kortikotropina, po svoj prilici, inhibirajući faktor oslobađanja luteina »lutein releasing factor (LRF)«. Tiroidna žlijezda je direktno stimulirana sa 5-HT, a djelovanje tireotropnog hormona je dijelom mobilizirajući tiroidni 5-HT.¹³

Slično histaminu, misli se da 5-HT stimulira rast, a naročito njemu sličan auksin-indolocena kiselina. Ustanovljeno je da stimulira rast nekih tumora, a da druge inhibira, kao npr. inhibira sarkom 180 kod miša.⁴⁵ S obzirom na rast vertebrata, postoje samo preliminarni i kontradiktorni rezultati.

Uticaj na karbohidratni metabolizam ovisi o vrsti životinje i načinu davanja. Kod miša izaziva hiperglikemiju, kod štakora hiperglikemiju izaziva jedino ako se da i.v., inače izaziva hipoglikemiju.²³ Razni tipovi hiperglikemije, kao npr. poslije aloksana, pod uticajem serotonina prelaze u hipoglikemiju. 5-HT djeluje direktno *in vitro* na adipoznom tkivu, gdje povećava aktivitet fosforilaze. Dat u većim dozama on izaziva smrt fetusa štakora, miša i kunića, vjerovatno zbog smanjenja transplacentalne izmjene supstanci.⁵¹

15. Značaj 5-HT i MAO u slučajevima najvažnijih bolesti i otrovanja

U brojnim oboljenjima, niti poslije operacija, nije bio opisan značajan uticaj na sistem 5-HT. Manji broj oboljenja, kao karcinoid hromofinih stanica čovjeka i tumor mast-stanica miša, karakterističan je

po velikoj koncentraciji serotonina u tumoru i po izlučivanju 5-HIAA u urinu. Različiti tumori, osim 5-HT, također izlučuju ACTH i presorne amine.³⁹ Sve ovo može izazvati difuzni periferni endokrini sistem i simptome enterohromafinopatija. Pacijenti sa bolešću jetre izlučuju normalne količine 5-HIAA. Povećano izlučivanje 5-HIAA nađeno je kod sprue. Drugi podaci pokazuju da je konverzija 5-HT u 5-HIA nepromijenjena u slučajevima enteritisa i ulceroznog kolitisa.³⁶

Različiti podaci su dati za hipertenzivne pacijente. Nađeno je smanjenje i povećanje vrijednosti izlučivanja produkata metabolizma serotonina. 5-HT nije nađen u cerebrospinalnom likvoru normalnih ljudi², niti kod pacijenata sa karcinoidom. Povećana količina u likvoru je nađena kod djece sa tuberkuloznim meningitisom i u slučajevima ozljeda glave.¹

Uticaj raznih supstanci na sistem 5-HT bio je pažljivo ispitivan. Razlikuju se uglavnom dvije grupe supstanci: jednu čine tzv. depletori, rilizeri serotonina, supstance koje ga istiskuju iz spremišta ili smanjuju afinitet receptora prema njemu, a druga grupa supstanci su inhibitori MAO koji konzerviraju serotonin. Manje se spominju supstance koje djeluju na stvaranje serotonina, njegovi prekursori i inhibitori razgradnje osim MAO. Ni prva ni druga grupa nisu specifične: rezerpin i njegovi analozi ne potiskuju samo 5-HT nego i noradrenalin, dopamin i histamin, a iproniazid i slične supstance ne djeluju samo na razgradnju serotonina nego i noradrenalina, adrenalina, dopamina, triptamina, tiramina, oktopamina i raznih drugih amina. Supstance koje pretežno ili jedino djeluju na 5-HT su p-hlorfenilalanin i p-hloramfetamin, ali unatoč svemu nije to dovoljno specifično za analizu njegovih centralnih funkcija.³⁵

16. Modeli oboljenja i otrovanja u vezi sa 5-HT i MAO

Dva su puta u istraživanju uticaja 5-HT i MAO u normalnom i patološki promijenjenom organizmu. Prvi put je davanje supstanci iz sistema 5-HT, HT, odnosno modifikatora aktiviteta MAO. Drugi je put izazivanje modela oboljenja i otrovanja i promatranje promjena sistema 5-HT i MAO³¹ Uprvom slučaju injiciraju se prekursori, 5-HT, depletori, metaboliti, antimetaboliti, antagonisti i sl. in vivo i in vitro. Iskorištavanje ovog puta može zavesti, jer se daju velike farmakološke doze i dobiju efekti koji se u organizmu ne ostvaruju. U drugom slučaju se prati promjena količine 5-HT i aktiviteta MAO i iz toga se zaključuje o uticaju ovog amina i enzima na procese u organizmu.³¹

17. Formulacija problema i cilj rada

Nije dovoljno poznato kako organizam djeluje na 5-HT i MAO, posebno kada je organizam promijenjen u raznim patološkim situacijama. Modeli promijenjenog organizma, model-oboljenja i model-intoksikacije, dobiveni su tretiranjem životinja raznim supstancama. Da se ustanova efekt organizma na aktivnu supstancu, treba izabrati takve sup-

stance koje djeluju i koje imaju bar donekle poznat uticaj u CNS-u, kardiovaskularnom sistemu, endokrinom sistemu i sistemima razgradnje lijekova.

Osim ispitivanja djelovanja organizma na 5-HT i MAO, potrebno je ustanoviti uticaj 5-HT i supstanci koje izazivaju model-oboljenja i model-intoksikaciju na najosjetljivije organe prema serotoninu. Takav organ je izolirani želudac štakora.

Cilj rada je da se ustanove promjene količine 5-HT i aktiviteta MAO u bubrezima, mozgu, jetri i crijevima životinja koje su prethodno tretirane pirogenima, aloksanom, adrenalinom, morfijem, reninom, noradrenalinom i b-dietilaminoetilpropil acetatom (SKF-525-A). Iste supstance koje su upotrijebljene za izazivanje model-oboljenja biće aplicirane na izolirani inervirani želudac štakora u cilju komparacije akutnog efekta ovih supstanci na 5-HT sa njihovim hroničkim efektima.

2. METODA

Za eksperimente su upotrebljavani mladi bijeli Wistar-štakori oba pola, posječne težine od 130 g. Životinje se mogu svrstati u 3 kategorije: u prvoj su one iz čijih je organa mjerena količina 5-HT i aktivitet MAO; drugu grupu su činili štakori ženskog spola od kojih je uziman uterus za biološki esej serotonina. Ove životinje su 24 sata prije uzimanja organa injicirane sa 0,1 stilbestrolsa. Treću grupu su sačinjavali štakori od kojih su uzimani izolirani organi za ispitivanje akutnih efekata upotrijebljenih supstanci.³¹

21. Injiciranje aloksana i pirogena

Aloksan je injiciran i.m. 5 dana uzastopce u koncentraciji od 0,15/kg, otopljen u 0,2 ml fiziološke otopine. Pročišćeni lipopolisaharidni pirogen dobiven iz *salmonela abortus equi* u dozi od 20 ug/ml injiciran je tri dana za redom u volumenu od 0,2.

22. Injiciranje adrenalina, noradrenalina + renina

Adrenalin baza otopljen u ulju injiciran je i.m. u 0,2 ml 1 mg/kg. Adrenalin je injiciran 30 dana uzastopce. Štakori su injicirani 25 dana uzastopce mješavinom renina i noradrenalina. Renin je, otopljen u fiziološkoj otopini, injiciran u volumenu od 0,2 ml i u dozi od 0,015 kg pasijih jedinica. Noradrenalin baza je otopljen u ulju i injiciran u istom volumenu i dozi od 1 mg/kg.

23. Injiciranje morfija i dietilaminoetilpropilacetata

Morfin sulfat u dozi od 5 mg/kg injiciran je 30 dana za redom i.m. 3 sata prije žrtvovanja injiciran je SKF-525-A u dozi od 0,2/kg i.p. štakoru.

24. Ekstrakcija 5-HT

Ekstrakcija 5-HT vršena je prema A m i n u i sar.² Poslije dekapi-tacije životinje brzo se uzima jetra, mozak, bubreg i duodenom. Ekstrakcija je vršena sa 20 ml acetona na gram tkiva. Tkivo koje je stavljeno u aceton isitnjeno je makazama na najmanje moguće čestice i u povremenu trešnju ostavljeno jedan sat. Acetonski ekstrakt je filtriran u tikvicu kapaciteta 200 ml. Netopivi dio ekstrakta ponovo je ekstrahiran sa 20 ml acetona u roku od pola sata. Filter-papir je ispran dva puta acetonom. Kombinirani filtrat je evaporiran pod vakumom u temperaturi do 36°C. Neispareni dio je otopljen u 1 ml destilirane vode i ekstrahiran sa 10 ml petroletera da bi se odstranili lipidi. Nakon odlijevanja petroletera vodena faza je isparena u vakumu do suha. Ekstrakt se zatim miješao sa 2 ml J a l o n n o v e otopine.

25. Esej 5-HT

Za određivanje serotonina uziman je izolirani uterus negravidne ženke štakora, koji je prethodno dobio stilbestrol. Uterus je suspendiran u posudu volumena 5 ml. Otopina je hipokalcemični modificirani rastvor L o c k e-a.¹¹ Vrijednosti su upoređivane sa standardnim otopinama i proračunate kao serotonin-baza.

26. Ispitivanje aktiviteta MAO

U standardnoj manometrijskoj aparaturi po W a r b u r g u je kao supstrat uziman 5-HT u 0,3 ml pufera, što iznosi 4,05 mg 5-HT. U središnji dio W a r b u r g o v e bočice otpipetirano je 0,2 ml n KOH. U glavni dio bočice stavljeno je 1,7 ml homogeniziranog tkiva u ultrahomogenizator. Odnos tkiva i pufera pH 6,9 bio je 1:10 fosfatnog pufera. U određen broj bočica homogenatu je dodavano 0,0637 mg iproniazida u volumenu od 0,1 pufera. Poslije stabilizacije od 30 minuta supstrat je miješan sa homogenatom. Potrošnja kisika bilježena je svakih 15 minuta u roku od 1 sata. U manometrima gdje nije bilo iproniazida očitavana je potrošnja kisika na račun aktiviteta svih oksidaza kojima je bio supstrat 5-HT. U manometrima u kojima se nalazio iproniazid očitavana je potrošnja kisika na račun reakcija enzima koji nisu bili ukočeni iproniazidom. Razlika između prve i druge vrijednosti uzeta je za mjeru aktiviteta MAO.

27. Izolirani organi i efekt 5-HT

Za ispitivanja na želucu štakora izoliran je organ i stimuliran električki transmuralno svake dvije minute po 5 sekundi električnim stimulusom sljedećih parametara:³⁰ 5 mA, 1 mS, 20 Hz. Injicirane su sljedeće supstance da se vidi promjena efekta stimulacije, i to: serotonin, 5-hidroksitriptofan, aloksan, adrenalin, noradrenalin, morfin i SKF-525-A. Supstance su injicirane poslije adaptacionog perioda od 20 minuta u posudu u kojoj je suspendiran želudac volumena 40 ml Tyrodeove oto-

pine. Otopina je gasirana karbogenom i zagrijavana na 32°C. Registracije su mjerene pomoću izotoničkog transducera na mikrodinamometru »Ugo Basile«.

28. Statistička analiza

Za statističku obradu rezultata iskorištavane su formule Fischeera²⁴. Izračunate su srednje vrijednosti, standardna greška srednje

vrijednosti $SE = \pm \sqrt{\frac{x - \bar{x}}{n(n-1)}}$ - a signifikantna razlika između dvije

srednje vrijednosti izračunata je po formuli $t = \frac{\bar{x} - \bar{x}'}{s} \pm$

$$\pm \sqrt{\frac{(n_1 + 1)(n_2 + 1)}{n_1 + n_2 + 2}}, \quad s = \pm \sqrt{\frac{1}{n_1 + n_2} (S(x - \bar{x})^2 + S(x' - \bar{x}'))},$$

$$\bar{x} = S(x)/n_1 + 1, \quad \bar{x}' = S(x')/n_2 + 1.$$

3. REZULTATI

31. Promjena količine serotonina u četiri organa

Količina 5-HT mjerena u bubregu, crijevu, jetri i mozgu štakora u model-obiljenjima mijenja se na razne načine poslije hroničnog tretiranja adrenalinom, morfinom, aloksanom, presorima (noradrenalin + renin), pirogenima i SKF-525-A.³¹

311. Uticaj adrenalina i morfina

Tridesetodnevno injiciranje adrenalina (1 mg/kg) dovodi do povećanja količine 5-HT u jetri i mozgu. Povećanje u mozgu je skoro dvostruko u odnosu na kontrolne vrijednosti.

Višenedjeljno injiciranje morfina (5 mg/kg) dovodi do povećanja serotonina, i to signifikantno u bubrezima i crijevima. Morfinska toksikomanija izaziva velike varijacije koncentracije morfina u bubrezima i crijevima (tab. 1). Hronično davanje adrenalina i morfina izaziva kateksiju i gubitak težine štakora.

312. Uticaj aloksana i presora

Hronično davanje aloksana kod štakora dovodi do povećanja glukoze u krvi. Štakori su bili jako promijenjeni, spori, sa laganim tremorom. Nisu gubili u težini. Na autopsiji je viđena hipertrofična i masno infiltrirana jetra, bubrezi i crijeva. Aloksan signifikantno smanjuje količinu serotonina u bubrezima, crijevima i jetri.

Davanje presora renina i noradrenalina u roku od mjesec dana dovodi do jakog povećanja tlaka — u prosjeku 70 mm Hg. Štakori su jako ekscitirani i razdražljivi. Patološko-anatomske nisu nađene pro-

mjene ispitivanih organa. Količina serotonina pada signifikantno u crijevima i mozgu (tab. 2).

313. Uticaj pirogena i SKF-525-A

Pod uticajem pirogena povećanje temperature je u prosjeku 1°C. Prilikom autopsije redovito je viđena jako povećana slezena. Injiciranje pirogena praktički ne mijenja koncentraciju 5-HT u bubregu, mozgu, jetri i crijevima u odnosu na kontrolne vrijednosti.

Davanje velikih doza SKF-525-A (0,2/kg) jako umiruje štakore, koji su nepokretljivi i apatični. Poslije dekapitacije u peritonealnoj šupljini je nađena bistra tečnost. Organi su cijanotični i edematozni. Biološkom metodom nije bilo moguće dokazati 5-HT, jer je ekstrakt dovodio do neosjetljivosti uterusu.

32. Promjena aktiviteta MAO pod uticajem supstanci

Aktivitet MAO mijenja se u bubrezima, crijevima, jetri i mozgu štakora na različite načine. U crijevima i jetri aktivitet se samo smanjuje, dok u bubregu i mozgu može biti signifikantno povećan, odnosno smanjen. U bubregu je ustanovljeno samo povećanje aktiviteta, a u mozgu i povećanje i smanjenje. Interesantno je napomenuti da se u mozgu aktivitet mijenjao signifikantno pri svim vrstama tretiranja.

321. Uticaj adrenalina i morfina na MAO

Višenedjeljno injiciranje adrenalina ili morfina smanjuje signifikantno aktivitet MAO u svim ispitivanim organima. Izuzetak je bubreg, gdje adrenalin izaziva signifikantno povećanje, a morfin ne mijenja vrijednost aktiviteta (tab. 3).

322. Uticaj aloksana, renina i noradrenalina na MAO

Aloksan smanjuje aktivitet MAO, i to signifikantno u crijevima i mozgu, kao što je smanjivao i količinu serotonina u organima. Presori renin i noradrenalin djeluju različito: u bubregu je signifikantno povećanje, a u mozgu signifikantno smanjenje aktiviteta MAO (tab. 4).

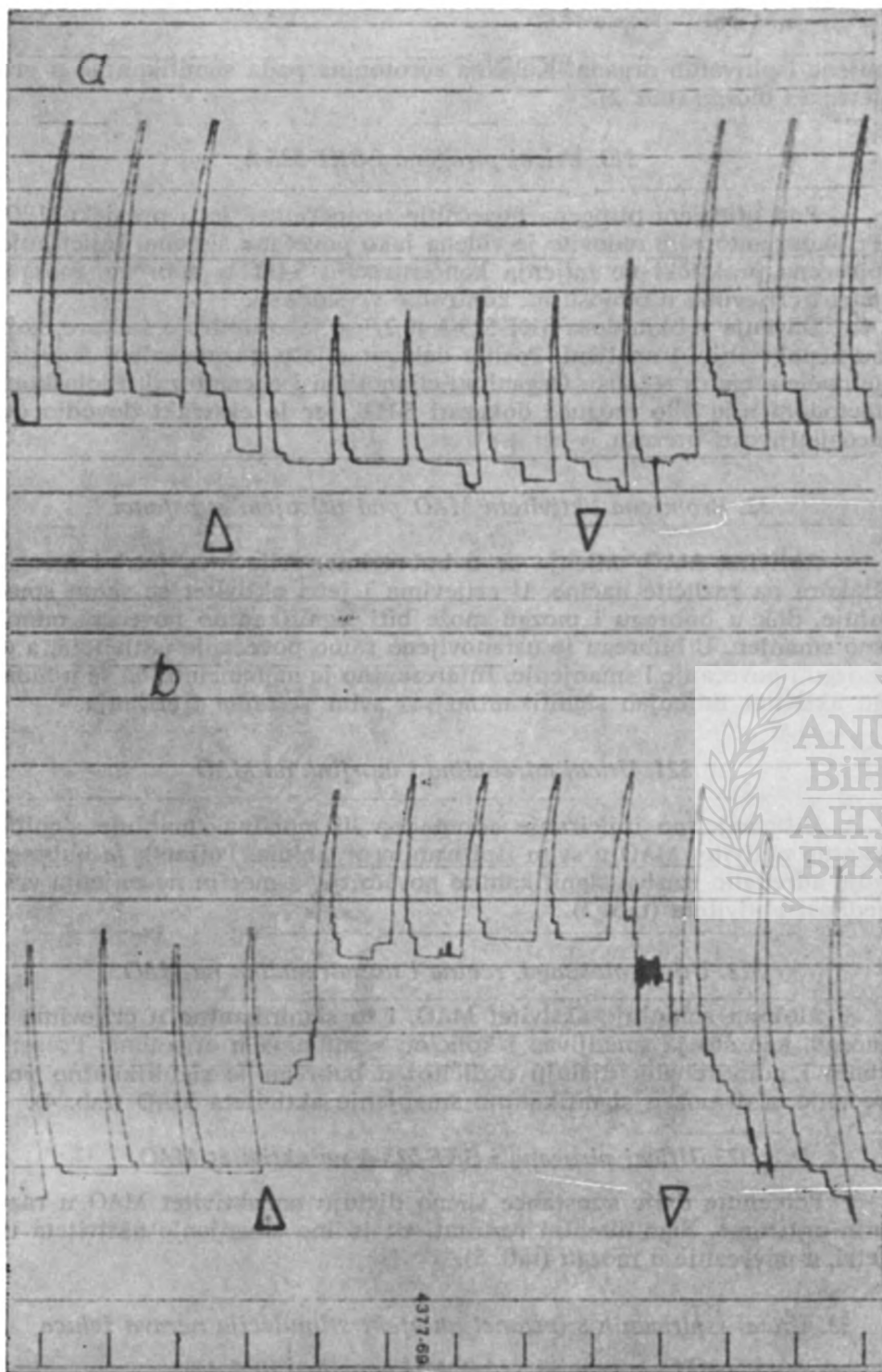
323. Uticaj pirogena i SKF-525-A na aktivitet MAO

Pomenute dvije supstance slično djeluju na aktivitet MAO u raznim organima. Signifikantni rezultati su jedino smanjenje aktiviteta u jetri, a povećanje u mozgu (tab. 5).

33. Uticaj ispitivanih supstanci na efekt stimulacije nerava želuca

331. Adrenalin (10^{-6} M i morfin (10^{-5} M)

Adrenalin i morfin (sl. 1) smanjuju efekt stimulacije nerava. Ni jedan ni drugi ne sprečavaju efekt 5-HT na izoliranom želucu.

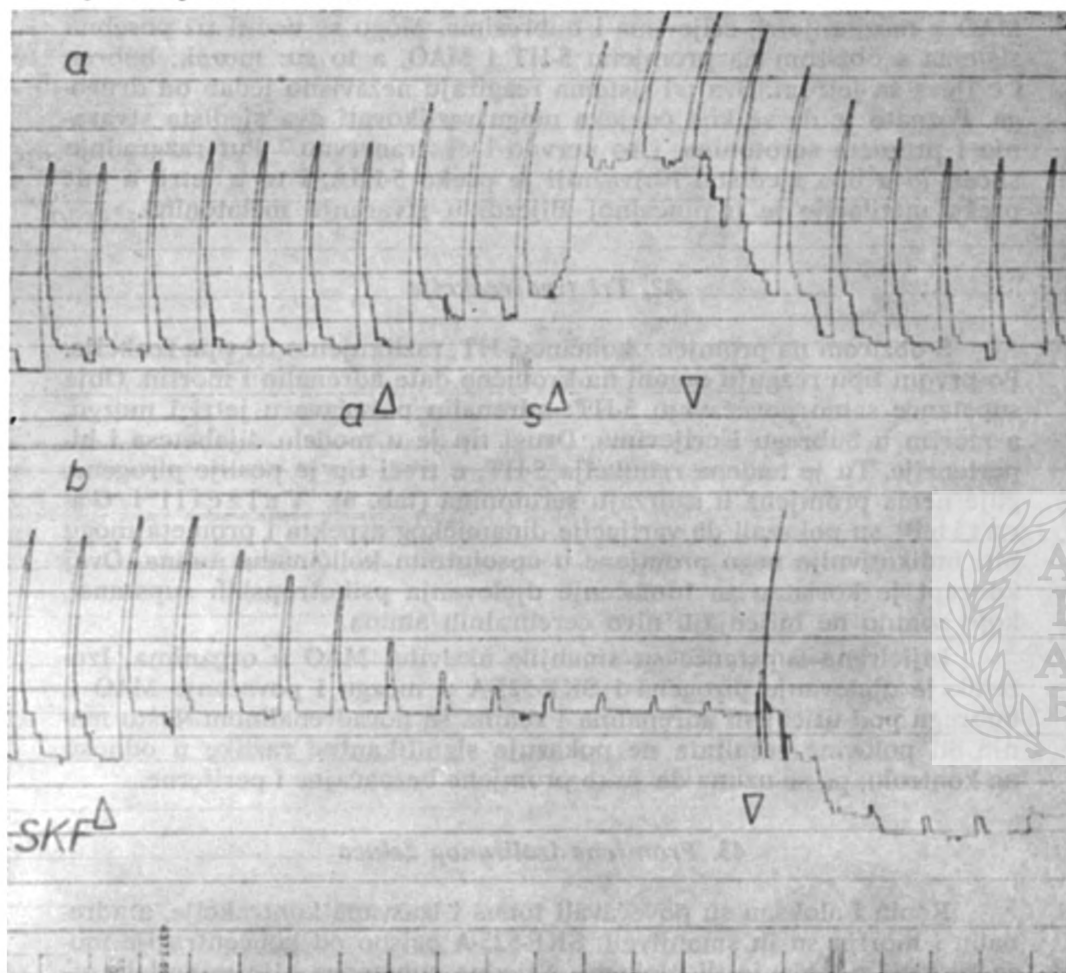


Sl. 1.

Kontraksije izoliranog želuca štakora pod uticajem koaksijalne stimulacije. Kod znaka je dodata supstanca, a kod drugog znaka posuda je isprana.
 a) adrenalin $10^{-6}M$, b) serotonin $10^{-7}M$.

332. Aloksan i renin

Aloksan ($10^{-4}M$) i renin (5 ug/dl) povećavaju efekt stimulacije unutrašnjih i vanjskih nerava izoliranog želuca štakora. Osim ovog povećanja vidi se povećanje tonusa. Ni jedna ni druga supstanca ne ometaju djelovanje serotonina.



Sl. 2.

Kontraksije izoliranog želuca štakora pod uticajem koaksijalne električne stimulacije (svake dvije minute po 5 sekundi, 5 mA, 1 mS, 20 Hz).

Gore: a) kod prvog znaka Δ dodat je aloksan $10^{-6}M$, kod drugog znaka Δ s dodat je serotonin $10^{-7}M$. Kod trećeg znaka Δ ispiranje.

Dolje: b) kod znaka je dodan SKF-525-A $10^{-6}M$. Kod drugog znaka ispiranje posude.

333. Uticaj SKF-525-A

SKF-525-A u manjim koncentracijama povećava efekt stimulacije nerava, a većim koncentracijama ($10^{-6}M$ i više) dovodi do paralize efekta stimulacije. Iza supstance se teško vraća efekt stimulacije na kontrolne vrijednosti. Ova supstanca smanjuje efekt serotonina (sl. 2).

4. Diskusija

41. Promjene 5-HT i MAO u model-oboljenjima

U model-oboljenjima juvenilnog dijabetesa, hipertoniije, hiperpireksije, toksikomanije i enzimopatija mijenja se količina 5-HT i aktivitet MAO u mozgu, jetri, crijevima i bubrezima. Mogu se uočiti tri posebna sistema s obzirom na promjenu 5-HT i MAO, a to su: mozak, bubrež i crijeva sa jetrom. Sva tri sistema reagiraju nezavisno jedan od drugoga. Poznato je da se kod čovjeka mogu razlikovati dva sjedišta stvaranja i prometa serotonina, i to nervno i ekstranervno.¹³ Put razgradnje sličan je u oba sjedišta. Najvažniji je preko 5-HIA, i to u jetri, a put preko metilacije je u pinealnoj žlijezdi u stvaranju melatonina.

42. Tri tipa reakcije

S obzirom na promjene količine 5-HT, razlikujemo tri tipa reakcije. Po prvom tipu reaguju organi na kronično date adrenalin i morfin. Obje supstance samo povećavaju 5-HT: adrenalin povećava u jetri i mozgu, a morfin u bubregu i crijevima. Drugi tip je u modelu dijabetesa i hipertenzije. Tu je nađena redukcija 5-HT, a treći tip je poslije pirogena, gdje nema promjena u sadržaju serotonina (tab. 6). Valzelli i Garatini⁵⁰ su pokazali da varijacije dinamičkog aspekta i prometa mogu biti indikativnije nego promjene u apsolutnim količinama amina. Ovaj koncept je koristan za tumačenje djelovanja psihotropskih supstanci, koje znatno ne mijenjaju nivo cerebralnih amina.

Injicirane supstance su smanjile aktivitet MAO u organima. Izuzetak je djelovanje pirogena i SKF-525-A u mozgu i povećanje MAO u bubregu pod uticajem adrenalina i renina sa noradrenalinom. Nešto manje od polovine rezultata ne pokazuje signifikantne razlike u odnosu na kontrolu, pa se uzima da su te promjene beznačajne i periferne.

43. Promjene izoliranog želuca

Renin i aloksan su povećavali tonus i izazvane kontrakcije, a adrenalin i morfin su ih smanjivali. SKF-525-A ovisno od koncentracije može izazvati povećanje ili blokadu. Nijedna supstanca nije mijenjala osjetljivost organa prema 5-HT, osim većih koncentracija SKF-525-A. To znači da nema direktnog antagonizma između injiciranih supstanci, nego se radi o jednostavnoj sumaciji ili oduzimanju farmakoloških efekata.

44. Adrenalin i morfin

Oba hronična tretiranja izazvala su slične promjene. Težina životinja je znatno opadala, štakori su bili nemirni i razdražljivi. Obje supstance izazivaju slične promjene na izoliranom želucu, obje djeluju analgetski³² i obje mogu dovesti do značajnih toksikomanija i psihičkih poremećaja. Štakori tretirani adrenalinom imaju povećanu količinu 5-HT u jetri i crijevima, a smanjen aktivitet MAO u crijevima, jetri i mozgu.

Dokazana je povećana aktivnost MAO u bubrezima. Postoji mogućnost da povećana količina adrenalina oslabljuje detoksikacionu sposobnost jetre i mozga, nakupljaju se nerazgrađeni derivati indolalkilamina i skreće metabolizam adrenalina prema adrenohromu.³¹ Adrenalin ima definitivan efekt na CNS kod ljudi. Taj efekt nije konstantan, može ići od depresije do konvulzija. Momentano nije moguće ustanoviti da li ima ekscitatorni, inhibitorni ili oba pravca djelovanja na neurone CNS.³³ Povećanje 5-HT u mozgu je vjerovatno u neuronima koji inače sadrže serotonin.³⁴ Pokazano je da postoji korelacija između brzine sinteze i regulacije sna, što je u skladu sa hipotezom da serotonin djeluje kao neurotransmitor u CNS.³⁴

Kronično davanje morfina također dovodi do povećanja 5-HT, i to u drugim organima nego adrenalin. Misli se da je toleranca prema opijatima i fizikalna zavisnost prema njima na osnovu zajedničkog mehanizma djelovanja i da taj mehanizam može biti povećana sinteza 5-HT.⁵³ Drugi su mišljenja da je posrijedi povećana sinteza kateholamina i da je stepen ekscitacije viđen za vrijeme apstinencije morfina direktno u vezi sa oslobađanjem kateholamina. Interesantan je paralelizam u djelovanju između morfina i adrenalina nađen u ovom radu. Treba naglasiti da se pod uticajem morfina vide velike varijacije vrijednosti 5-HT u jetri i bubrezima. Iz rezultata se može također vidjeti da je aktivitet MAO smanjen u svim organima. Pokazano je da je jako poremećena razgradnja serotonina i da velike količine 5-HT mogu biti rezultat kako smanjene razgradnje tako i smanjene depozicije. Naročito i izrazito je bio smanjen aktivitet MAO u jetri. Poznato je da je jetra najvažniji organ detoksifikacije egzogenih i endogenih supstanci. Kronično tretiranje morfinom iscrpljuje kompenzacione rezerve jetre i postoji velika mogućnost da u organizam prodru amini koji, kao što znamo, imaju znatnu farmakološka djelovanja.³¹

45. Aloksan

Aloksan je smanjivao količinu 5-HT i aktivitet MAO u svakom ispitivanom organu, pa se može zaključiti da u upotrijebljenim koncentracijama djeluje kao jak otrov na mnoge enzimske sisteme stanica, a među njima i na one koje stvaraju 5-HT i MAO. Aloksan je jedna od najjačih citostatičkih supstanci, koji ne oštećuje samo stanice pankreasa nego i stanice jetre i bubrega.¹⁸ Oblik dijabetesa ovisi o vrsti životinja, trajanju tretiranja, brzini injiciranja i putu unošenja. Aloksan je u ovom radu upotrijebljen da se ustanovi djelovanje apsolutnog hipoinzulizma na 5-HT i MAO, jer je poznato da mezoksalil urea naročito djeluje na beta-stanice Langerhansovih otoka. Ne može se, međutim, odvojiti direktno djelovanje aloksana i hipoinzulizma. Pošto aloksan ne prolazi hemoencefaličnu barijeru, to su promjene u CNS rezultat nedostatka inzulina. Jedino je primijećeno u mozgu da je signifikantno smanjen aktivitet MAO. Efekti u drugim organima su prije posljedica aloksana nego dijabetičnog efekta. Poliurija kod aloksanskog dijabetesa možda je jednim dijelom uslovljena smanjenjem količine 5-HT u organizmu, a napose u bubrezima.³¹

46. Hipertonija

Višenedjeljno davanje renina i noradrenalina dovodi do snažne dugotrajne hipertenzije. Hipertenzija je kao uzrok ili kao prateća pojava dovela do smanjenja 5-HT u svim organima. Smanjen je također aktivitet MAO u mozgu. Za razliku od aloksana, kod hipertenzije je povećan aktivitet MAO u bubregu. Poznato je da se neki inhibitori MAO upotrebljavaju za liječenje hipertenzije. Nije poznato u kojoj mjeri djeluju antihipertenzivi iz grupe inhibitora MAO na ovu oksidazu u bubrezima. Nije također poznato da li je glavni kardiovaskularni efekt pargilina djelovanje na MAO ili inhibiciju drugih enzima. Misli se da inhibitori djeluju na hepatske enzime.⁴² Uzroci smanjenja serotonina u hipertenziji mogu biti kompenzacioni efekt, tj. odbrana organizma i smanjeno stvaranje ili depozicija 5-HT pod uticajem antirenina. Može se, međutim, uzeti da je smanjenje 5-HT uzrok hipertenzije, jer je dokazano da 5-HT (60—120 ug) djeluje kod hipertoničara hipotenzivno.³⁸ Zanimljive su promjene otkrivene u CNS. Budući da noradrenalin ne prolazi hemoencefaličnu barijeru, to je signifikantno smanjenje aktiviteta MAO rezultat hipertoničkog procesa ili renina, a ne injiciranog noradrenalina.

47. Pirogeni, SKF-525-A i njihov uticaj na 5-HT i MAO

Pirogeni nisu izazvali promjenu količine 5-HT u četiri ispitivana organa. SKF-525-A djelovao je na uterus inhibirajući osjetljivost prema 5-HT. Postoji određena sličnost između pomenute dvije supstance: obje supstance povećavaju aktivitet MAO u mozgu, a smanjuju ga u jetri. Objе supstance prolaze hemoencefaličnu barijeru, pa je vjerovatno njihovo djelovanje u jetri i mozgu. Rezultati u ovom radu ukazuju da je moguće da dolazi do mobilizacije amina i povećanja osjetljivosti pojedinih receptora pod uticajem pirogena. SKF-525-A inhibira mikrozomalne enzime. Ova inhibicija se ostvaruje različitim putevima i mehanizmima. Djeluje na N-dealkilaciju, zatim na NADPH-sisteme, mikrozomalne i plazmaesteraze,³⁸ a kao što se vidi u ovom radu, inhibira oksidaze kao MAO. Na koji način povećava aktivitet MAO u mozgu — nije poznato. Iz ovih rezultata proizlazi da je jetra, najvažniji organ za detoksifikaciju u organizmu, bila najjače pogođena djelovanjem SKF-525-A. Oдавно je poznato da kod onih organizama kod kojih se jetra nalazi u hipofunkciji dolazi do produženog djelovanja eksozogenih aktivnih supstanci.

48. Generalna diskusija

U ovom radu ispitivana je promjena količine 5-HT i njegov inaktivirajući enzim u raznim patološkim procesima u smislu upoređivanja vrijednosti sa kontrolnim vrijednostima na zdravim štakorima. Organizam reagira da bi se zaštitio od uticaja raznih noksi na specifičan i nespecifičan način. U toj reakciji pojedini najvažniji organ (kao jetra) često toliko oslabe da je njihov zaštitni efekt u organizmu prema endogenim i egzogenim otrovnim supstancama tako malen da postoje otvorena vrata za diferentno djelovanje amina. U ovom radu je također pokazano da postoji autonomno reagiranje mozga i bubrega na različite nokse.⁴⁴

Model-oboljenja izazivaju promjene 5-HT i MAO, koji su uzeti kao važni biokemijski ekvivalenti. Izbor pomenuta dva faktora učinjen je zbog njihove svojevremene aktuelnosti. Organizam, kao što se je i očekivalo, prvo iskorištava mogućnosti kompenzacije, a kada se kompenzacija iscrpi, onda dolazi do sve većih oštećenja. Sve nokse su izazvale smanjenje aktiviteta MAO, izuzetak su povećani aktivitet u mozgu i bubregu. Uticaj na 5-HT različiti je: negdje je registrovano povećanje, a negdje smanjenje. Smanjenje je uvijek nađeno u crijevima i jetri, osim pod uticajem adrenalina. Povećanja su registrovana u bubrezima i mozgu.

ZAKLJUČAK

Izazivanje model-oboljenja i intoksikacije adrenalinom, morfinom, aloksanom, presorima, pirogenima i SKF-525-A dovelo je do stvaranja enzimopatija, toksikomaniya, dijabetesa i hipertenzije na štakorima. Upoređeni su rezultati dobiveni na zdravim štakorima sa rezultatima kod model-oboljenja. Mjereni su količina 5-HT i aktivitet MAO u bubregu, crijevu, jetri i mozgu.

Nađena su tri tipa reakcije. Adrenalin i morfin povećavaju količinu 5-HT, prvi u jetri i mozgu, a drugi u bubregu i crijevima. Oba izazivaju smanjenje aktiviteta MAO, izuzetno adrenalin povećava aktivitet MAO u bubregu. Aloksan i renin + noradrenalin spadaju u drugi tip supstanci; oni smanjuju količinu 5-HT u svim organima, odnosno smanjuju aktivitet MAO, izuzetno presori povećavaju aktivitet MAO u bubregu. Treći tip reakcije je nađen sa pirogenima i SKF-525-A. Oni smanjuju aktivitet MAO u jetri, a povećavaju ga u mozgu.

Tri su autonomna mjesta s obzirom na promjene 5-HT i MAO. Autonomno reaguju mozak, bubreg i organi probavnog trakta. U sva tri sistema postoji poseban sistem 5-HT.

Na izoliranom želucu štakora pokazano je da upotrijebljene supstance ne inhibiraju specifički 5-HT, a sve one imaju svoja posebna djelovanja. Tako je pokazano da prvi tip supstanci — adrenalin i morfin djeluju slično inhibitorno, aloksan i renin djeluju slično stimulatorno, dok SKF-525-A ima dvostruko djelovanje.

SEID HUKOVIC

HERVORRUFUNG DER MODELL-ERKRANKUNGEN UND FORSCHUNG KONSEKUTIVER VERÄNDERUNGEN DES SEROTONINS UND DER MONOAMINOXYDASE IN VERSCHIEDENEN GEWEBEN

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden Modell-Erkrankungen der Enzymopathie, Toxikomanie, Diabetes, Hypertensie hervorgerufen durch Injektionen von Substanzen wie Adrenalin, Morfin, Aloksan, Renin, Pirogene und SKF-525-A mit dem Ziel die Änderung von 5-HT und MAO festzustellen. Die Resultate die man bei injizierten Ratten im Hirn, Niere, Leber und Darm gewon-

nen hat, sind mit jenen bei gesunden Ratten verglichen. Dieselben Substanzen sind einzeln und in Kombinationen mit 5-HT in den isolierten innervierten Rattenmagen appliziert um den akuten Effekt und die gegenseitige Wirkung zu prüfen. Es wurde gefunden, dass Adrenalin und Morfin 5-HT vermehren, das erste in Leber und Hirn, und das zweite in Niere und Darm. Ebenso wurde festgestellt, dass beide Substanzen signifikant Aktivität der MAO vermindern (nur bei der Niere nicht). Zum Unterschied von diesem ersten Erkrankungstyp wurde bei diabetischen und hipertensiven Ratten ein Verkleinerung der 5-HT und der MAO-Aktivität festgestellt. Bei hipertensiven Ratten macht die Niere eine Ausnahme da man dort eine vermehrte Enzymaktivität feststellte. Pirogene und SKF-525-A wirken ähnlich — die Enzymaktivität in Leber vermindern und im Gehirn vergrößernd. In dieser Arbeit wurde über den Zusammenhang zwischen Veränderungen biochemischer Equivalente 5-HT und MAO Modell-Erkrankung. Resultate die wir *in vitro* bekamen, stimmen mit der Typisierung überein, d.h. Adrenalin und Morfin wirken ähnlich eins dem anderen, und Aloxan und Renin ebenso eins dem anderen ähnlich. Das erste Paar der Substanzen verkleinert den Effekt der Nervenstimulation und das zweite Paar vergrößert den erwähnten Effekt. Die einen und die anderen vermindern nicht den Effekt des Serotonins.

Tab. 1

KOLIČINA SEROTONINA POSLIJE VIŠENEDJELJNOG INJICIRANJA ADRENALINOM (1 mg/kg) ILI MORFINOM (5 mg/kg)

	Kontrola	Adrenalin	Morfin
Bubreg	* ** 67 ± 19	57 ± 40	1400 ± 1375 (0,05) ***
Mozak	93 ± 12	220 ± 93 (0,02)	92 ± 36
Jetra	109 ± 10	166 ± 36 (0,05)	183 ± 87
Crijevo	532 ± 43	538 ± 85	926 ± 267 (0,05)

* srednja vrijednost u ug/g svježeg tkiva

** standardna greška srednje vrijednosti

*** vjerovatnost slučajnog događaja.

Tab. 2

KOLIČINA SEROTONINA POSLIJE INJICIRANJA ALOKSANA I PRESORA (RENIN + NORADRENALIN) U ČETIRI ISPITIVANA ORGANA

	Kontrola	Aloxan	Renin + noradrenalin
Bubreg	67 ± 19	20 ± 12 (0,06)	75 ± 11
Mozak	93 ± 12	121 ± 15	52 ± 8 (0,05)
Jetra	109 ± 10	55 ± 42 (0,01)	120 ± 8
Crijevo	532 ± 43	384 ± 60 (0,02)	357 ± 29 (0,01)

Tab. 3

AKTIVITET MAO KOD ŠTAKORA TRETIRANIH ADRENALIHOM I MORFINOM

(potrošnja kisika u mikrolitrima na 0,17 g tkiva)

	Kontrola	Adrenalih	Morfin
	* **	***	
Bubreg	11 ± 1	18 ± 1 (0,01)	12 ± 3
Mozak	30 ± 3	22 ± 1 (0,01)	19 ± 3 (0,01)
Jetra	49 ± 6	29 ± 2 (0,02)	21 ± 6 (0,02)
Crijevo	10 ± 2	2 ± 2 (0,01)	0 ± 0 (0,02)

* prosjek potrošnje kisika (ul/0,17 g tkiva) na račun MAO

** standardna greška srednje vrijednosti

*** vjerovatnost slučajnog događaja

Tab. 4

AKTIVITET MAO KOD ŠTAKORA TRETIRANIH ALOKSANOM I PRESORIMA

(potrošnja kisika u ul/0,17 g tkiva na račun MAO)

	Kontrola	Aloksan	Renin + noradrenalin
Bubreg	11 ± 1	12 ± 5	18 ± 1 (0,01)
Mozak	30 ± 3	17 ± 3 (0,01)	22 ± 1 (0,01)
Jetra	49 ± 6	50 ± 5	29 ± 2 (0,02)
Crijevo	10 ± 2	4 ± 4 (0,05)	10 ± 9

Tab. 5

AKTIVITET MAO U ORGANIMA ŠTAKORA TRETIRANIH PIROGENIMA I SKF-525-A

(potrošnja kisika u ul/0,17 g homogeniziranog tkiva na račun MAO)

	Kontrola	Pirogeni	SKF-525-A
Bubreg	11 ± 1	20 ± 3 (0,01)	12 ± 5
Mozak	30 ± 3	24 ± 2 (0,05)	43 ± 2 (0,02)
Jetra	49 ± 6	36 ± 8	29 ± 4 (0,05)
Crijevo	10 ± 2	8 ± 1	5 ± 3

Tab. 6

**SIGNIFIKANTNO POVEĆANJE ILI SMANJENJE KOLICINE 5-HT I AKTIVITETA MAO U ČETIRI ORGANA
IZAZVANO RAZNIM SUPSTANCAMA**

	Bubreg		Crijevo		Jetra		Mozak	
	5-HT	MAO	5-HT	MAO	5-HT	MAO	5-HT	MAO
1. Adrenalin	Nesignif.	Povećanje	Nesignif.	Smanjenje	Nesignif.	Smanjenje	Nesignif.	Smanjenje
2. Morfin	Povećanje	Nesignif.	Povećanje	Smanjenje	Nesignif.	Smanjenje	Nesignif.	Smanjenje
3. Aloksan	Smanjenje	Nesignif.	Smanjenje	Smanjenje	Smanjenje	Nesignif.	Nesignif.	Smanjenje
4. Renin + noradren.	Nesignif.	Povećanje	Smanjenje	Nesignif.	Nesignif.	Nesignif.	Smanjenje	Smanjenje
5. Pirogeni	Nesignif.	Nesignif.	Nesignif.	Nesignif.	Nesignif.	Smanjenje	Nesignif.	Povećanje
6. SKF-525-A	Nesignif.	Nesignif.	Nesignif.	Nesignif.	Smanjenje	Smanjenje		Povećanje



LITERATURA

1. Akcasu A., Akcasu M. and Tumay S. B.: *Nature* 187, 324, 1960. cit. Garattini, S., Valzelli, L. »Serotonin«, Elsevier Publ. Comp., Amsterdam, London, New York, 1965.
2. Amin A. H., Crawford T. B. B. and Gaddum J. H.: The distribution of substance P and 5-hydroxytryptamine in the central nervous system of the dog. *J. Physiol.* 127, 596, 1954.
3. Aprison M. H.: Recent Advances in Biological Psychiatry, Grune and Stratton, New York, 1962, p. 4.
4. Arnaud Ph., Arnaud J. L., Loisy Cl. et J. Kofman: Sérotonine et glandes endocrines. In: »Sérotonine et pathologie digestive« Symposium de Vichy, Septembre 1968. Compagnie Fermière de Vichy, p. 157.
5. Baciocchi M., Grandmontagne O. and Rouaux J.: *Gaz. méd. France*, 1545, 1961. Cit. Garattini, S. and Valzelli, L. »Serotonin«, Elsevier Publ. Comp. Amsterdam, London, New York, 1965.
6. Bel A.: Serotonin and Dumping syndrome. In: Sérotonine et pathologie digestive«, Symposium de Vichy, Septembre, 1968, p. 233.
7. Beditt E. P.: 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxytryptophan decarboxylase in rat mast cells. In: Lewis, G. P. »5-Hydroxytryptamine«, Pergamon Press, New York, London, Paris, 1958, 32.
8. Blaschko H.: Amine oxidase and amine metabolism. *Pharmac. Rev.* 4, 415—458, 1952.
9. Bülbring E.: The intrinsic nervous system of the intestine and local effects of 5-Hydroxytryptamine. In: Regional neurochemistry. Edit. Kety, S. S. and Elkes, J., Pergamon Press, Oxford, 1961, 437—441.
10. Bülbring E. and Gershon M. D.: Serotonin participation in the vagal inhibitory pathway to the stomach. *Adv. Pharmac.* 6 A, 323—333, 1968.
11. Burn J. H., Finney D. J. e Bagnulo R.: Nuove indagini in tema di tossicosi aminiche in schizofrenici. *Acta Neurol.* 10, 547, 1955.
12. Chessin M., Kramer E. R. and Scott C. C.: Modification of the pharmacology of reserpine and serotonin by iproniazid. *J. Pharmacol. Therapeut.* 119, 453, 1957.
13. Colobert L., Arnaud J. L. et Arnaud Ph.: Les processus d'élimination de la sérotonine dans l'organisme humain. In: »Sérotonine et pathologie digestive« Symposium de Vichy, September, 1968, Compagnie Fermière de Vichy, 37.
14. Cotzias G. C. and Deple V. P.: Metabolism of amines. Microdetermination of MOO in tissues. *J. Biol. Chem.* 190, 665, 1951.
15. Cuvelier B., Arnaud J. L., Aublet-Cuvelier J., Aublet-Cuvelier A. M.: Responsibility of serotonin in the development of allergic phenomenon. In: »Sérotonine et pathologie digestive« Symposium de Vichy, September, 1968, Compagnie Fermière de Vichy, p. 123.
16. Dalgiesh C. E., Toh C. C. and Work T. S.: Smooth muscle stimulants from the gastrointestinal tract. Identification of 5-hydroxytryptamine and its distinction from substance P. *Biochem. J.* 52, 30, 1952.
17. Douglas W. W.: Histamine and antihistamines, 5-hydroxytryptamine and antagonists. In: Goodman, L. S. and Gilman, A. »The pharmacological basis of therapeutics« The Macmillan Comp. London, Toronto, 1970, p. 621.
18. Dunn J. S., Sheehan, H. L. and McLetchin, N. G. B.: Necrosis of islets of Langerhans produced experimentally. *Lancet*, I, 484, 1943.
19. Erspamer V.: Ricerca farmacologica sull'enteramina. VII. Enteramina e indolalchilamine del veleno di rospo. *Acho Sci. Biol.* 31, 86—95, 1946.

20. Erspamer V.: Il sistema cellulare enterocromafine e l'enteramina (5 idrossi triptamina). *Rendiconti Scient. Farmitalia* 1, 1, 1954.
21. Erspamer V.: Observation on the fate of exogenous 5-hydroxytryptamine (enteramin) in the rat. *J. Physiol.* 127, 118, 1955.
22. Feyertter F.: Über diffuse Endokrine Epitheliale Organ. *Tag d. Nord und osteutschen Pathologen Dresden*, 19, 12, 1938.
23. Fishel C. W. and Szentivanyi A.: An The absence of epinephrine induced hyperglycemia in pertussis-sensitized mice. *Federation Proc.* 21, 270, 1962.
24. Fischer R. A.: *Metodi statistici ad uso dei ricercatori*. U. T. E. T. Torine, 1948.
25. Gaddum J. H. and Hameed K. A.: Drugs which antagonize 5-hydroxytryptamine. *Brit. J. Pharmacol.* 9, 240—248, 1954.
26. Gaddum J. H. and Picarelli Z. P.: Two kinds of tryptamine receptor. *Brit. J. Pharmacol.* 12, 323, 1957.
27. Garattini S. and Valzelli L.: »Serotonin«, Elsevier Publ. Comp., Amsterdam, London, 1965.
28. Gillette J. R.: Biochemistry of drug oxidation and reduction by enzymes in hepatic endoplasmic reticulum. In: Garattini, S. and Shore, P. A. »Advances in Pharmacology« 4, 219—261, Academic Press, Inc. New York, 1966.
29. Hamalin K. E. and Fischer F. E.: The synthesis of 5-hydroxytryptamine. *J. Am. Cjem. Soc.* 73, 5007—5008, 1951.
30. Huković S., and Hallasmoller T.: The aplication effect of serotonin and other drugs on the mucous and serous membrane owing to the responses of the isolated stomach to electrical nerve stimulation. *Folia Medica Facultatis Medicinae Universitatis Saraveiensis* 6, 115—125, 1971.
31. Huković S.: Količina 5-hidroksitriptamina i aktivitet monoaminooksidaze u raznim procesima, mozga, jetre, bubrega i crijeva. *Disertacija*, Sarajevo, 1958.
32. Ivy A. C., Goetzi F. R., Harris S. C. and Burrill D. Y.: The analgesic effect of intracarotid and intravenous injection of epinephrine in dogs and of subcutaneous injection in man. *Q. Bull. N. West. Univ. med. Sch.* 18, 298—306, 1944.
33. Innes I. R. and Nickerson M.: Drugs acting on postganglionic adrenergic nerve endings and structures innervated by them (sympathomimetic drugs). In: Goodman, L. W. and Gilman, A. »The pharmacological basis of therapeutics« The Macmillan Comp. London, Toronto, 1970, p. 478.
34. Jouvet M. et Pujol J. F.: Role de la sérotonine dans la régulation de quelques systèmes de neurones centraux. In: »Sérotonine et pathologie digestive«, Symposium de Vichy, Septembre 1968, Compagnie Fermière de Vichy, p. 75.
35. Jouvet M.: Insomnia and decrease of cerebral 5-hydroxytryptamine after destruction of the raphe system in the cat. *Adv. Pharmacol.* 6B, 265—279, 1968.
36. Kärki N. T., Kuntzman R. and Brodie B. B.: *Federation Proc.* 19, 184, 1960.
37. Krnjević H.: Protektivno i kurativno djelovanje malih doza reserpina na eksperimentalni čir želuca kod štakora. *Disertacija*, Zagreb, 1971.
38. Lecomte J., Franchimont P.: Sur quelques action vasculaires de la 5-Hydroxytryptamine. In: »Sérotonine et pathologie digestive« Symposium de Vichy, Septembre 1968, Compagnie Fermière de Vichy, p. 135.
39. Pages A.: Serotonin and carcinoids. In: Sérotonine et pathologie digestive« Symposium de Vichy, Septembre 1968, Compagnie Fermière de Vichy, p. 187.

40. Pare C. M. B., Sandler M. and Stacey R. S.: *Lancet*, 1, 551, 1957.
41. Pineda A., and Snyder R. S.: *Neurology* 13, 166, 1956.
42. Rand M. J. and Trinker F. R.: The mechanism of the augmentation of responses to indirectly acting sympathomimetic amines by monoamine oxidase inhibitors. *Brit. J. Pharmac. Chemother.* 33, 287—303, 1968.
43. Rapport M. M., Green A. A. and I. H.: Serum vasoconstrictor (serotonin). IV. Isolation and characterization. *J. Biol. Chem.* 176, 1243—1251, 1948.
44. Rapport M. M.: Serum vasoconstrictor (serotonin). V. The presence of creatinine in the complex: a proposed study of the vasoconstrictor principle. *J. Biol. Chem.* 180, 961—969, 1949.
45. Scott K. G., Scheline R. R. and Stone R. S.: *Cancer Research*, 18, 927, 1958.
46. Sjoerdsma A., Smith T. E., Stefenson T. D. and Udenfriend S.: *Am. J. Med.* 20, 520, 1956.
47. Stacey R. S.: Red cells and 5-hydroxytryptamine. *J. Physiol.* 132, 39P, 1956.
48. Udenfriend S.: Metabolism of 5-hydroxytryptamine. In: Lewis, G. P. »5-Hydroxytryptamine« Pergamon Press, New York, London, 1958, p. 43.
49. Vane J. R.: A sensitive method for the assay of 5-hydroxytryptamin. *Brit. J. Pharmacol.* 12, 344, 1957.
50. Valzelli L. et Garattin S.: Acquisitions récentes dans le domaine de la biosynthèse de la sérotonine. In: »Sérotonine et pathologie digestive« Symposium de Vichy, Compagnie Fermière de Vichy, 1968, p. 27.
51. Vaughan M.: *Biol. Chem.* 235, 3049, 1960.
52. Verdesca A. S., Westermann C. D., Crampton R. S., Black W. C., Nedeljković R. I. and Hilton J. G.: *Am J. Physiol.* 201, 1965, 1961.
53. Way E. L., Loh H. H. and Shen F.: Morphine tolerance, physical dependence, and synthesis of brain 5-hydroxytryptamine. *Science N. Y.*, 162, 1290—1292, 1968.
54. Wooley D. W., Shaw E.: An biochemical and pharmacological suggestion about certain mental disorders. *Proc. National Acad. Sci.* 40, 228, 1954.

