



Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

**Uticaj alfa-adrenergične i opioidne blokade na funkciju vaskularnih beta-adrenoceptora u šoku: doktorska disertacija**

**Srkalović, Gordan**

**1987**

<https://bastina.anubih.ba/handle/123456789/844>

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

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

**UNIVERZITET U TUZLI  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Gordan Srkalović**

**UTICAJ ALFA-ADRENERGIČNE I OPIOIDNE BLOKADE NA FUNKCIJU  
VASKULARNIH BETA-ADRENOCEPTORA U ŠOKU**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**TUZLA, 1987. god.**

U N I V E R Z I T E T U T U Z L I  
M E D I C I N S K I F A K U L T E T

---

GORDAN SRKALOVIĆ

UTICAJ ALFA-ADRENERGIČNE I OPIOIDNE BLOKADE NA FUNKCIJU  
VASKULARNIH BETA-ADRENOCEPTORA U ŠOKU

DOKTORSKA DISERTACIJA

Tuzla, 1987. godine

"*BUDIMO REALNI,*

*TRAŽIMO NEMOGUĆE*"

(*Daniel Cohn-Benditt, 1968*)

Od trenutka kada sam ispisao zadnje slovo svog magistarskog rada (1984) nije mnogo novih spoznaja uneseno u obimni fond znanja o šoku. U ovom razdoblju su ipak sazrele dvije stvari vezane za moja lična istraživanja problematike šoka. Jedna, mnogo značajnija je činjenica da je opioidni sistem na velika vrata i krupnim koracima stupio na centralnu scenu šoka, na kojoj se povremeno i stidljivo počeo pojavljivati od 1978. od temeljnih radova Fadena i Holaday-a. Drugo, mnogo manje značajno, ali za mene lično vrlo važno je sazrijevanje moje intimne spoznaje da istraživanje ove važne problematike predstavlja čudni lavirint sa mnogo izlaza od kojih je svaki u isto vrijeme i pravi i lažni. Takođe sam shvatio da se na ovaj moj, a i na sve buduće radove koji istražuju šok može primijeniti rečenica sa prve strane rada. To me u isto vrijeme i obeshrabruje i oduševljava, jer omogućava čovjeku da ostane još izvjesno vrijeme izvan realnošću ograničene sadašnjosti i produži život u dječijem dobu. Sve to me čini istinskim zaljubljenikom problematike šoka na onaj isti mistični način, na koji je većina ljudi zaljubljena u oluju ili orkanski vjetar, koji su i opasni i zastrašujući, ali i uzbuđujući u isto vrijeme.

Mnogi autori osjećanja istraživača koji stoji pred problemom života i smrti, što šok svakako jeste, porede sa osjećanjem pečinskog čovjeka pred prirodnim katastrofama kojima je nijemi svjedok, bez mogućnosti da ih objasni i razumije. Ja ne znam kako se osjećao i o čemu je razmišljao moj predak i ne bih mogao prihvatiti to poredjenje u opisivanju mojih osjećanja pred tim problemom. Osjećaji panike i opijenosti koji me obuzimaju pri razmišljanju o problemu života i smrti mogu se porediti samo sa stanjem u koje svaki put zapadam kada obnavljam spoznaju kratkoće čovjekovih koraka u vječnom hodu vremena i izgubljenosti sitne čovjekove ličnosti u beskrajnu vasionu. Međutim, i u tim sitnim koracima i u toj beznačajnosti postojanja ima pravilnosti, stalnosti i evolucije, isto kao što u razvoju ljudske misli postoji napredak, širenje i obogaćivanje spoznaja što čovjeku inficiranom traženjem razbija bedem beznadnosti i daje nadu da mu život ne protiče uludu.

Najtoplije se zahvaljujem,

- mojim mentorima, prof. dr Muhidinu Hamadžiću i prof. dr Muzaferu Mujiću, kao i šefu Zavoda za fiziologiju Medicinskog fakulteta u Tuzli, prof. dr Dinku Sušiću na stalnoj brizi i savjetima,
- ass. Emiru Duziću i doc. dr Josipu Krniću na neprocjenjivoj pomoći i podršci,
- mojim učiteljima, prof. dr Vojislavu Magazinoviću i prof. dr Vladislavu Varagiću, jer su me uputili u osnovne tajne fiziologije i farmakologije,
- kolektivu Zavoda za fiziologiju Veterinarskog fakulteta u Sarajevu, gdje je ovaj rad u potpunosti urađjen,
- kolektivu Zavoda za fiziologiju Medicinskog fakulteta u Tuzli na saradnji i strpljivosti,
- prof. dr Huseinu Sušiću, kao i nastavnicima Instituta za fiziologiju i biohemiju" Dr Aleksandar Sabovljev" Medicinskog fakulteta u Sarajevu na pomoći pri izvodjenju eksperimentalnog dijela rada,
- mojim dragim drugovima Emiru, Slobi i Joci, kao i prijateljima i saradnicima Olgici, Darku, Fudi i Evi na pomoći i podršci.

Kažu da iza svakog uspješnog muškarca stoji žena. Iza mene su stajale tri, moja majka i moje - Vesna i Iris. Njima posvećujem ovaj rad.

## S A D R Ž A J

	strana
1. UVOD - - - - -	1
1.1 Hemoragični šok, definicija problema - - - - -	1
1.1.1 Vaskularna dekompenzacija u hemoragičnom šoku - - - - -	1
1.2 Vaskularni adrenoceptori - - - - -	4
1.2.1 Uvod - - - - -	5
1.2.2 Vaskularni alfa-adrenoceptori u šoku - - - - -	6
1.2.2.1 Alfa-adrenergička blokada u šoku - - - - -	7
1.2.3 Vaskularni beta-adrenoceptori - - - - -	8
1.2.3.1 Subklasifikacija beta-adrenoceptora - - - - -	8
1.2.3.2 Strukturalna i funkcionalna osnova beta-adrenoceptora - - - - -	9
1.2.3.3 Regulacija funkcije beta-adrenoceptora - - - - -	11
1.2.3.4 Značaj perifernih vaskularnih beta-adrenoceptora u šoku - - - - -	13
1.3 Opioidni sistem - - - - -	15
1.3.1 Uvod - - - - -	15
1.3.2 Opioidni peptidi - - - - -	16
1.3.3 Opioidni receptori - - - - -	18
1.3.4 Opioidni peptidi i kardiovaskularni sistem - - - - -	20
1.3.5 Opioidni peptidi u šoku - - - - -	22
1.3.5.1 Nalokson i šok - - - - -	22
1.3.5.2 Koji opioidni peptidi, a koji opioidni receptori su vezani za promjene u šoku - - - - -	26
2. CILJ RADA - - - - -	27
3. HIPOTEZA - - - - -	29
4. MATERIJAL I METODA - - - - -	30
4.1 Hirurška procedura - - - - -	30
4.2 Registracija parametara - - - - -	31
4.2.1 Hemodinamski parametri - - - - -	31
4.2.2 Ostali parametri - - - - -	31

4.3 Tok eksperimenta - - - - -	32
4.3.1 Alfa-adrenergička blokada fenoksibenzaminom (PBZ) - -	32
4.3.2 Opioidna blokada naloksona - - - - -	34
4.3.3 Eksperimenti sa d-Ala-d-Leu-enkefalinom (DADLE) - - -	34
4.4 Obrada rezultata - - - - -	35
4.5 Korišćene supstance - - - - -	36
5. REZULTATI - - - - -	37
5.1 Alfa-adrenergička blokada sa fenoksibenzaminom (PBZ) - - - -	37
5.2 Opioidna blokada naloksonom - - - - -	48
5.3 Uticaj infuzije enkefalina - - - - -	62
6. DISKUSIJA - - - - -	72
ZAKLJUČCI - - - - -	98
LITERATURA	
SAŽETAK	
SUMMARY	

## 1. UVOD

### 1.1 HEMORAGIČNI ŠOK. DEFINICIJA PROBLEMA

W i g g e r s (1950) je sakupljajući do tada nataloženo iskustvo u proučavanju šoka, na kraju postavio ključno pitanje koje je odredilo sva dalja istraživanja ovog problema: "Ako jednostavna nadoknada volumena ne može da zaustavi neminovni hod progresije hemoragičnog šoka prema egzitusu, koji to mehanizam stoji u pozadini ireverzibiliteta?". Drugo ključno pitanje koje zaokuplja misli svih istraživača koji su imali tu nesreću da ih zaintrigira problem koji ne pozna ni vremenske ni prostorne granice, radja se iz rada W i g g e r s-a i I n g r a h a m-a (1946) i glasi: "Šta se može, ukoliko se uopšte nešto može, učiniti da se ireverzibilitet preokrene u reverzibilitet"? Umetnuta rečenica "ukoliko se uopšte nešto može" govori dovoljno o težini problema sa kojim se susreo Wiggers, sigurno najslavnije ime na polju proučavanja hemoragičnog šoka. Ne može se reći da je to izraz rezigniranosti, jer se radi o naučniku koji je i poslije tih riječi mnogo uradio, posebno na polju osavremenjavanja metodologije istraživanja šoka, već se više radi o realnom sagledavanju problema koji više imponuje kao divljanje razularene prirode po zahvaćenom organizmu, nego što se radi o bolesti u klasičnom smislu riječi. U sljedećem poglavlju pokušaćemo da sumiramo znanja o mehanizmima koji stoje iza razvoja vaskularne dekompenzacije u šoku, koja bi mogla biti najznačajniji faktor nastanka "ireverzibilnog šoka".

#### 1.1.1 VASKULARNA DEKOMPENZACIJA U HEMORAGIČNOM ŠOKU

Centralno mjesto u patofiziologiji hemoragičnog šoka zauzima pitanje cirkulacionog sloma ili pitanje trenutka prelaza reverzibilnog u ireverzibilno stanje. W i g g e r s, još 1956.

godine, pretpostavlja da je smanjenje venskog povrata jedan od glavnih uzroka cirkulacionog sloma u toku hemoragije. Z w e i f a c h i F r o n e k (1975) dolaze do sličnog zaključka. Po njihovom mišljenju slom srčane funkcije je tek rezultat koronarne hipoperfuzije, a glavni uzrok poremećaja funkcije perifernih organa u subletalnom tipu šoka, koji najbolje korespondira sa prirodnim stanjem, je slom venskog povrata. B o n d i sar. (1986) naglasak stavljaju na progresivnom porastu vaskularne provodljivosti u skeletnim mišićima, što po njima predstavlja glavni uzrok cirkulacionog sloma. Taj porast bi mogao biti ili metabolički uslovljen ili je rezultat smanjene simpatičke stimulacije vaskularnih glatkih mišića u ovim tkivima. Takodje, kao jedna od mogućnosti uzima se u obzir i lokalna produkcija prostaglandina E<sub>1</sub> (B o n d et al., 1979). Centralni mehanizmi, takodje, ne mogu biti isključeni. L o m b a r d i sar. (1977) smatraju da postoji direktna veza između pada koncentracije kateholamina u malim arterijama i venama i sloma reaktivnosti rezistentnih i kapacitativnih sudova i sljedstvenog usisavanja krvi iz rezervoara u eksperimentu, što najvjerojatnije koincidira sa nastankom "ireverzibiliteta" u šoku (B a c a l z o et al., 1970). Medjutim, ne treba zaboraviti ni hiperpolarizaciju glatkih mišića krvnih sudova primjećenu u dekompenzatornom stadiju hemoragične hipotenzije (S t e k i e l and W i l l e m s, 1970), koja, takodje, može imati značajan uticaj na pojavu gubitka tonusa krvnih sudova. Značajna je i činjenica da se gubitak sinaptičke transmisije dešava rano u izoliranim simpatičkim ganglijima izloženim anoksiji i nedostatnoj prehrani (L a r a b e e et al., 1957). M e l l a n d e r i L e w i s (1963) smatraju da akumulacija metabolita u toku šoka dovodi do ekstremne vazodilatacije i da to rezultira padom vaskularne reaktivnosti. Ne treba, u svakom slučaju, izostaviti ni uticaj acidoze u smislu značajnijeg modifikovanja reaktivnosti krvnih sudova. W a l t o n i sar. (1959) smatraju da acidoza nije uzrok refraktarnosti krvnih sudova sama po sebi, ali da je favorizujući faktor.

Ne treba svakako zaboraviti ni doprinos splahnjičkog područja nastanku vaskularne dekompenzacije. Još 1957. godine je L i l l e h e i dao koncept "intestinalnog faktora" u šoku,

oslanjajući se na eksperimente u kojima je životinja izložena hemoragiji preživljavala ukoliko je bila vršena perfuzija crijeva preko art. mezenterike sup. pod početnim tj. normalnim pritiskom. L e f e r (1970) dalje razradjuje ovu hipotezu dokazom postojanja "Myocardial depressant factor" (MDF) oslobodjenog iz splahnličkog područja, koji autor proglašava glavnim uzročnikom vaskularnog sloma u šoku. S druge strane, i dalje je aktuelno pitanje: da li perzistentno povećanje otpora u mezenteričkoj vaskularizaciji predstavlja kauzalni faktor razvoja ireverzibilnih promjena u hemoragičnom šoku. F e l l (1966) smatra da se ne smije donijeti takav zaključak s obzirom na ponašanja koja u određenom broju eksperimenata odstupaju. I mi smo u našim radovima pristupali ovom problemu (S r k a l o v i ć et al., 1985), i na osnovu naših rezultata zaključili smo da promjene u mezenteričkoj vaskularizaciji nisu glavni uzrok vaskularne deteriorizacije u šoku, ali da svakako doprinose tim promjenama.

Na kraju se možemo prikloniti sistematizaciji mehanizama, kao i potencijalnih uzroka gubitka neurogenog tonusa kao glavnog uzroka gubitka reaktivnosti vaskularizacije, koju iznose S t e k i e l i sar. (1980):

1. gubitak transmisije impulsa u adrenergičkoj neuromuskularnoj vezi,
2. gubitak kontrole CNS nad simpatičkom eferentnom aktivnošću,
3. prestanak provodjenja u perifernim nervima,
4. postsinaptička alfa-adrenergička receptorska desenzitizacija ili destrukcija (koja je najmanje vjerovatna, s obzirom na nismo u našim radovima mogli dokazati desenzitizaciju, a posebno ne destrukciju alfa-adrenoceptora (S r k a l o v i ć et al., 1985) - primjedba autora,
5. presinaptička inhibicija oslobadjanja adrenalina,
6. vazoinhibitorna nervna aktivnost,
7. ishemička oštećenja vaskularnog mišića ili hipoksička ograničenja njegovog kontraktilnog mehanizma,

što takodje spada u manje vjerovatne mehanizma, s obzirom na činjenicu da se vazokonstriktorni odgovor vaskularizacije (bar mezenteričke) održava, iako u manjoj mjeri tokom cijele hipotenzije (S r k a l o v i ć, 1984) - primjedba autora.

## 1.2 VASKULARNI ADRENOCEPTORI

Poslije klasičnih postavki B a r g e r-a i D a l e-a, A h l q u i s t je 1948. godine postavio teoriju dva odvojena, različito osjetljiva receptora za kateholamine koje je nazvao alfa i beta. L a n d s i sar. (1967) dalje kategoriziraju beta-adrenoceptore kao  $\beta_1$  i  $\beta_2$ , pri čemu  $\beta_1$ -adrenoceptori dominiraju u srčanom tkivu, dok  $\beta_2$ -predominiraju u glatkim mišićima i u žljezdama. Podjela alfa-adrenoceptora je unekoliko drugačija, jer se ne zasniva na tkivnoj specifičnosti, niti na razlici u odgovoru na kateholamine. Alfa<sub>2</sub>-adrenoceptori su za razliku od klasičnih alfa<sub>1</sub>-, locirani na adrenergičkim nervnim završecima i na postsinaptičkoj membrani, ali donekle ekstrasinaptički. Funkcija presinaptičkih alfa<sub>2</sub>-adrenoceptora je regulisana mehanizmom povratne sprege ovisne o koncentraciji kateholamina (L a n g e r, 1974; S t a r k e, 1977). Djelovanje lijekova se zasniva na konformacionim promjenama receptora koje oni izazivaju (B i r d s a l l et al., 1978, 1979; B u r g e n, 1979).

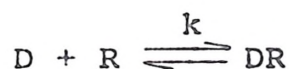
Aktivacija vaskularnih beta-adrenoceptora uvijek ima inhibitorni (relaksirajući) efekt, za razliku od alfa aktivacije, koja u većini slučajeva rezultira stimulacijom (kontrakcijom). Efektorni mehanizmi u glatkim mišićima se pokreću promjenama membranskog potencijala izazvanim lijekovima, svakako u vezi sa promjenama jonskog transporta kroz ćelijsku membranu (B u r g e n, 1979). Pri tome je  $\text{Na}^+$  glavni jon nosač depolarizacionog potencijala u glatkim mišićima krvnih sudova (K e a t i n g e, 1968). Sistem koji je sigurno uključen u odgovor glatkih mišića je sistem adenilat ciklaze (B u r g e n, 1979). Ključni faktor u aktivaciji kontraktilnih proteina je kao i kod poprečno-prugastih mišića rast koncentracije slobodnog  $\text{Ca}^{2+}$  u citoplazmi (E n d o et al., 1977) u odnosu na početnu koncentraciju koja je oko  $10^{-7}$  M.

U glatkom mišiću je u taj proces još uključen i specifični regulatorni protein kalmodulin.

### 1.2.1 UVOD

Koncept receptora je neophodan za objašnjenje djelovanja raznih agensa na glatke mišiće i druga tkiva. Receptor mora zadovoljavati dva uslova: (1) prepoznavanje hemijskih osobina lijeka koji tvori sa njim kompleks lijek-receptor i, (2) formiranje ovog kompleksa treba da inicira fiziološke promjene u ćeliji ili da blokiranjem tih promjena prevenira djelovanje agonista ili fizioloških transmitera (B u r g e n, 1979). Mnogi modeli su upotrebljeni da bi se razjasnila kompleksnost interakcije lijek-receptor. Najčešće se koristi "okupaciona" teorija po kojoj zauzimanje receptora agonistom vodi stimulanju i slijedećem odgovoru (K e n a k i n, 1984). Alternativa ovoj hipotezi je "rate" teorija prema kojoj je efikasnost određena stepenom interakcije lijeka i receptora (P a t o n, 1961). Ovaj koncept dalje razradjuje G o s s e l i n (1968) u svojoj teoriji "inaktivacije receptora". Ovaj kompleksni problem je objašnjavan i teorijama "konformacione perturbacije" (B e l l e a u, 1964), zatim "dinamike receptora" (B l o o m and G o l d m a n, 1966), hipotezom "nosača toka" (M a c k a y, 1966), modelom "jonske razmjene" (T a y l o r et al., 1970) i hipotezom "mobilnog receptora" (C u a t r e c a s a s, 1974).

Formiranje kompleksa lijek - receptor je određeno zakonom akcije masa:



na osnovu kojeg je frakcija receptora okupirana od strane lijeka data izrazom:

$$f(DR) = \frac{kD}{kD + 1} \quad (K e n a k i n, 1984)$$

Na osnovu ovih izraza izvedena je jednačina za odgovor (r) na stimulaciju receptora:

$$r = \frac{K_D D_I}{K_D D_I + 1} = \frac{K_D D_2}{K_D D_2 + K_A A + 1} \quad (\text{K e n a k i n, 1984})$$

gdje je:

$K_D$  - konstanta afiniteta za agonistu,  
 $D_1$  i  $D_2$  - koncentracije agonista,  
 $K_A$  - konstanta afiniteta za antagonistu,  
 $A$  - koncentracija antagoniste.

Eliminiranjem  $K_D$  nastaje jednostavan odnos:

$$\text{odnos doza} = \frac{D_2}{D_1} = K_A A + 1$$

Ovaj jednostavni odnos daje teoretsku osnovu za farmakološki pristup analizi receptora upotrebom specifičnih agonista i antagonista.

### 1.2.2 VASKULARNI ALFA-ADRENOCEPTORI U ŠOKU

Fiziološka uloga postsinaptičkih vaskularnih alfa<sub>1</sub>-adrenoceptora koji su locirani unutar sinaptičkog prostora je, izgleda, održavanje bazalnog vaskularnog tonusa i oni reaguju uglavnom na noradrenalin (NA) oslobodjen iz simpatičkih nerava. Fiziološka uloga ekstrasinaptičkih alfa<sub>2</sub>-adrenoceptora nije do kraja razjašnjena. Pretpostavka je da ovi receptori odgovaraju na stimulaciju od strane adrenalina (A) koji funkcionira kao krvni hormon (L a n ĝ e r and S h e p p e r s o n, 1982). U stresu nivo cirkulirajućih kateholamina može biti toliko povišen da dostiže nivo potreban za stimulaciju ovih, inače znatno manje osjetljivih receptora (R u f f o l o, 1985). Prema tome, veličina adrenergički induciranog kompenzatornog odgovora na hemoragičnu hipotenziju je suma efekata povećanog nivoa plazmatskih kateholamina na ekstrasinaptičke alfa<sub>2</sub>-adrenoceptore i nervnog uticaja na alfa<sub>1</sub>-adrenoceptore na vaskularnim membranama (B o n d and J o h n s o n, 1985). Aktivacija ekstrasinaptičkih alfa<sub>2</sub>-adrenoceptora započinje

seriju celularnih i subcelularnih procesa koji rezultiraju povećanjem vaskularnog tonusa (B o n d and J o h n s o n, 1984). Takodje i aktivacija postsinaptičkih alfa<sub>1</sub>-adrenoceptora rezultira povećanim vaskularnim tonusom (G e f f e n, 1967). Mehanizam nastanka vaskularne dekompenzacije, kao što je već rečeno, ostaje i dalje najveća nepoznanica u razmatranju patofiziologije hemoragičnog šoka. Među mnogobrojnim mehanizmima koji su proglašavani odgovornim za nastanak ovog fenomena, značajno mjesto zauzimaju teorije koje uključuju funkcionalnost alfa-adrenoceptora. Prema I r v i n g - u (1969) uloga alfa-adrenoceptora u vaskularnoj dekompenzaciji je dominantna. Prema B o n d u i J o h n s o n u (1984) dekompenzacija nastaje kao rezultat gubitka tonusa krvnih sudova. To bi moglo biti posljedica povećane sinteze i oslobadjanja prostaglandina E serije, pod uticajem jake adrenergičke stimulacije. PGE<sub>2</sub>, u nastavku, smanjuje dalje oslobadjanje NA iz presinaptičkih završetaka (F a n e and H e d q u - i s t, 1975). Rakodje, redukcija oslobadjanja NA iz presinaptičkih završetaka može biti posljedica stimulisanja presinaptičkih alfa<sub>2</sub>-adrenoceptora visokim plazmatskim nivoom kateholamina i povećanim oslobadjanjem NA iz presinapse (L a n g e r, 1981). Ova dvostruka inhibicija bi znatno smanjila participaciju alfa<sub>1</sub>-adrenoceptora u kompenzatornom vazokonstriktornom odgovoru na hemoragiju, što bi moglo dovesti do gubitaka tonusa i nastanka dekompenzacije (B o n d and J o h n s o n, 1984). Ne bismo se mogli u potpunosti složiti sa ovom teorijom, s obzirom na brojne mehanizme koji su nabrojani u prethodnom poglavlju koje je obradivalo fenomen vaskularne dokompenzacije. Ovu teoriju donekle opovrgava i postojanje beneficijelnog djelovanja alfa-adrenergičke blokade na preživljavanje u šoku. Radije bismo smanjivanje oslobadjanja NA iz presinapse u šoku objasnili zaštitnim odgovorom organizma na ekscesivnu adrenergičku stimulaciju koja je počela u odredjenom trenutku ugrožavati život organizma u hipotenziji.

#### 1.2.2.1 ALFA-ADRENERGIČKA BLOKADA U ŠOKU

Još su L i l l e h e i i sar. (1964) pokazali da ireverzibilni antagonista alfa-adrenoceptora fenoksibenzamin povećava preživljavanje u hemoragičnom šoku. D a L u z i sar. (1973) to isto pokazuju i za fentolamin, drugog alfa-adrenergič-

kog antagonistu. Takodje u alfa-antagoniste spadaju i ergot alkaloidi koji su kao alfa antagonisti prvi i otkriveni (W i e n e r, 1980), a pokazali su beneficijelno dejstvo na odredjene parametre u šoku (U n k o v i ć - Č o m a r a et al., 1985). Pozitivno djelovanje ovih supstanci u šoku uglavnom se zasniva na efektima na mikrocirkulaciju. Fenoksibenzamin svojim selektivnim djelovanjem na prekapilarni i postkapilarni segment mikrocirkulacije povećava vrijednost protoka krvi kroz kapilare i poboljšava tkivnu perfuziju (G o u r z i s and N i c k e r s o n, 1967). Takodje je primijećeno da fenoksibenzamin povećava protok krvi kroz splahnjički i renalni vaskularni sistem (W i e n e r, 1980), a vrlo značajan je efekt ove supstance u smislu preveniranja smanjenja protoka krvi kroz CNS koji hemoragija inače izaziva (K o v a c h and S a n d o r, 1976). Ne treba zaboraviti ni izrazito poboljšanje acidobaznih i drugih biohemijskih parametara u šoku poslije tretmana fenoksibenzaminom (K r n i ć et al., 1983). Slično poboljšanje acidobaznih parametara, kao i odredjeno pozitivno inotropno djelovanje pokazuje i drugi alfa-blokator fentolamin (L i u et al., 1984), a i ergot alkaloidi imaju uticaja na biohemijske parametre u šoku (U n k o v i ć - Č o m a r a et al., 1986). Fenoksibenzamin, pored blokiranja alfa-adrenoceptora, inhibira neneuronalno "uklanjanje" (Uptake<sub>2</sub>) kateholamina, a donekle i neuronalno (Uptake<sub>1</sub>) (T r e n d e l e n b u r g, 1986).

### 1.2.3 VASKULARNI BETA-ADRENOCEPTORI

#### 1.2.3.1 SUBKLASIFIKACIJA BETA-ADRENOCEPTORA

L a n d s i sar. (1967) su prvi dali dokaze za postojanje dva tipa (subtipa) beta-adrenoceptora koje su nazvali beta<sub>1</sub> i beta<sub>2</sub>. Ova dva subtipa su razdvojena na osnovu relativnog afiniteta za adrenalin i noradrenalin. Beta<sub>1</sub>-adrenoceptori su pokazivali približno jednak odgovor na ekvipotentne doze i adrenalina i noradrenalina, dok su beta<sub>2</sub>-adrenoceptori smješteni u trahealnim i vaskularnim glatkim mišićima davali znatniji odgovor na adrenalin. Novija ispitivanja pokazuju da u osnovi ove razlike u reakciji

beta<sub>2</sub>-adrenoceptora leži manji afinitet noradrenalina (NA) za beta<sub>2</sub>-, no za beta<sub>1</sub>- adrenoceptore, dok je efikasnost (efficacy) identična u oba sub tipa receptora (M c P h e r s o n et al., 1985). Početni, opšteuvaženi koncept homogenosti subtipova beta-adrenoceptora u pojedinim organima srušen je radovima C a r l s s o n a i sar. (1972) u kojima su dati farmakološki dokazi za postojanje oba subtipa istovremeno u mačjem srcu. Ipak je zaključeno da uglavnom jedan subtip dominira u pojedinom organu. Takodje, to ne znači da su oba subtipa beta-adrenoceptora obavezno prisutna na pojedinačnom ćelijskom tipu, jer su organi sisara sastavljeni od heterogene populacije ćelija (S t i l e s et al., 1984).

Lokacija beta-adrenoceptora unutar sinapse može biti dvojaka, pre- i postsinaptička. Presinaptički beta-adrenoceptori su uključeni u kontrolni mehanizam oslobađanja NA, kao medijatori pozitivne povratne kontrole simpatičke neurotransmisije (W e i n s t o c k et al., 1978). Primjenjivost subklasifikacije beta-adrenoceptora (beta<sub>1</sub> i beta<sub>2</sub>) na presinaptičke beta-adrenoceptore nije apsolutna, djelomično i zato što nedostaje klasična farmakološka determinacija pA<sub>2</sub> vrijednosti za različite antagoniste ovih receptora. Interesantno je da postoji razlika u subtipu receptora koji funkcionišu kao presinaptički u eksperimentima in vivo i in vitro. In vivo eksperimenti ukazuju da bi presinaptički beta-adrenoceptori mogli biti beta<sub>1</sub> subtip, dok se in vitro ponašaju kao da su beta<sub>2</sub> subtip (D a h l ö f, 1981). Objašnjenje za ovaj fenomen bi moglo biti u činjenici da oba tipa učestvuju kao medijatori pozitivne povratne sprege oslobađanja NA, uz vjerovatno drugačiju lokalizaciju unutar sinapse. Beta<sub>1</sub>-adrenoceptori bi bilo locirani na proksimalnom dijelu simpatičkog nervnog pleksusa, dok bi beta<sub>2</sub>-subtip bio lociran direktno na presinaptičkoj membrani simpatičkog nervnog terminala (D a h l ö f, 1981).

### 1.2.3.2 STRUKTURALNA I FUNKCIONALNA OSNOVA BETA-ADRENOCEPTORA

U osnovi funkcionalnosti i beta<sub>1</sub>- i beta<sub>2</sub>-adrenoceptora jeste stimulacija enzima adenilat-ciklaze vezanog za membranu, što

vodi povećanoj intracelularnoj akumulaciji cikličkog AMP-a (cAMP) koji se smatra "drugim glasnikom" beta-adrenoceptorne aktivnosti u svim ispitivanim tkivima (S t i l e s et al., 1984). Adenilat-ciklaza vezana za beta-adrenoceptore se sastoji iz najmanje tri proteina: (1) površinskog receptora (R), (2) katalitičkog proteina (C) i (3) proteina vezanog za guanin nukleotid (G/F) (Harden, 1983). Površinski receptor (R), na koji se vezuje hormon može stimulirati ili inhibirati enzimsku aktivnost. Hemijski, radi se o polipeptidu, vjerovatno glikopeptidu, pošto vezuje imobilizirane lektine (S t a d e l et al., 1983). Vjerovatna molekulska težina ovog polipeptida je oko 58.000, međjutim, još uvijek nije jasno da li ovi površinski receptori egzistiraju kao monomeri ili polimeri (S t i l e s et al., 1984). Druga komponenta ovog sistema je katalitički protein (C), koji, kada je aktiviran prevodi ATP u cAMP. Radi se o termostabilnom N-etilmaleimid senzitivnom proteinu ( $M_T$  - 120-150.000), koji je važan u prenosu stimulusa do "drugog glasnika" (cAMP). Treća komponenta adenilat-ciklaznog kompleksa je protein vezan za guanin nukleotid (G/F). To je heterodimer sastavljen od subjedinica alfa i beta, molekulske težine 45-52.000 i 35.000, odnosno. Alfa subjedinica ima guanin nukleotid-vezujuće mjesto. G/F može biti i stimulatorni i inhibitorni. Izgleda da postoji i strukturna, a ne samo funkcionalna razlika u ova dva G/F tipa (S t i l e s et al., 1984). Beta subjedinica je izgleda zajednička za oba tipa G/F (K o t a d a et al., 1983). Izgleda da alfa subjedinica inhibitornog G/F ima nešto manju molekulsku težinu nego u stimulatornom G/F ( $M_T$  - 41.000). Ostaje još uvijek otvoreno pitanje slijeda događaja poslije aktiviranja stimulatornog G/F. Mehanizam daljeg razvoja događaja može biti asocijativni ili disocijativni (S k o r e c k i et al., 1986). Vjerovatniji je prema ovim autorima disocijativni put, koji podrazumijeva razlaganje subjedinica u aktiviranom enzimu izazvano vezivanjem hormona sa receptorom.

Bazirano na originalnom konceptu C a s s e l-a i sar. (1977), H a r d e n (1983) je razvio model funkcionisanja beta-adrenoceptora, koji je u ovom radu unekoliko dopunjen novijim saznanjima (S e v e r n e et al., 1986).

Funkcionalno vezivanje receptorne molekule (R) i proteina vezanog za guanin nukleotid (G/F) je neophodna stepenica u putu aktivacije adenilat ciklaze (L e f k o w i t z et al., 1983). U odsustvu hormona ili lijeka sistem se održava na bazalnom nivou, kada je sa G/F udružen GDP. Vezivanjem hormona ili lijeka sa površinskim receptorom (R) započinju konformacione promjene i R i G/F komponente enzima. Receptorska molekula mijenja konformaciju ovisno o agonistu, dok jedna ili više sulfhidrilnih grupa G/F postaje prijemčiva za alkilirajući agens N-etilmaleimid. Alkilacija ovih grupa stabilizira H (hormon)-R-G/F kompleks, koji postaje vezivanjem hormona (H) na R. Pri tome se oslobadja GDP, a u ciklus ulazi GTP koji vezivanjem na kompleks H-R-G/F dovodi do disocijacije kompleksa na H-R i G/F-GTP. Znači da je osnovna uloga receptorske molekule omogućavanje stvaranja G/F-GTP kompleksa. Ovaj kompleks se vezuje na C protein i nastaje aktivni enzimski kompleks najvjerojatnije mehanizmom disocijacije. Zadnja stepenica aktivacije sistema je djelovanje aktiviranog C proteina i nastanak cAMP iz ATP.

### 1.2.3.3 REGULACIJA FUNKCIJE BETA-ADRENOCEPTORA

Regulacija funkcije beta-adrenoceptora može biti kratkoročna i dugoročna. Kratkoročna se vezuje najčešće za promjenu broja ili koncentracije receptora u plazmatskim membranama interanalizacijom (translokacijom) receptora unutar membrane ili drugih intracelularnih odjela (S u et al., 1980). Dugoročnija regulacija je vjerovatno određena veličinom sinteze i/ili razgradnje receptora. Izgleda da je ova regulacija vezana za genetsku transkripciju beta-adrenoceptora. Regulacija funkcije beta-adrenoceptora se dijeli i na homolognu regulaciju, uslovljenu promjenama koncentracije receptora u tkivu pod uticajem hormona ili lijekova koji se vezuju za ove receptore, i heterolognu, pod uticajem supstanci koje se obično ne vezuju na same receptore. Homologna regulacija obuhvata procese kao što su desenzitizacija, denervacija i "propranolol withdrawal" sindrom. Heterologna regulacija dolazi do izražaja pod uticajem brojnih hormona (tiroidni hormoni, gonadni steroidi, kortikosteroidi), raznih patoloških stanja (astma, hipertenzija, srčana oboljenja), lijekova, starenja, rastenja

(S t i l e s et al., 1984). Dva najinteresantnija mehanizma su desenzitizacija i denervacija. Dva odvojena mehanizma mogu biti odgovorna za fenomen desenzitizacije definisane kao stanje smanjenog odgovora na hormonalnu stimulaciju poslije prethodnog izlaganja agonističkim hormonima ili lijekovima. Jedan od mogućih mehanizama je tzv. "down regulacija" ili internalizacija receptora putem endocitotskog procesa (C h u a n g and C o s t a, 1979). Ponovno vraćanje receptora na površinu u nekim slučajevima nastaje poslije uklanjanja agoniste (M u k - h e r j e e et al., 1976), a u drugim je neophodna "de novo" sinteza receptora u ćeliji (D o s s et al., 1981). Drugi mogući mehanizam desenzitizacije je tzv. "razdvajanje" receptorskog proteina (R) od drugih subjedinica enzimskog kompleksa, što onemogućava funkciju prenosa informacija sa površine ćelije do sistema "drugog glasnika" (cAMP) (W a l d o et al., 1983).

Denervacija, kao mehanizam homologne regulacije, vodi hipersenzitivnosti, kao i "propranolol withdrawal" sindrom, najvjerovatnije tzv. "up" regulacijom receptora, koja se sastoji u sintezi novih receptorskih molekula i njihovom transportu do površine ćelije.

Stimulacija presinaptičkih beta-adrenoceptora povećava intraneuronalni sadržaj cAMP, što dalje može olakšavati egzocitozu redistribucijom intraneuronalnog  $Ca^{2+}$ , čime se u povećanoj mjeri oslobadja NA iz presinapse (L a n g e r, 1977). Glavni regulator ovih presinaptičkih beta-adrenoceptora je adrenalin. S t j ä r n e i B r u n d i n (1975) sugerišu da bi cirkulišući adrenalin mogao biti glavni regulator funkcije presinaptičkih beta-receptora. Međutim, smatra se da bi neuronalni adrenalin, koji se oslobadja kao ko-transmitter zajedno sa NA, mogao funkcionisati kao fiziološki agonist presinaptičkih beta-adrenoceptora (M a j e w s k i et al., 1980). Presinaptički beta-adrenoceptori stimulisani na ovaj način povećavaju oslobađanje NA iz presinaptičkih završetaka, možda i stimulisanjem povećanog stvaranja NA u presinapsi trofičkim djelovanjem na aktivnost tirozin hidroksilaze (D a h l ö f, 1981).

Poznato je da su beta-adrenoceptori osjetljiviji na kateholamine od alfa-adrenoceptora (G u i m a r a e s, 1975).

Odgovor krvnih sudova koji imaju oba tipa adrenoceptora ovisi o relativnoj izraženosti dva odgovora na stimulaciju adrenoceptora: kontrakcije i dilatacije. Facijalna vena zeca pokazuje izraženiju beta-adrenergičku relaksaciju, no alfa-kontrakciju, pa poslije električne stimulacije ili administracije noradrenalina nastaje dilatacija ovog krvnog suda (P e g r a m et al., 1976). Veličina beta-adrenoceptorne relaksacije je obično proporcionalna nivou toničke kontrakcije krvnog suda, tako da izgleda da beta-odgovor krvnih sudova predstavlja funkciju veličine bazalnog tonusa (B e v a n, 1979). Vaskularni odgovor na simpatičku nervnu aktivnost čiji su medijatori beta-adrenoceptori pokazuje dvojako ponašanje. Na jednoj strani su krvni sudovi koji se promptno relaksiraju, čak i na niske vrijednosti frekvence simpatičke nervne aktivnosti (V i v e r o s et al., 1968). Na drugoj strani su oni krvni sudovi koji reaguju poslije određene latence i samo pri visokim frekvencama stimulusa (H u g h e s and V a n e, 1970). Pošto oba tipa sudova dobro reaguju na egzogene beta-adrenoceptorske agoniste, ova različita ponašanja mogu reflektovati različitu poziciju beta-adrenoceptora na glatkom mišiću u odnosu na mjesto oslobađanja (B e v a n et al., 1978). Važno je napomenuti da je veličina beta-efekata u krvnim sudovima modificirana mnogim agensima i uslovima kao što su estrogeni, progesteron, temperatura i uzrast. Gubitak beta-adrenoceptorske efektivnosti sa starenjem je specifičan i ne postoji kod drugih tipova relaksacije (V a n h o u t t e and L e u s e n, 1978).

#### 1.2.3.4 ZNAČAJ PERIFERNIH VASKULARNIH BETA-ADRENOCEPTORA U ŠOKU

Značaj beta-adrenoceptora u toku hemoragične hipotenzije je dugo bio zapostavljan i podcjenjivan. Aktivnost ovih receptora je optuživana za podsticanje nastanka preokreta u genezi hemoragične hipotenzije i prelaska u tzv. "ireverzibilni šok" (B e r k et al., 1967). Takodje se smatralo da je ekscesivna beta-adrenergička aktivnost osnovni uzrok metaboličke acidoze, važnog biohemijskog poremećaja u toku hipotenzije, koji značajno doprinosi smrtnom ishodu teškog iskrvarenja (H a l m a g y i et

al., 1968). Međutim, M l a d i n i ć i sar. (1977) nisu mogli ustanoviti signifikantnu razliku u nivou laktacidemije između netretiranih i propranololom tretiranih životinja, što donekle opovrgava hipotezu H a l m a g y i-a i sar. U nekim novijim radovima (B o n d and J o h n s o n, 1984) se, također, sugerije da, u najmanju ruku u modelu pacovskog šoka, kompenzatorni i dekompenzatorni fenomeni u šoku nemaju vezu sa funkcijom presinaptičkih beta<sub>2</sub>-, srčanih beta<sub>1</sub>- i neinerviranih vaskularnih beta<sub>2</sub>-adrenoceptora. Naglasak se posebno stavlja na aktivnost alfa<sub>2</sub>-adrenoceptora (B o n d and J o h n s o n, 1985). Također stimulacija beta-adrenoceptora nespecifičnim beta-agonistom izoproterenolom nema beneficiano djelovanje na progresiju hemoragične hipotenzije i njen ishod (L i u et al., 1984). Međutim, mora se postaviti određena ograda prema ovim radovima, posebno s obzirom na verifikovani značaj vaskularnih beta-adrenoceptora u regulaciji sistemskog intravaskularnog volumena (R u t l e n et al., 1981). Također je veoma važna činjenica da stimulacija beta-adrenoceptora izoproterenolom smanjuje kapilarni permeabilitet (L i u et al., 1984), što u svakom slučaju može biti protektivni mehanizam u šoku, prvenstveno sprečavanjem gubitka tečnosti iz mikrovaskularnog korita (G r e g a et al., 1980). Ne treba zaboraviti da postoje značajne interakcije beta-adrenoceptora sa drugim sistemima, cirkulišućim hormonima, vazoaktivnim supstancama, a posebno sa alfa-adrenoceptorima. Aktivacija renin-angiotenzin sistema koji je snažno aktiviran u toku hemoragične hipotenzije (E r r i n g t o n and R o c h a e S i l v a, 1972) odvija se preko stimulacije beta-adrenoceptora (O p a r i l and H a b e r, 1974), što je posebno izraženo u splahnničkom području, jer se u mezenteričkoj vaskularizaciji u povećanoj mjeri stvara angiotenzin II u odgovoru na beta-stimulaciju (N a k a m u r u et al., 1986). Također postoje snažne veze eikozanoidnog metabolizma i funkcije beta-adrenoceptora, vjerovatno, na dva nivoa: (1) nivou prenosa informacija do C proteina u sistemu adenilat-ciklaze i (2) uticajem prostaglandina na nivo intracelularnog cAMP poslije stimulacije beta-adrenoceptora (R u b a n y i et al., 1986). U zadnje vrijeme je postalo jasno da brojne supstance (alfa<sub>1</sub>-agonisti, opiodi, adenzin, muskarinski i holinergički agonisti) inhibiraju aktivnost

adenilat-ciklaze (B l u m e et al., 1979; J a k o b s et al., 1979; L o n d o s et al., 1978). Ove supstance se vezuju za inhibitorski receptorski protein ( $R_i$ ) prema modelu Gilmana (1984) i to se prenosi prema "drugom glasniku" preko guanin-nukletid vezujućeg proteina koji nije identičan stimulatornom G/F (R o d - b e l l, 1980).

Svakako, postoji i vrlo izražena medjuzavisnost beta- i alfa-adrenoceptora, i na post -, i na presinaptičkom nivou (M a j e w s k i and R a n d, 1981). Uzimajući u obzir ogromnu ulogu svih ovih sistema i supstanci u nastanku i evoluciji šoka, svakako da malo čudno izgleda potpuno ignorisanje uloge beta-adrenoceptora u evoluciji i ishodu šoka. Medjutim, u zadnje vrijeme, posebno u skandinavskoj fiziološkoj literaturi nesmetano funkcionisanje beta-adrenoceptora se smatra jednim od važnijih mehanizama uspješnog preživljavanja u toku hemoragične hipotenzije. Suština bi bila u povećanju volumena cirkulirajuće plazme apsorpcijom ekstravaskularne tečnosti (G u s t a f s s o n et al., 1982). To je uglavnom rezultat beta-stimulacije koja dovodi do smanjenja kapilarnog hidrostatskog pritiska i povećanja površine kapilara raspoložive za razmjenu (H i l l m a n et al., 1982). Takođe je interesantno mišljenje L e c h n e r - a i sar. (1985) da se protektivni efekti naloksona zasnivaju na potenciranju efekata cirkulirajućih kateholamina na srčane beta-adrenoceptore. To baca novo svjetlo na važnost beta-adrenoceptora u šoku. U našim radovima (S r k a - l o v i ć, 1984; H a m a m d ž i ć et al., 1985; S r k a l o - v i ć et al., 1985) postavljena je hipoteza da beta-adrenoceptori u toku hemoragične hipotenzije trpe značajne funkcionalne promjene. To bi u svakom slučaju bilo u skladu sa već opisanim mehanizmom desenzitizacije, jer u hipotenziji postoji visoki nivo stimulacije ovih receptora cirkulirajućim kateholaminima (u našim eksperimentima 3 sata).

### 1.3 OPIOIDNI SISTEM

#### 1.3.1 UVOD

Opioidi spadaju medju najstarije farmakološke supstance koje je čovjek upoznao; njihovi analgetski, euforički i drugi efekti su dugo već predmet ispitivanja. Njihovi kardiovaskularni

efekti su dugo vremena bili u drugom planu (H o l a d a y, 1983). Međutim, nekoliko činjenica je uticalo na drugačiji pristup ovom aspektu opioidnog djelovanja. Lokacija ovih peptida je takva da upućuje na njihovu vezu sa autonomnim nervnim sistemom (W a t s o n and A k i l, 1981). Takođe je evidentno da su opioidni receptori gusto raspoređjeni u moždanom stablu i hipotalamusu u bliskoj okolini kardiovaskularnih centara (A t w e l and K u h a r, 1977; G o o d m a n et al., 1980). Ove anatomske karakteristike reflektuju se i funkcionalno. Ustanovljeno je da opioidni peptidi dati intracerebralno, intravenski ili topički na određene površine moždanog stabla izazivaju snažne kardiovaskularne odgovore (F l o r e z and M e d i a v i l l a, 1977; F e l d b e r g and W e i, 1978; L a u b i e et al., 1977; L e m o i r e et al., 1978; W e i et al., 1980). Kardiovaskularni sistem je jako osjetljiv i na egzogene (morfin) i na endogene (enkefalini i endorfini) opioidne antagoniste (P a r a t t, 1983). U skladu sa tim dokazano je da i.v. infuzija morfina ili beta-endorfina dovodi do izražene sistemske hipotenzije i bradikardije (L e m e i r e et al., 1978). S obzirom na činjenicu da se beta-endorfini oslobadjaju tokom stresa zajedno sa ACTH iz hipofize (R o s s i e r et al., 1977), a s obzirom i na njihovo hipotenzivno djelovanje H o l a d a y i F a d e n (1978) su pretpostavili da se "beta-endorfini oslobadjaju u stanjima šoka i mogu doprinositi nastanku hipotenzije". Time je bila pokrenuta lavina. Istraživanje značaja opioidnih peptida u šoku i mogućnost primjene antagonista opioidnih receptora u tretmanu različitih tipova šoka postaje preokupacija brojnih istraživačkih timova i pojedinaca.

### 1.3.2 OPIOIDNI PEPTIDI

Najmanje osam različitih endogenih opioida je izolovano i dokazano u nervnom sistemu i perifernim tkivima (H o l a d a y, 1983). Najjednostavniji su dva pentapeptida metionin-enkefalin (Met-enk) i leucin-enkefalin (Leu-enk), koji se razlikuju samo po C-terminalnim aminokiselinama. Neuron koji sadrže enkefaline su identifikovani u mozgu, pomoću imunohistohemijskih procedura, u kaudalnoj meduli, nvc. tractus solitarii, nuc.

ambiguus i donjem vagusnom jezgru (E l d e et al., 1976; H ö k f e l t et al., 1977; H u g h e s et al., 1977). Enkefalini su, takodje, dokazani u gornjem cervikalnom gangliju, kao i u gornjem i donjem mezenteričkom gangliju (D i G i u l i o et al., 1978). U nadbubrežnoj žljezdi hromafine ćelije medule sadrže, pored kateholamina, i oba enkefalina locirana u hromafinim granulama, tako da stimulacija splahnhičkih nerava rezultira zajedničkim oslobadjanjem enkefalina i kateholamina u konstantnom molarnom odnosu (V i v e r o s et al., 1979). Takodje su enkefalini dokazani i u aferentnim splahnhičkim nervnim terminalima u srži, kao i u manjim količinama u korteksu nadbubrega (Y o n g et al., 1980). U svim ovim lokusima s obzirom na činjenicu da prekursor enkefalina preproenkefalin sadrži 4 Met-enk sekvence i jednu Leu-enk sekvencu, kao i dvije C-terminalne sekvence koje takodje imaju opioidnu aktivnost (C o x, 1982). Met-enk ima najveći afinitet prema delta-opioidnim receptorima, mada posjeduje odredjeni afinitet i prema mu-receptorima. Leu-enk ima veću selektivnost prema delta-receptorima. Izgleda da preproenkefalin predstavlja izvor agonista delta-opioidnih receptora. To se odnosi i na njegove C-terminalne fragmente, koji imaju odredjeni afinitet i prema mu i kapa-receptorima.

Beta-endorfin, za razliku od enkefalina ima 31 amino-kiselinu. Ovaj spoj, zajedno sa beta-lipotrofnim hormonom (beta LPH), adrenokortikotropnim hormonom (ACTH) i melanostimulirajućim hormonom (MSH) potiče od pre-proopiomelanokortina (POMC) (C o x, 1982). Beta endorfin tvori C-terminalni fragment POMC-a i jedina je komponenta izvedena iz ovog prekursora koja ima opioidnu aktivnost. Za razliku od naširoko rasprostranjenih enkefalin-pozitivnih neurona, čelijska tijela beta-endorfin-pozitivnih neurona su ograničena na nuc. arkuatus hipotalamusa sa dugačkim aksonskim putevima prema nuc. traktus solitatus, retikularnoj supstanci, mezencefalonu i limbičkom regionu. Ova lokalizacija ukazuje na mogući uticaj ove supstance na kardiovaskularni sistem (W a t s o n and B o r d o s, 1979). Aminokiselinska sekvenca N-terminusa beta-endorfina je uglavnom ista unutar svih varijanti ovog spoja. C-terminus se razlikuje u različitim vrstama, tako da postoji nekoliko podjela beta-endorfina ovisno i njihovoj lokaliza-

ciji i životinjskoj vrsti kojoj pripadaju. Oslobođanje beta-endorfina iz hipofize odvija se paralelno sa oslobađanjem ACTH pod uticajem kortikotropin-rilizing faktora iz hipotalamusa (B l o o m, 1983; V a í e et al., 1981). Beta-endorfini imaju visoki afinitet prema mu, kapa i delta-opioidnim receptorima.

Treću glavnu grupu opioidnih peptida sačinjavaju dinorfin i peptidi vezani na dinorfin. Dinorfin se stvara iz pro-dinorfina, a njegovo lučenje iz neurohipofize je regulisano slično regulaciji lučenja vazopresina (H u g h e s, 1983). Unutar dinorfina razlikuju se heptadekapeptid "Dynorphin A", tridekapeptid "Dynorphin B" i dekapeptid alfa-neo-dinorfin, koji svi imaju LE sekvencu na N-kraju praćenu sa dvije identične bazične aminokiseline (C o x, 1982). Ostali slijed aminokiselina se razlikuje u ovim spojevima. Dinorfini se specifično vezuju za kapa-receptore. Skraćivanjem peptidne molekule na 8 aminokiselina (dinorfin 1-8) reducira se kapa-aktivnost, a može se povećati afinitet za mu-receptore.

Pored ovih spojeva u različitim životinjskim vrstama se javljaju i drugi prirodni opioidi beta-kazomorfin, dermorfini i hiotorfin.

Enkefalini bivaju vrlo brzo razgradjeni specifičnim plazmatskim peptidazama i imaju vrlo kratak poluživot. Beta endorfini nasuprot imaju dugačak poluživot u cirkulaciji, što ukazuje na manje ograničenje i lokalizaciju njihove aktivnosti (H o l l a d a y et al., 1985).

### 1.3.3 OPIOIDNI RECEPTORI

Lokalizacija opioidnih receptora na periferiji još uvijek je pitanje na koje nema mnogo odgovora. Pruženi su dokazi za postojanje ovih receptora na n. vagusu (Y o u n g et al., 1980), na pulmonarnim "J" receptorima (S a p r u et al., 1981), vjerovatno i u vaskulaturi (A l t u r a et al., 1980) i srcu. Smatra se da postoji 5 različitih opioidnih receptora: mu, kapa, sigma, delta i epsilon. Receptori su nazvani prema prvim slovima supstanci koje se preferencijalno vezuju na ove receptore, morfin, ketoci-

klazocin i SKF 10047, za prva tri tipa receptora (C o x, 1982). Morfin je prototip agonista za mu-receptore, dok je beta-endorfin endogeni opioid sa značajnim mu-efektom, koji je izrazitiji od morfinskog (H u g h e s, 1981). Smatra se da su mu-receptori odgovorni za analgeziju, euforiju, respiratornu depresiju, katalepsiju i miozu (Bernton et al., 1985). Takođe se smatra da ovi receptori učestvuju u kardiovaskularnim efektima opioida injiciranih u prednji hipotalamus (P f e i f e r et al., 1982). Mu-receptori se subklasificiraju na  $\mu_1$  i  $\mu_2$  ovisno o specifičnosti morfinskog i enkefalinskog vezivanja (Pasternak, 1982). Visoko afinitetni ( $\mu_1$ ) receptori bi mogli biti medijatori supraspinalne analgezičke aktivnosti opioida, dok bi kardiorespiratorni efekti, uključujući i one značajne za razvoj šoka, mogli biti vezani za nisko afinitetne ( $\mu_2$ ) i delta-receptore (H o l a d a y et al., 1983). Delta receptori imaju mnogo sličnosti u funkciji sa mu-receptorima, međjutim, češće se vezuju sa kardiovaskulatomnom funkcionalnošću i posebno sa promjenama u šoku (F r o g g a t t et al., 1984). Najjače agonističko djelovanje na ove receptore imaju Leu-enk (jače) i Met-enk. Ovi se receptori povezuju i sa regulacijom srčane funkcije, mada direktna veza nije dokazana (H a d d a d et al., 1986). Ostali opioidni receptori (sigma, kapa i epsilon) se ne smatraju značajnim za regulaciju kardiovaskulatomnih funkcija, mada postoje i drugačija mišljenja. S t a r k e (lični kontakt, 1986) smatra kapa receptore veoma važnim za funkcionisanje krvnih sudova i ukazuje na njihovu značajnu zastupljenost u vaskularizaciji, posebno na presinaptičkom nivou, za što postoje i dokazi (I l l e s and B e t t e r m a n, 1986; K u g e l g e n et al., 1985). Što se tiče važnosti ovih receptora u genezi šoka i dalje preovladava mišljenje da je njihov značaj minoran (C u r t i s and L e f e r, 1983). Epsilon-receptori su posljednji verifikovani (S c h u l z et al., 1981). Ove receptore aktivira kratka N-terminalna aminokiselinska sekvenca beta-endorfina.

#### 1.3.4 OPIOIDNI PEPTIDI I KARDIOVASKULARNI SISTEM

Raspoloživi podaci ukazuju da periferni opioidni peptidi mogu funkcionisati kao endokrini (iz hipofize i nadbubrega), apokrini (u želucu i pankreasu) i neuronalni hormoni (simpatička ganglija i nervni pleksusu želuca) (H u g h e s, 1981). Met-enk i Leu-enk su predominantni opioidi u splahnhičkom području, prevashodno u nervnim strukturama. Opioidi vrše depresiju postsinaptičke ekscitabilnosti ganglion stelatuma, iz kojeg simpatičke nervne niti inerviraju srce (P r o s d a c i n i et al., 1985). To je u skladu sa nalazom da opioidni peptidi (beta-endorfin) izazivaju kardiovaskularnu disfunkciju u normovolemičkim anesteziranim psima, vjerovatno depresijom miokardne kontraktilnosti, bez uticaja na koronarni protok (T u g g l e and H o r t o n, 1986). To je sasvim u skladu sa postavkom C a f f r e y-a i sar. (1985) da opioidni antagonisti imaju pozitivno inotropno djelovanje. K o y a m a i sar. (1984) nisu našli promjene kardiovaskularnih parametara kod preparata srce - pluća psa pod uticajem Leu-enk. Međutim, H o t h o r n i sar. (1985) nalaze direktnu opioid-adrenergičku interakciju u preparatu izolovanog atrija zamorca. Taj nalaz potvrđuje hipotezu G i l m a n -a (1984) o interakciji opioida i beta-adrenoceptora u srcu. Prisustvo opioidnih receptora u srcu je još jedna činjenica koja ide u prilog ovoj hipotezi (B u r n i e, 1982). Razlike u nalazima mogu se objasniti razlikama u upotrebljenim metodama i preparacijama, kao i brojnošću opioida i njihovih receptora.

Enkefalini iz nadbubrega koji se oslobađaju konkomitantno sa adrenalinom, specifično blokiraju holinergičku transmisiju u splahnhičkim nervnim završecima u meduli nadbubrega (C o s t a et al., 1983). Pored ovog djelovanja ovi peptidi mogu modulirati i funkcije ciljnih organa i njihove simpatičke inervacije preko jednog od sljedećih mehanizama: direktnim uticajem (preko adenilat-ciklaze), moduliranjem noradrenalinog oslobađanja (vjerovatno preko  $Ca^{2+}$  kanala) ili efektom na broj i afinitet receptora (B e r n t o n et al., 1982). Osim u nadbubregu Leu-enk, zajedno sa dinorfinom, su dokazani uz noradrenalin u sinaptičkim vezikulama

simpatičkih C-vlakana, što bi moglo ukazivati na moguće ko-oslobađanje ovih opioidnih peptida iz nervnih završetaka (K l e i n et al., 1983). Vjerovatno je da interakcija između neuro-peptida i klasičnih neurotransmitera predstavlja kompleksan problem, ali vjerovatno igra važnu ulogu u cirkulatornoj homeostazi. Ova interakcija je dvosmjerna i uključuje veliki broj veza i međusobnih uticaja. Jako je rašireno mišljenje da kardiovaskularni odgovor na uticaj opioidnih peptida snažno ovisi od trenutnog statusa autonomnog nervnog sistema (C a f f r e y et al., 1985). Postoje farmakološki dokazi da su centralni alfa<sub>2</sub>-adrenoceptori uključeni u kardiovaskularne efekte i.v. apliciranih enkefalina (K o y a m a et al., 1984). Postoji međusobni uticaj kateholamina i opioida na farmakodinamiku jednih i drugih. Kateholamini mogu usporavati brzinu enzimatske razgradnje i inaktivacije enkefalina u nizu tkiva (C a f f r e y, 1984), a opiodi, izgleda, smanjuju nivo cirkulirajućeg noradrenalina, dosada neispitanim mehanizmom (S c h a d t and G a d d i s, 1985). Takođe, opioidni sistem ima funkcionalne veze sa parasimpatikusnim sistemom, najvjerovatnije na način koji podrazumijeva stimulaciju ovog sistema (C a f f r e y et al., 1985). Veze sa drugim sistemima i transmiterima takođe su veoma značajne. Mnoga djelovanja opioida se dovode u vezu sa oslobađanjem histamina, naročito vazodilatatorno djelovanje opioida na nivou rezistentnih krvnih sudova, čime opiodi poboljšavaju perfuziju tkiva. To je posebno izraženo u splahnjičkoj regiji (T u g g l e and H o r t o n, 1986). Takođe postoje dokazi i za učešće serotonergičkog mehanizma u beta-endorfinskoj modulaciji arterijskog pritiska (L e m o i r e et al., 1978). Vrlo su značajne veze opioidnog sistema sa eikozanoidima koji predstavljaju važnog regulatora funkcije kardiovaskularnog sistema. PGE<sub>1</sub> smanjuje raspoloživost Ca<sup>2+</sup> u noradrenalinskim nervnim završecima, a morfin i beta-endorfin reduciraju vraćanje Ca<sup>2+</sup> u sinaptičke završetke preko specifičnih kalcijumskih kanala (W e s t and M i l l e r, 1983). Moguće je da ovo zajedničko djelovanje opioida i eikozanoida dovodi do smanjene senzitivnosti mikrocirkulacije na uticaj cirkulirajućih kateholamina koja postoji poslije endotoksinske aplikacije u eksperimentu (L e f e r, 1985). Takođe se smatra da opiodi svoje djelovanje na beta-adrenergičke

receptore mogu ispoljavati blokiranjem prostaglandinske regulacije beta-adrenoceptorne funkcionalnosti (G i l m a n, 1984). Vrlo važan aspekt djelovanja opioida je veza opioida sa funkcijom endotela koji predstavlja modifikatora autoregulacije vaskularnog tonusa, agregacije trombocita i koagulacionih kaskada. Opioidi povećavaju oslobađanje prostaciklina, supstance koja oslobodjena iz endotela inhibira adherenciju trombocita i granulocita na zidukrvnog suda i stimuliše vazodilataciju (A l t u - r a, 1983). Opioidi, također reduciraju granulocitnu adherenciju na endotel u prisustvu aktiviranog komplementa (B o o g a e - r t s et al., 1983).

### 1.3.5 OPIOIDNI PEPTIDI U ŠOKU

Tokom akutne hipotenzije postojanje zajedničkog oslobađanja kateholamina i opioida izgleda da ima ulogu odbrane organizma (C a f f r e y et al., 1985). Opioidi umanjuju adrenergičke efekte u cilju minimiziranja periferne tkivne ishemije i vjerovanim preveniranjem prejake miokardijalne ekscitabilnosti. Sa daljim razvojem šoka dolazi do ekscesivnog nagomilovanja opioida zahvaljujući kontinuiranoj sekreciji izazvanoj perzistiranjem stresa i smanjenoj degradaciji kao efektu visokog nivoa kateholamina i njihovih metabolita. Opioidni efekti time postaju kontraproduktivni, stoga što produbljuju periferni vaskularni kolaps i srčanu depresiju. Ovaj koncept je sasvim u skladu sa često ponavljanim nalazom da antagonisti opioidnih receptora u šoku poboljšavaju kardiovaskularno stanje životinja (H o l a d a y and F a - d e n, 1978). Na osnovu ustanovljene činjenice da opioidi uzrokuju hipotenziju i da njihov plazmatski nivo u šoku signifikantno raste (G u i l l e m i n et al., 1977), kao i stare činjenice (C h i e n, 1967) da anestezija ili stres modificiraju odgovor na hemoragiju, zaključeno je da bi opioidni antagonisti mogli imati beneficiano djelovanje u šoku.

#### 1.3.5.1 NALOKSON I ŠOK

Najveći broj podataka o doprinosu opioida razvoju šoka potiče od radova u kojima je korišćen nalokson. Nalokson je snažan antagonist mu- i epsilon-receptora, sa djelovanjem i na delta-

i kapa-receptore (H u n t et al., 1984). Pri aplikaciji nalokson povećava srednji arterijski pritisak, pulsni pritisak i preživaljavanje pacova izloženih hemoragičnoj hipotenziji, a u isto vrijeme povećava i miokardijalnu kontraktilnost i minutni volumen pasa izloženih hemoragičnoj hipotenziji (F a d e n and H o l a d a y, 1979). Oko pitanja kojim mehanizmom nalokson ispoljava beneficijelno djelovanje u šoku postoje brojne kontraverze. Najzastupljenije mišljenje je da taj mehanizam podrazumijeva interakciju naloksona sa vegetativnim nervnim sistemom. Ovo djelovanje naročito se dovodi u vezu sa signifikantnom povećanom aktivnošću simpatičkog nervnog sistema u šoku i skretanjem autonomnog balansa na stranu simpatičkog, nasuprot parasimpatičkom sistemu (C a f f r e y et al., 1985). Poznato je da nalokson ne ispoljava signifikantne efekte u normotenziji (L e c h n e r et al., 1985), vjerovatno zbog niskog nivoa kateholamina i samo bazalne aktiviranosti simpatičkog sistema u ovim uslovima. S c h a d t i Y o r k (1980) su pokazali da presorni efekt naloksona uključuje alfa-adrenoceptore, a s obzirom na odsustvo efekata naloksona u uslovima beta-blokade, uključeni su najvjerojatnije i beta-adrenoceptor. Isto mišljenje zastupaju i L e c h n e r i sar. (1983), koji oba tipa adrenergičkih receptora vezuju sa naloksonskim djelovanjem. To je kasnije i čvršće fundirano radom L e c h n e r -a i sar. (1985) u kojem su pokazali da nalokson potencira i hronotropne i inotropne efekte adrenalina na srce. U ovaj koncept se uklapa i postavka G i l m a n -a (1984) o blokirajućem efektu opioda na funkcionalnu ekspresivnost beta-adrenoceptora. U skladu sa ovim postavkama je i nalaz G u r l l -a i sar. (1982) da acidoza reducira efekte naloksona, što je po njihovom mišljenju posljedica smanjenog vezivanja kateholamina na beta-adrenoceptore pri niskom pH, što je već ranije pokazano (L e f k o w i t z et al., 1973). Snažna potvrda veze opioidnog i adrenergičkog sistema u šoku, i posebno veze adrenoceptora i naloksonskih efekata je rad L e c h n e r -a i sar. (1985) u kome je pokazano da je nalokson bio bez efekata u uslovima blokiranog adrenergičkog sistema, ali su efekti restaurirani infuzijom alfa- i beta-agonista. K o y a m a i sar. (1983) su pokazali vezu između beneficijelnog djelovanja naloksona u šoku i povećane pre-

ganglionarne splahnličke nervne aktivnosti u mačaka izloženih endotoksemiji. Iz svega ovoga proizalzi da je djelovanje naloksona snažno vezano za adrenergičku aktivnost, ali se u većini radova insistira na djelovanju na srčanu funkciju, s tim da su efekti na periferni otpor beznačajni (H o l a d a y et al., 1983). Sa tim se slažu i nalazi I s o y y a m e i sar. (1982) da se pulsni pritisak, koji reflektuje promjene sistemskog otpora, ne mijenja pod uticajem opioida (morfin). Medjutim, u eksperimentima in vitro L e e i B e r k o w i t z (1976) su pokazali da postoje vazodilatatorni efekti naloksona koji su  $Ca^{2+}$  ovisni. Izgleda da se efekti naloksona na kateholaminski inducirane kontrakcije arterija ne odvijaju direktno preko alfa<sub>1</sub>-adrenoceptora. Izgleda da su značajniji efekti naloksona u smislu inhibicije ekstraneuronalnog "uklanjanja" (uptake) kateholamina (S a s a k i et al., 1984). Na osnovu ovih nalaza S a s a k i i sar. zaključuju da bi nalokson mogao povećavati srednji pritisak i periferni otpor olakšavajući konstriktorni odgovor splahnličkih arterija induciran endogenim kateholaminima. Ova vrlo interesantan zaključak navodi na pomisao da bi uticaj naloksona na reaktivnost splahnličkih krvnih sudova mogao biti vrlo interesantan za objašnjenje mehanizma njegovog djelovanja. Nalokson značajno mijenja protoke krvi kroz određena područja tokom evolucije šoka, što ukazuje na činjenicu da bi eventualni uticaj na promjene segmentalnog vaskularnog otpora, nasuprot nepromijenjenom opštem mogao biti jedan od elemenata u mehanizmu djelovanja naloksona u šoku (L e c h n e r et al., 1985). Ove hemodinamske promjene se ne mogu pripisati povećanom nivou plazmatskih kortikosteroida i njihovim uticajem na efekte kateholamina, jer efekti naloksona postoje i u pasa koji nisu sposobni za sintezu kortikosteroida (P a t o n et al., 1983). Medjutim, beneficijelno djelovanje kaortikosteroida u šoku, za koje postoje dokazi i pro (S c h u m e r, 1981) i kontra (B l a i s d e l l, 1981), ukoliko postoji moglo bi se odvijati kočenjem oslobodjanja beta-endorfina povratnom spregom (H o l a d a y, 1983). Interesantno je mišljenje L e c h n e r -a i sar. (1985) da bi nalokson mogao povećavati preživljavanje u šoku poboljšavanjem hepatičkog arterijskog i intestinalnog protoka krvi, što je kao jedan od načina povećanja preživljavanja odavno verifikovan (H a y and W e b b, 1951;

L i l l e h e i, 1957). Takodje je evidentno da nalokson povećava selektivni porast toka krvi u vitalne organe (mozak i srce), i time eventualno ispoljava beneficijelno djelovanje u šoku (M u r a s z k o et al., 1983). Medjutim, nasuprot radovima koji potenciraju vezu opioida i adrenergičkog sistema i time objašnjavaju efekte naloksona, F e u e r s t e i n i sar. (1981) nalazom odsustva veze plazmatskog nivoa dopamina, noradrenalina i adrenalina sa naloksonskim efektima u šoku ukazuju na mogućnost da neki drugi mehanizmi stoje iza naloksonskih efekata. Jedan od mogućih mehanizama bi mogao biti kortikosteroidni mehanizam, mogućim uticajem steroida na opioidne receptore, metabolizam i distribuciju naloksona, kao i metabolizam i bioraspoloživost opioidnih peptida (H o l a d a y et al., 1979). Kortizol potencira naloksonske efekte na srednji arterijski pritisak, udarni volumen i dp/dt max. lijevog ventrikula, što može biti rezultat neophodnosti prisustva određenih količina steroida pri vezivanju naloksona za opioidne receptore, kao što pretpostavljaju P a t t o n i sar. (1983). Već smo spomenuli mogućnost da kortikosteroidi ispoljavaju pozitivno djelovanje u šoku kočenjem oslobadjanja beta-endorfina.

Moguće je da efekti naloksona uključuju i serotonergički put koji je važan za kontrolu kardiovaskularnog sistema u hemoragiji (B l u m and S p a t h, 1986). Hemoragija je stimulus za serotonergički put koji inhibira preganglijske simpatičke neurone (G i l b e y et al., 1981), tako da nalokson može inhibirati simpatičku aktivnost preko ovog puta. C u r t i s i L e f e r (1980) pretpostavljaju da nalokson ispoljava beneficijelno djelovanje u šoku stabiliziranjem lizosomalnih membrana i sprečavanjem oslobadjanja medijatora šoka (MDF, katepsin) splahnjičkog porijekla. Medjutim, isti autori nalaze da beneficijelno djelovanje ima i novi opioidni antagonist Win 44.441 koji nema stabilizirajuće dejstvo na lizosomalne membrane (C u r t i s and L e f e r, 1982). I pored toga što je nalokson blokator opioidnih receptora, smatra se da opioidni receptori nisu direktno uključeni u naloksonske efekte u šoku, već da se oni odvijaju preko nekog drugog sistema (K o y a m a et al., 1983).

1.3.5.2 KOJI OPIOIDNI PEPTIDI, A KOJI OPIOIDNI  
RECEPTORI SU VEZANI ZA PROMJENE U ŠOKU

Ovi pitanje još nije raščišćeno. Od svih peptida beta-endorfin je najveći kandidat za doprinosioca promjenama u šoku, s obzirom na njegovo znatno oslobađanje u stresu (G u i l l e m i n e t a l., 1977), kao i njegovo hipotenzivno djelovanje. Takodje je ustanovljeno da beta endorfini vrše deprsiju kardiovaskularne funkcije (T u g g l e a n d H o r t o n, 1986). Posebno je interesantna činjenica da je endotoksemija znatno jači stimulus za oslobađanje beta-endorfina od hemoragije, bez obzira na manji pad pritiska u toku endotoksemije (H a m i l t o n e t a l., 1985). Snažni porast endorfina nalaze i B r ü c k n e r i s a r. (1984), ali oni naglašavaju i važnost enkefalina u šoku. Ovo mišljenje dijeli i H o l a d a y s a s a r. (1981) koji stavlja na prvo mjesto centralno djelovanje ovih opioida. Ovi centralni efekti mogu se ispoljavati zahvaljujući postojanju cirkumventrikularnih područja, za koje se pretpostavlja da nemaju krvno-moždanu barijeru (H o l a d a y, 1983), a posjeduje brojne opioidne receptore, jer inače ovi opioidi ne prolaze krvno-moždanu barijeru. B e r g l a n d i P a g e (1979) pretpostavljaju i drugi put opijata do centara CNS-a, i to preko portalne vaskulature mozga i tanycita preko kojih mogu dospjeti u hipotalamus i treću komoru. Nasuprot svemu iznesenom H o l a d a y d v i j e g o d i n e k a s n i j e (1983) tvrdi da ni beta-endorfin, a posebno enkefalini nisu odgovorni za promjene u šoku (H o l a d a y e t a l., 1983). Sa time se slažu i I s o y a m a i s a r. (1982).

Prema djelovanju naloksona izgleda da su mu- i epsilon-receptori odgovorni za opioidne efekte u šoku (H u n t e t a l., 1984). To je u skladu sa nalazom C u r t i s -a i L e f e r -a (1983) da sigurno u ove efekte nisu uključeni kapa-receptori. Međutim, isti autori nalaze beneficijelno dejstvo agoniste kapa-receptora u šoku (C u r t i s a n d L e f e r, 1983). Na osnovu svega ovoga, a i na osnovu specifičnosti endogenih opioida (beta-endorfina prema mu-, a enkefalina prema delta-receptorima) priklanjamo se mišljenju H o l a d a y -a i s a r. (1983) da su za promjene u šoku vezane za aktivnost nisko afinitetnih  $\mu_2$ - i delta-opioidnih receptora.

## 2. CILJ RADA

Osnovni cilj rada je rasvjetljavanje uloge mezenteričkih vaskularnih beta-adrenoceptora u evoluciji kardiovaskularne dekompenzacije u hemoragičnom šoku. Na osnovu nekih prijašnjih radova može se pretpostaviti da adekvatna funkcionalnost i ekspresivnost vaskularnih beta-adrenoceptora u šoku predstavlja jedan od mehanizama zaštite organizma u toku hemoragične hipotenzije. Naši prethodni radovi ukazuju da funkcija vaskularnih beta-adrenoceptora, naročito njihova vazodilatatorna komponenta biva znatno reducirana u toku hemoragične hipotenzije. Kao jedan od uzroka ove smanjene ekspresivnosti u toku hemoragične hipotenzije u razmatranje se mora uzeti uticaj opioidnih peptida na beta-adrenoceptore. Ovi peptidi se s jedne strane u povećanoj mjeri stvaraju i elaboriraju u toku hemoragične hipotenzije, a s druge strane imaju dokazani inhibitorni uticaj na funkciju srčanih beta-adrenoceptora. Pošto je osnova funkcionalnosti i srčanih ( $\beta_1$ ) i vaskularnih ( $\beta_2$ ) adrenoceptora aktivnost enzimskog kompleksa adenilat-ciklaze, veza između opioida i vaskularnih beta-adrenoceptora se može pretpostaviti. Takođe, u sklopu osnovnog cilja, treba razmotriti mogućnost da nalokson, bar dio svoga beneficijelnog efekta, ostvaruje stimulacijom ekspresivnosti  $\beta_2$ -adrenoceptora. Pored toga, uspostavljanje veze naloksona i vaskularnih beta-adrenoceptora doprinosi boljem upoznavanju mehanizma djelovanja naloksona, kako u šoku tako i u normovolemiji.

U mnogobrojnim radovima je ispitivano beneficijelno djelovanje alfa-blokade fenoksibenzaminom na preživljavanje u šoku. Pošto je poznato da blokada alfa-adrenoceptora skreće pravac funkcioniranja adrenergičkog sistema prema beta-adrenoceptorima, može se pretpostaviti da bi dio djelovanja fenoksibenzamina mogao biti ovog porijekla. Ova pretpostavka proističe i iz činjenice da i fenoksibenzamin i beta-agonist izoproterenol dje-

luju na mikrocirkulacionom nivou u smislu moduliranja kapilarne permeabilnosti.

Jedan od ciljeva ovog rada je i razjašnjavanje receptorske osnove aktivne vazokonstrikcije mezenteričke vaskularizacije u šoku. Upotrebom specifičnog blokatora  $\alpha_1$ -adrenoceptora fenoksibenzamina, koji ne blokira  $\alpha_2$ -adrenoceptore pokušali smo razlučiti da li je vazokonstrikcija rezultat  $\alpha_1$ - ili  $\alpha_2$ -adrenoceptorne aktivacije.

### 3. HIPOTEZA

Na početku rada postavili smo sljedeće hipoteze:

1. Fenoksibenzamin ireverzibilno blokira  $\alpha_1$ -adrenoceptore. U modelima "in vivo" blokiranje  $\alpha$ -adrenoceptora stimuliše beta-adrenoceptore. Međutim, s druge strane PBZ sam po sebi djeluje vazodilatatorno, pa se može očekivati da donekle ograničava sposobnost vazodilatacije krvnih sudova. S obzirom na suprodstavljenost ovih efekata, očekujemo da PBZ ne mijenja bitno odgovor mezenteričke vaskularizacije na i.a. aplikaciju izoproterenola;

2. Nalokson ostvaruje pozitivne efekte u šoku dijelom i blokiranjem opioidne inhibicije funkcije srčanih beta-adrenoceptora. Pošto nalokson stimuliše funkciju srčanih beta-adrenoceptora u normotenziji smatramo da isti uticaj ostvaruje i na vaskularne beta-adrenoceptore;

3. Enkefalini su opioidni peptidi, o čijem se učešću u fenomenima koji prate hemoragični šok još uvijek lome koplja. Smatramo da enkefalini, ipak, možda u nešto manjoj mjeri, doprinose promjenama u šoku. Stoga pretpostavljamo da enkefalini ostvaruju blokirajući uticaj na funkciju beta-adrenoceptora i time doprinose opioidnom podsticanju kardiovaskularne deterioracije u šoku;

S obzirom na kontradiktorne podatke o prisustvu i funkciji adrenergičkih receptora u mezenteričkoj vaskularizaciji, pretpostavili smo da blokada fenoksibenzaminom smanjuje porast vaskularnog otpora koji postoji u šoku i time pokazati da se veliki dio, ako ne i kompletna vazokonstrikcija u ovoj vaskularnoj regiji odvija preko  $\alpha_1$ -adrenoceptora.

## 4. MATERIJAL I METODA

Eksperimenti su izvedeni na 67 pasa križanaca oba spola, starosti od 1-2 godine i tjelesne težine od 7,5 do 30 kg ( $17 \pm 0,8$  kg). Psi su bili podijeljeni metodom slučajnog izbora u 10 grupa. Dva dana prije eksperimenta životinje nisu uzimale hranu, a vodu su dobivale "ad libitum".

### 4.1 HIRURŠKA PROCEDURA

Poslije i.v. aplikacije anestetika hloraloze (alpha-D(+)-Glucochloralose, E. Merck AG, Darmstadt, Germany) u dozi od 1 gr/10 kg (u obliku 1% rastvora u fiziološkoj otopini) životinja je postavljena u supinacioni položaj i fiksirana. Po potrebi je napravljena intubacija sa endotrahealnim tubusom zbog slobode disajnih puteva i eventualno potrebne asistirane ventilacije. Poslije je izvršeno kateteriziranje arterije i vene femoralis obostrano, sa polietilenskim kateterom u cilju registrovanja arterijskog pritiska i aplikacije supstanci na jednoj strani, dok su krvni sudovi drugog ekstremiteta korišćeni za uzimanje uzoraka i iskrvarivanje u rezervoar. Poslije laparotomije u srednjoj abdominalnoj liniji pristupljeno je gornjoj mezenteričkoj arteriji uz sklanjanje organa u stranu. Tupim razdvajanjem tkiva instrumentima vršeno je čišćenje arterije od okolnog tkiva (vezivo, masno tkivo, vaza vazorum, nervi itd.) čime je arterija mezenterika superior (u daljem tekstu art. mezenterika sup.) pripremljena za stavljanje sonde elektromagnetskog floumetra (Electromagnetic Blood Flow Meter 376, Nycotron, Norway) za mjerenje protoka krvi kroz art. mezenteriku sup. Zatim je pristupljeno izdvajanju i čišćenju prvog proksimalnog ogranka art. mezenterike sup., poslije čega je ovaj ogranak kanuliran sa tankim polietilenskim kateterom (Clay Adams, PE 50) zapremine 0,6 ml. Kroz ovaj kateter su u art. mezenteriku sup. aplicirane test supstance u bolusima prema metodi koja je korišćena i opisana u dostupnim radovima (C h a p n i c k, 1984;

C h a p n i c k et al., 1978; D u v a l et al., 1981). Prije katekteriziranja dat je heparin (Galenika, Zemun) kroz venski kateter u dozi od 0,1 ml/kg (1 ml = 5.000 i.j.). Za svo vrijeme rada abdominalni organi su održavani vlažnima posipanjem toplom fiziološkom otopinom. Poslije svršetka hirurške procedure životinja je ostavljena petnaest minuta u cilju stabilizacije funkcija.

Na kraju su na ekstremitete postavljene elektrode EKG u cilju registracije II odvoda EKG-a. Oko grudnog koša je omotan doboš pneumografa i spojen sa pisačem preko transdjusera (volumetric pressure transducer).

## 4.2 REGISTRACIJA PARAMETARA

### 4.2.1 HEMODINAMSKI PARAMETRI

Od hemodinamskih parametara registrovani su:

- a) protok kroz art. mezenteriku sup. (MBF-ml/min/kg),
- b) srednji arterijski pritisak (MAP- kPa),
- c) frekvenca rada srca,
- d) elektrokardiogram (EKG).

Protok kroz art. mezenteriku sup. je registrovan kao srednji protok pomoću elektromagnetskog floumetra (Nycotron 376) sa okluzivnom nulom. Protok je izražavan u ml/min/kg. Arterijski pritisak je izražavan u kPa, a mjeren je pomoću transdjusera za pritisak (Pressure Transducer P23, Statham USA). Svi parametri su registrovani pomoću osmokanalnog poligrafa (Grass model 7D).

### 4.2.2 OSTALI PARAMETRI

Od ostalih parametara registrovani su:

- a) frekvenca disanja,
- b) hematokrit venske krvi (l/l),
- c) proteinemija venske krvi (g/l)

Hematokrit je radjen kao mikrohematokrit pomoću ultracentrifuge (15.000 obrtaja 5 min). Proteini su određivani biuret

metodom (kit "Radonja", Sisak). Za ovu analizu korišćen je spektrofotometar (Spectrophotometer Beckman DU-2).

### 4.3 TOK EKSPERIMENTA

Svi eksperimenti su izvedeni po sličnoj proceduri koja je pojednostavljeno prikazana na Shemi 1. U pojedinim grupama eksperimenata procedura je donekle modifikovana, što će kasnije biti opisano. Supstance (adrenalin i izoproterenol) su aplicirane u bolusima i.a.u dozama od 0,1 i 1 micro g/kg, rastvorene u fiziološkoj otopini (0,1 ml/10 kg) i potisnute sa 1 ml tople fiziološke otopine. Uzorci (5 ml krvi) su uzimani u vremenima označenim na Shemi 1. i nadoknađivani istim volumenom fiziološke otopine.

Korišćena je standardna metoda hipertenzije (W i g g - e r s - L a m s o n - D e T u r k) sa konstantnim pritiskom od 5.3 kPa koji se održava 180 minuta, promjenom nivoa rezervoara uz otvoreni sistem (Shema 1).

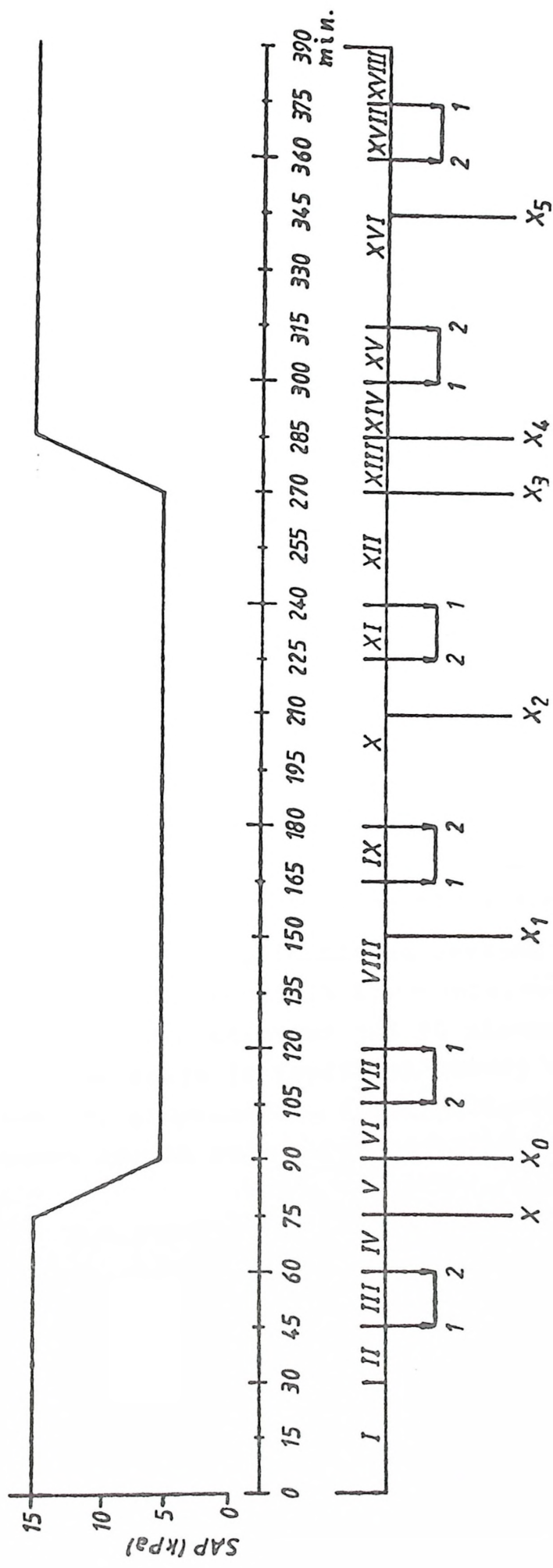
Supstance (adrenalin i izoproterenol) su aplicirane naizmjenično kako je prikazano na Shemi 1. U pauzama su u ogrank art. mezenterike sup. aplicirani odgovarajući volumeni zagrijane fiziološke otopine, uglavnom bez uticaja na protok. Ukoliko je bilo nekih efekata efekti diferentnih supstanci su reducirani za efekte fiziološke otopine.

#### 4.3.1 ALFA-ADRENERGIČKA BLOKADA FENOKSIBENZAMINOM (PBZ)

Eksperimenti su izvedeni na 28 pasa podijeljenih u 4 grupe:

- a) normovolemička + fiziološka otopina,
- b) hipovolemička + fiziološka otopina,
- c) normovolemička + PBZ,
- d) hipovolemička + PBZ

PBZ je infundiran (1 mg/kg u 30 ml fiziološke otopine tokom 30 minuta) i.v. u v. femoralis sa početkom 30 minuta prije sa početkom 30 minuta prije starta iskrvarenja. U grupama bez



Shema 1: Shematski prikaz eksperimentalne procedure u eksperimentalnoj grupi X, ... X<sub>5</sub> - vrijeme uzimanja uzoraka krvi; 1 i 2 - vrijeme aplikacije prve (1) i druge (2) supstance; I - vrijeme izvođenja hirurške procedure; II, VI i XIV - periodi stabilizacije funkcija; III, IV, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XV, XVI, XVII i XVIII - periodi posmatranja djelovanja apliciranih supstanci na protok kroz art. mezenteriku sup.; V - period iskrvarenja; XIII - period retransfuzije; SAP - srednji arterijski pritisak

PBZ aplicirana je na isti način fiziološka otopina u istom volumenu. Ostala procedura je već opisana.

#### 4.3.2 OPIOIDNA BLOKADA NALOKSONOM

Eksperimenti su izvedeni na 25 pasa podijeljenih u 4 grupe:

- a) normovolemička + fiz. otopina,
- b) hipovolemička + fiz. otopina,
- c) normovolemička + nalokson,
- d) hipovolemička + nalokson.

Procedura hipotenzije je unekoliko izmijenjena. Poslije iskrvarenja i 30 minuta stabilne hipotenzije na 5,3 kPa apliciran je nalokson (DuPont de Nemours, USA) 2 mg/kg u bolusu, praćen sa 2,5 časovnom infuzijom 2 mg/kg/sat. U grupama bez naloksona, na isti način je data fiziološka otopina. Poslije aplikacije bolusa veza sa rezervoarom je zatvorena i dopušteno je eksperimentalnoj životinji da mijenja visinu pritiska. Takvo stanje je održavano sve do trenutka kada je pritisak pao do 5,3 kPa i imao tendencu daljeg pada. Tada je otvorena komunikacija i pritisak je dalje održavan na nivou 5,3 kPa promjenom visine rezervoara.

Na kraju hipotenzivnog perioda (180 minuta), kao i u grupi sa PBZ, sva preostala krv u rezervoaru je retransfundirana i parametri su registrovani još 90 minuta. U odredjenom broju eksperimenata na kraju je ispitivan uticaj nekih supstanci (gvana-benz, kokain, propranolol, insulin) na registrovane parametre i reaktivnost krvnih sudova mezenteričkog vaskularnog stabla.

#### 4.3.3 EKSPERIMENTI SA d-Ala-d-Leu-enkefalinom (DADLE)

Eksperimenti su izvedeni na 13 pasa podijeljenih u 2 grupe:

- a) normovolemička + fiziološka otopina,
- b) normovolemička + DADLE.

Infuzija DADLE (Wellcome, England) u dozi od 100 micro g rastvoreno u 15 ml fiziološke otopine u toku 3 sata brzinom od 5 ml/sat ili adekvatnog volumena fiziološke otopine je startovala u vrijeme koje korespondira sa završetkom iskrvarenja ( $x_0$ ) u hipotenzivnim grupama (Shema 1). Ovom dozom supstance se približno postiže nivo Leu-enk adekvatan nivou ovog opioida u hemoragičnom šoku. Eksperiment traje i ima eksperimentalni protokol kako je dato u Shemi 1.

#### 4.4 OBRADA REZULTATA

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost  $\pm$  jedna S.E. Efekt supstanci je predstavljen postotkom povećanja ili smanjenja protoka u odnosu na bazalni protok koji je dat pojedinačno za svaku promjenu. Vrijednost povećanja ili smanjenja protoka predstavlja vrijednost vrha "pika" promjene pod uticajem supstance. Poslije "pika" protok se vraća na početnu vrijednost.

Mezenterički otpor je izračunat kao matematski odnos srednjeg arterijskog pritiska i protoka kroz art. mezenteriku sup. ( $P/Q$ ) i izražava se u kPa/ml/min/kg (PRU) (H i r s c h and G l i c k, 1973). Ovakav način izračunavanja predstavlja određenu aproksimaciju. Umjesto arterijskog pritiska uglavnom se koristi razlika srednjeg arterijskog pritiska i portalnog pritiska. Međutim, portalni pritisak u psa je relativno nizak (0,5-0,6 kPa), pa smatramo da unošenje ove vrijednosti ne bi bitno mijenjalo brojnik razlomka. U hipotenziji pritisci na venskom kraju cirkulacije opadaju, što se vidi iz niskih vrijednosti centralnog venskog pritiska (S r k a l o v i ć, 1984), pa smatramo da se ova aproksimacija pri izračunavanju MVR može koristiti.

Statistička obrada je izvršena testiranjem signifikantnosti razlika aritmetičkih sredina (T-test). Rezultati su prikazani u vidu prostornih grafikona. Signifikantnosti su označene sa tri vrste znakova. Zvezdice označavaju signifikantnost razlike aritmetičkih sredina u odnosu na normovolemičku grupu tretiranu fiziološkom otopinom. Krstići označavaju signifikantnost razlika između hipovolemičkih grupa. Kružići, pak, označavaju signifikant-

tnost razlika između grupa tretiranih nekim drugim supstancama (PBZ, Naloxone, DADLE), a ne fiziološkom otopinom. Granični nivo signifikantnosti je nivo 0,05. Jedan znak (zvjezdica, krug, žić, krstić) označava signifikantnost od 0,05. Dva znaka označavaju nivo od 0,01, a tri 0,001. Eksperimentalni periodi su označeni kao CP (kontrolni period), HP (hipotenzivni period) i RP (period poslije retransfuzije).

U radu se koriste skraćenice: MBF (mezenterički protok krvi), MVR (mezenterički vaskularni otpor), PRU (jedinica perifernog otpora - kPa/ml/min/kg), MBP (srednji arterijski pritisak), EKG (elektrokardiogram), PBZ (fenoksibenzamin), Sal. (fiziološka otopina), Nal. (nalokson) i DADLE (d-Ala-d-Leu-enkefalin).

Jedinice korišćene u radu su prilagodjene SI sistemu mjera.

#### 4.5 KORIŠĆENE SUPSTANCE

U eksperimentima su korišćene sljedeće supstance: isoproterenol (Aleudrin), L-adrenalin (Serva Biochemicals, W. Germany), phenoxybenzamine hydrochloride (Smith Kline and French Labs., Philadelphia, USA), naloxone hydrochloride (DuPont de Nemours, Wisconsin, USA), (d-Ala<sup>2</sup> d0Leu<sup>5</sup>) enkephalin (DADLE - BW 180 C, Wellcome Res. Lab., Kent, U.K.) heparin (Galenika, Zemun), propranolol hydrochlorid, rauwolscine, guanabenz, cocaine hydrochloride.

Naloxone hydrochloride i DADLE su ljubazni pokloni Dr. J. Whitney (Du Pont de Nemours) i Dr. S. Wilkinson (Wellcome). Ovom prilikom im se najsrdačnije zahvaljujem.

## 5. REZULTATI

### 5.1 ALFA-ADRENERGIČKA BLOKADA SA FENOKSI- BENZAMINOM (PBZ)

Alfa-adrenergička blokada sa fenoksibenzaminom poga-  
dja prevashodno alfa<sub>1</sub>-adrenoceptore, dok alfa<sub>2</sub>-adrenoceptori  
ostaju aktivni u uslovima ove blokade. PBZ je ireverzibilni an-  
tagonist, pa njegovo djelovanje nije vremenski ograničeno. Pošto  
je uticaj na preživljavanje u šoku ispitivan u brojnim radovima  
mi nismo pratili ovaj parametar. Stoga smo u obzir pri obradi  
uzeli samo one eksperimente koji su trajali bar do retransfuzi-  
je. U ovim eksperimentima smo koristili po jednu dozu izoprote-  
renola i adrenalina (1 micro g/kg), s tim da je adrenalin kori-  
šćen kao provjera efikasnosti alfa<sub>1</sub>-adrenoceptorne blokade.

Blokada sa FBZ nije imala signifikantan uticaj na  
frekvencu disanja u normovolemiji (Fig. 1) kao i u hipovolemiji, a  
takodje ni iskrvarenje nije značajno uticalo na frekvencu disanja.  
Medjutim, vrlo je izražena, mada nije statistički signifikantno  
ispoljena tendenca rasta frekvence disanja u hipovolemiji. To je  
razumljivo s obzirom na činjenicu da je simpatički sistem stimu-  
lisan u toku hipotenzije. Taj porast je u PBZ tretiranim životi-  
njama nešto manji što bi ukazivalo da je porast frekvence donekle  
rezultat simpatičke stimulacija.

Moram odmah naglasiti, u početku komentarisanja rezul-  
tata, da vrlo često u cijelom ovom radu postoje jasne promjene i  
trendovi mijenjanja odredjenih parametara, ali bez statističke  
verifikacije signifikantnosti. To je rezultat relativno malog  
broja eksperimenata. U ovom radu je u svakoj grupi bilo najmanje  
6 pasa, što je broj koji je prihvaćen u svim laboratorijama kao  
dovoljan kada se radi sa velikim životinjama. Takodje postoji u  
našim eksperimentima i nehomogeno ponašanje pasa koji su različi-  
tog porijekla, rase, zdravstvenog stanja, uhranjenosti i kardio-  
vaskularne kondicije. Pri matematskoj obradi smo se trudili da

što više umanjimo uticaj težine na vrijednosti parametara.

FBZ nije imao signifikantan uticaj na frekvencu rada srca, što je i razumljivo, s obzirom na vezanost hronotropnosti

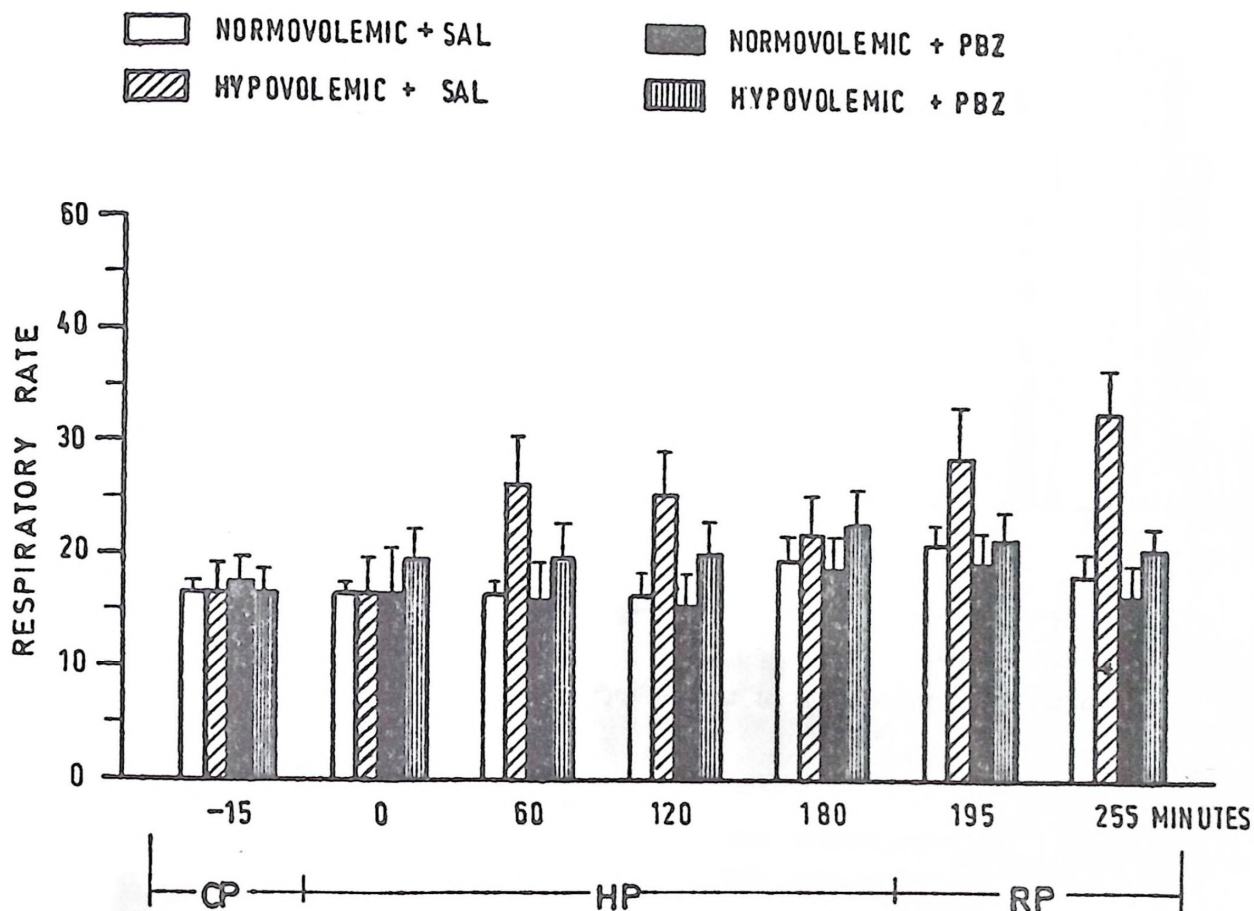


Fig. 1: Frekvencija disanja u toku eksperimenata sa PBZ

za funkciju srčanih beta-adrenoceptora. Postoji lagana tendencija rasta frekvence u svim eksperimentima, osim, donekle, u hemoragiji, pa u trećem satu hipotenzije i odmah poslije retransfuzije postoji čak i signifikantno niža frekvencija u hemoragiji sa fiziološkom otopinom u odnosu na apsolutnu kontrolu (normovolemija + sal.). Prilično nekonzistentno ponašanje pasa u hemoragiji s obzirom na promjene frekvence mogu se objasniti početnim statusom vegetativnog nervnog sistema, jer su pojedini psi reagovali na hemoragiju smanjivanjem frekvence srca, i u isto vrijeme sporije i slabije su krvarili u rezervoar, dok su drugi reagovali snažnim simpatičkim oslobadjanjem, što se očitivalo povećanjem frekvence i brzim i snažnim krvarenjem (Fig. 2).

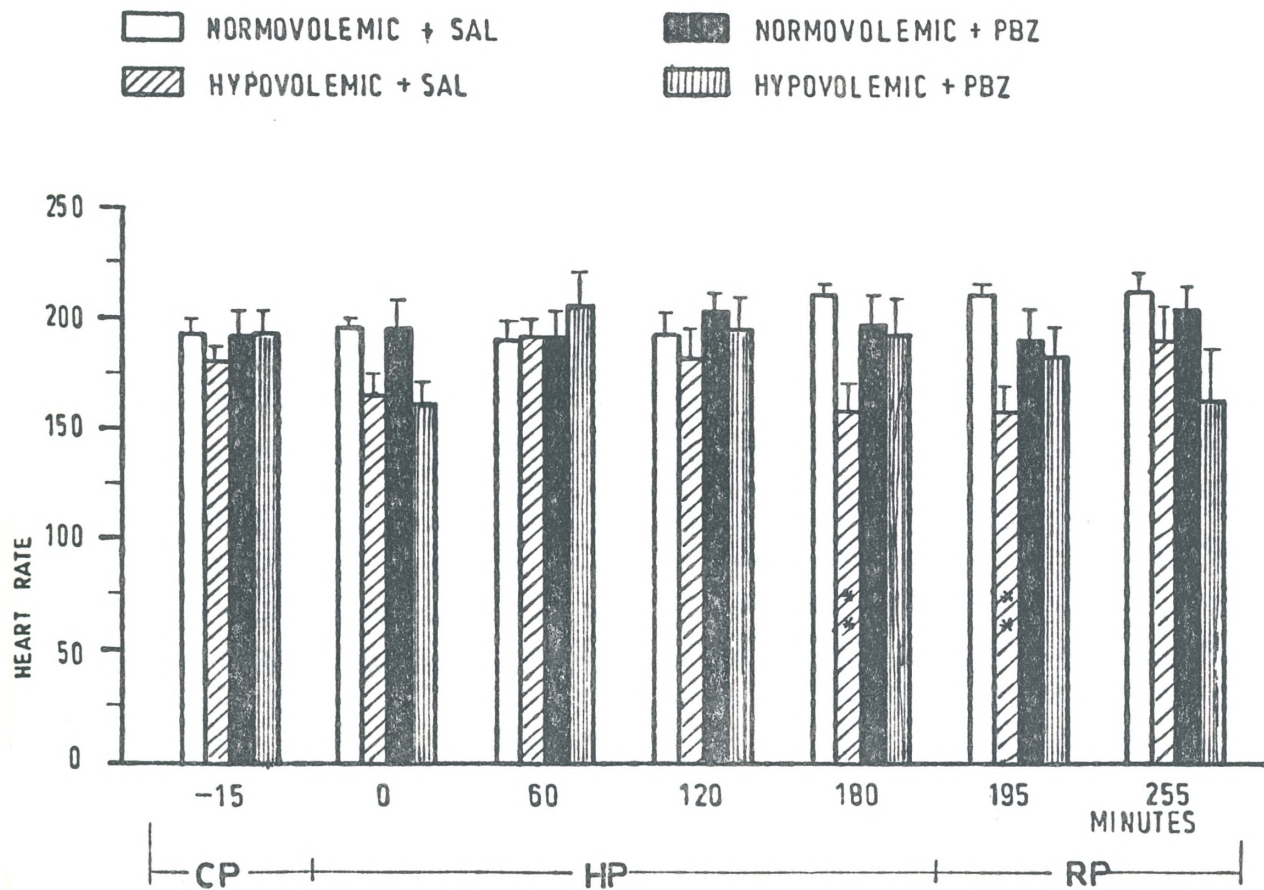


Fig. 2: Dinamika srčane frekvence u toku eksperimenata sa PBZ

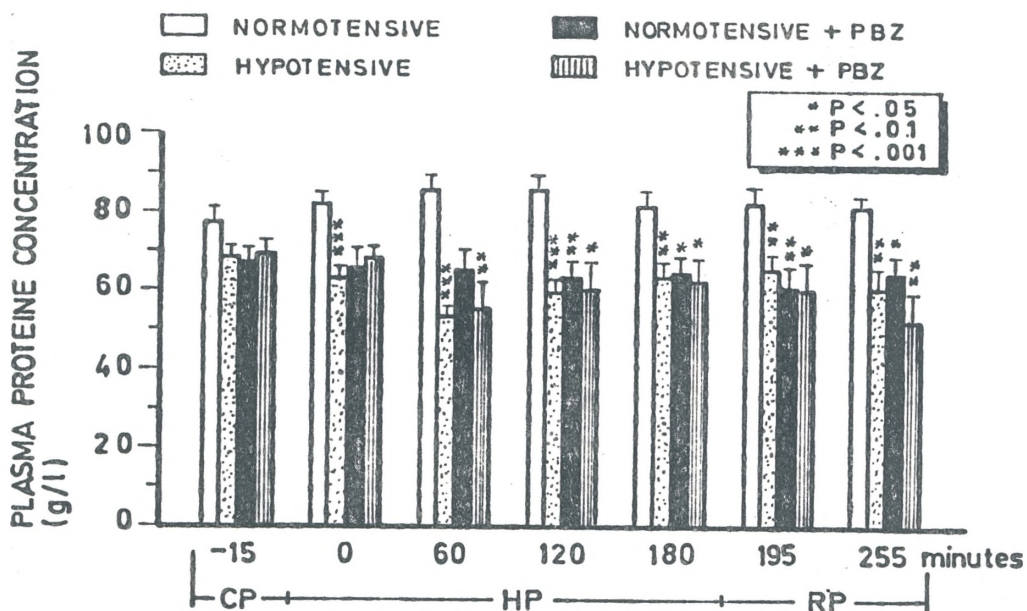


Fig. 3: Dinamika proteinemije u toku eksperimenata sa PBZ

Proteinemija (Fig. 3) je signifikantno reducirana sa iskrvarenjem i u sal- i PBZ-tretiranoj grupi, a takodje i sa

razvojem alfa<sub>1</sub>-blokade (u drugom i trećem satu hipotenzije i poslije retransfuzije). U hipotenziji FBZ nije signifikantno mijenjao proteinemiju, tako da je ona, uglavnom, na istom nivou u obje grupe. Efekt FBZ na proteinemiju u normovolemiji potvrđuje njegovo djelovanje u smislu dilucije (K r n i ć, 1983). To se nije ispoljilo u hipovolemiji, kao što bi se očekivalo. Možda je zbog relativno manje doze PBZ, koji smo koristili samo u cilju alfa<sub>1</sub>-blokade, ovaj efekt bio u hipotenziji odsutan.

PBZ nije signifikantno mijenjao hematokrit (Fig. 4) u normovolemiji, ali je u hipotenziji signifikantno povećavao hematokrit u odnosu na sal.-tretiranu grupu. Ovaj efekt je, donekle, iznenadjujući, s obzirom da bi alfa<sub>1</sub>-blokada trebala onemogućavati simpatički induciranu kontrakciju slezene i oslobađanje eritrocita iz nje, ukoliko alfa<sub>2</sub>-adrenoceptori nisu medijatori tog efekta. Na osnovu oba efekta (i na proteine i na hematokrit) ne može se donijeti zaključak o djelovanju PBZ u smislu hemodilucije u šoku.

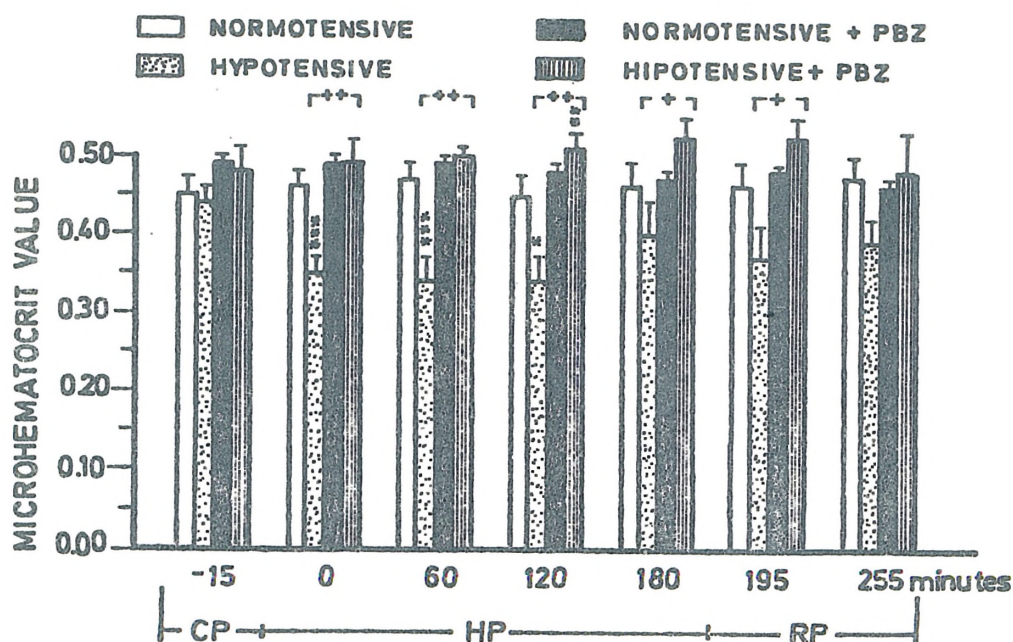


Fig. 4: Dinamika hematokrita u toku eksperimenata sa PBZ

PBZ je u našim eksperimentima ispoljio svoje poznato djelovanje na volumen iskrvarenja (Fig. 5) u smislu smanjenja početnog volumena iskrvarenja u odnosu na sal.-tretiranu grupu.

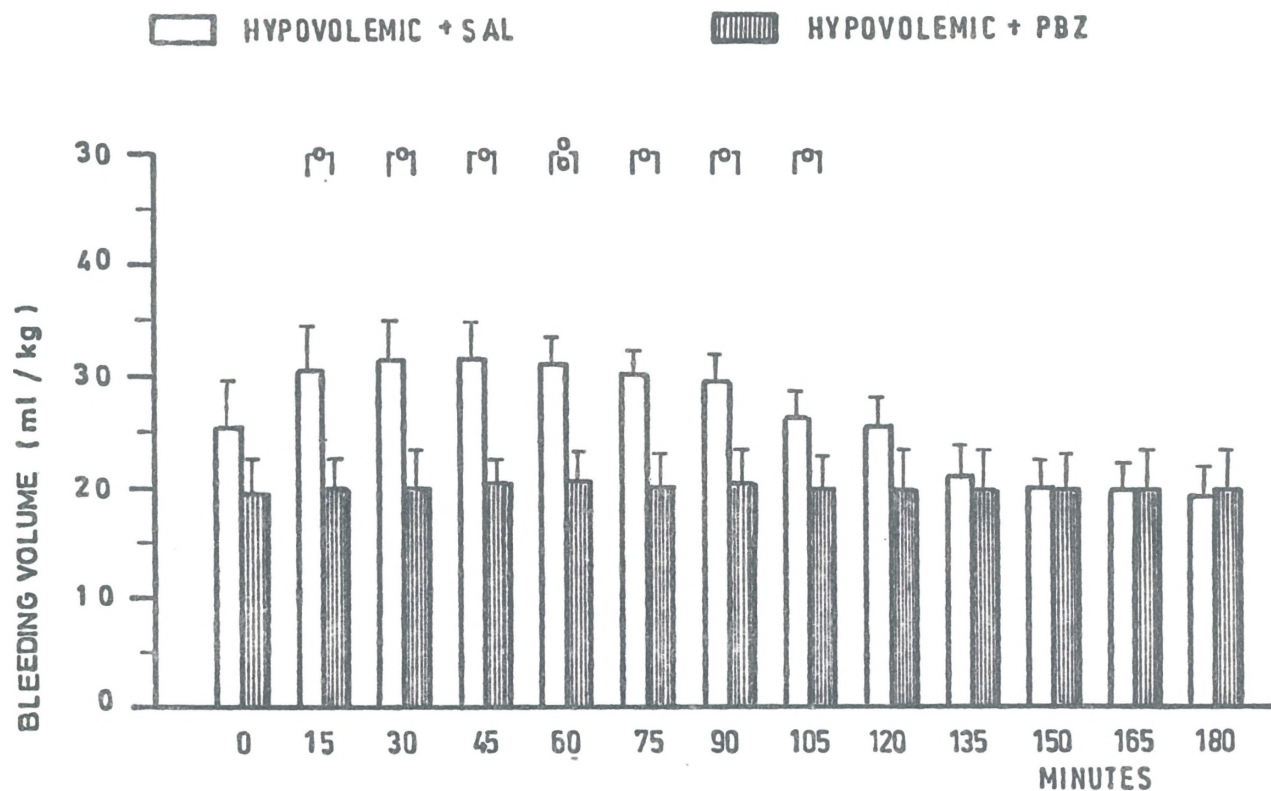


Fig. 5: Volumen iskrvarenja u toku hipotenzije u eksperimentima sa PBZ

U daljem toku hipotenzije volumen iskrvarenja u PBZ hipovolemičkoj grupi se skoro ne mijenja. U sal.-tretiranoj grupi volumen iskrvarenja pokazuje tipično ponašanje sa najvećom vrijednošću volumena iskrvarenja 1 sat poslije završetka iskrvarenja, a zatim opada do kraja hipotenzije. Tada je volumen iskrvarenja u sal.-tretiranoj grupi čak i nešto niži no u PBZ-tretiranoj grupi. Taj prelaz volumena iskrvarenja iz rasta u lagani pad se smatra trenutkom radjanja kardiovaskularne dekompenzacije i nastanka "ireverzibilnog šoka". Očito je u PBZ grupi taj prelaz mnogo blaži i govori o manje drastičnim promjenama kod adrenergički blokiranih životinja, o čemu govori i manji početni volumen iskrvarenja.

Srednji arterijski pritisak (MBP) (Fig. 6) je u našem radu prikazan veličinom smanjenja ili povećanja u odnosu na kontrolnu (početnu) vrijednost eksperimenata iz sve četiri grupe životinja ( $17,81 \pm 1,15$  kPa). Signifikantnost razlike između hipovolemičkih grupa nije prikazana zato što pritisak u hipovo-

lemičkim grupama vještački održavan na niskoj vrijednosti (5,3 kPa) prema već navedenoj metodi. Vidno je da PBZ visoko signifikantno smanjuje MBP, što ukazuje na signifikantnu alfa-blokadu. Perzistiranje ovog efekta PBZ na MBP cijelo vrijeme trajanja eksperimenta potvrđuje ireverzibilitet i dugo trajanje alfa-blokade pri upotrebi PBZ. Interesantno je da retransfuzija ne vraća MBP na kontrolne vrijednosti ni u jednoj grupi.

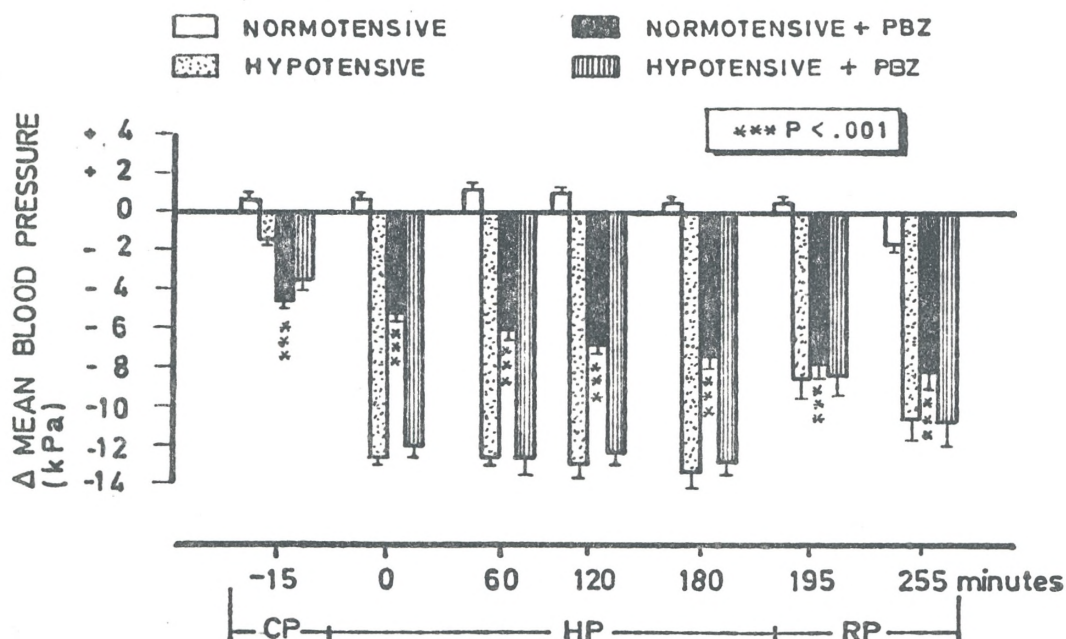
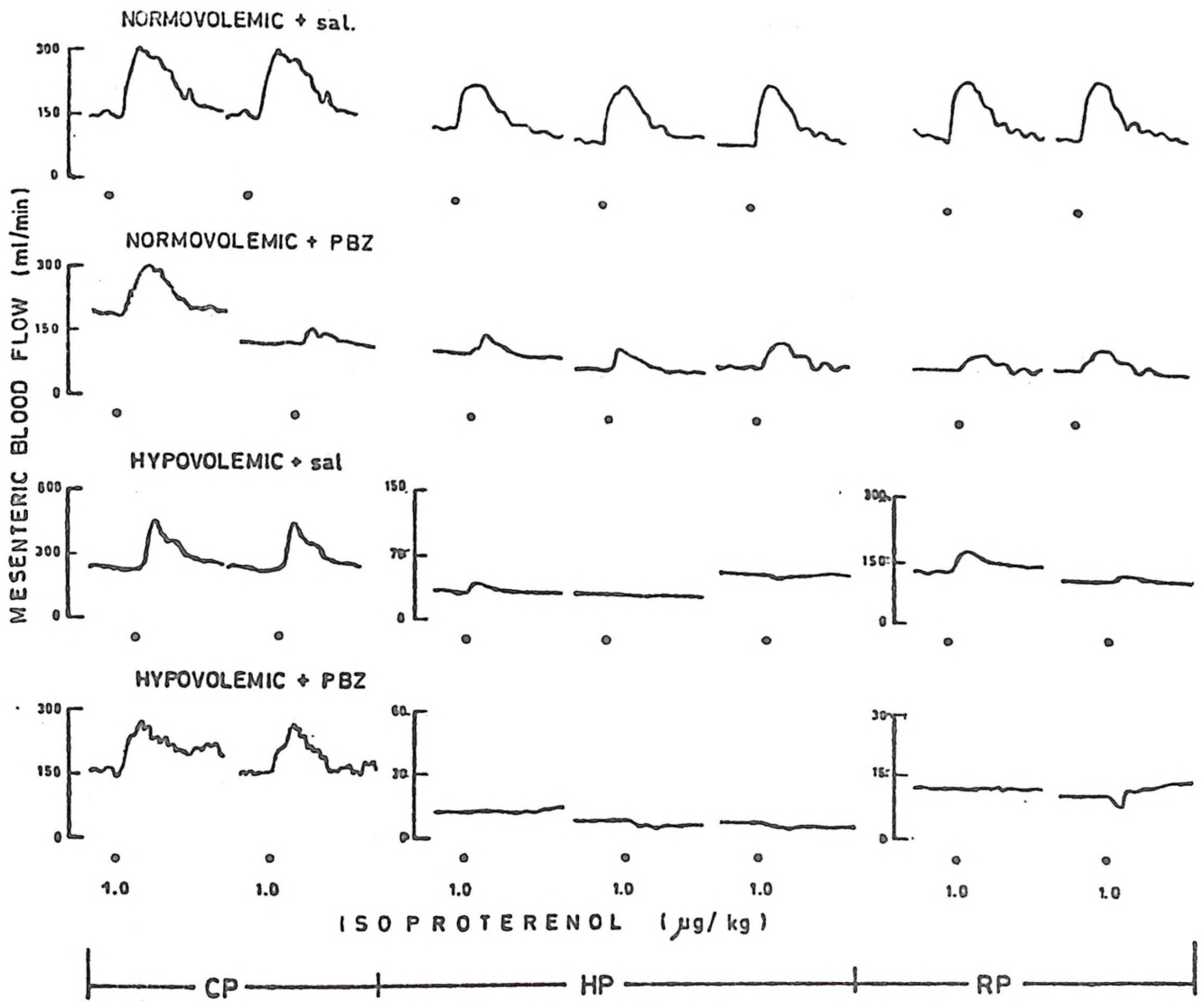


Fig. 6: Srednji arterijski pritisak u eksperimentima sa FBZ

Efekti izoproterenola (Sl. 1) na mezenterički protok krvi (MBF) su prikazani u postocima povećanja protoka u odnosu na bazalni MBF koji je različit za svaki pojedini eksperimentalni period i za svaku grupu, a i na slici je tako i prikazan (Fig. 7). Dobiveni rezultati su donekle iznenadjujući. Očekivali smo da će alfa-blokada eventualno djelovati lagano stimulatorno na funkciju beta-adrenoceptora, i da će odovor mezenteričkog protoka na aplikaciju izoproterenola biti bar nepromijenjen u ovim uslovima. Međutim PBZ blokada je reducirala efekte izoproterenola, što je u normovolemičkim grupama visoko signifikantno ispoljeno u četvrtom satu trajanja blokade, a i sat kasnije sa nižim stepenom signifikantnosti. U hipovolemiji nije bilo signifikantne razlike između PBZ i sal.-tretirane grupe, mada su efekti u PBZ grupi nešto izraženiji. Takođe se zapaža da su



Sl. 1: Tipični efekti i.a. aplikacije izoproterenola na protok krvi kroz arterijumezenteriku superior (originalni zapisi)

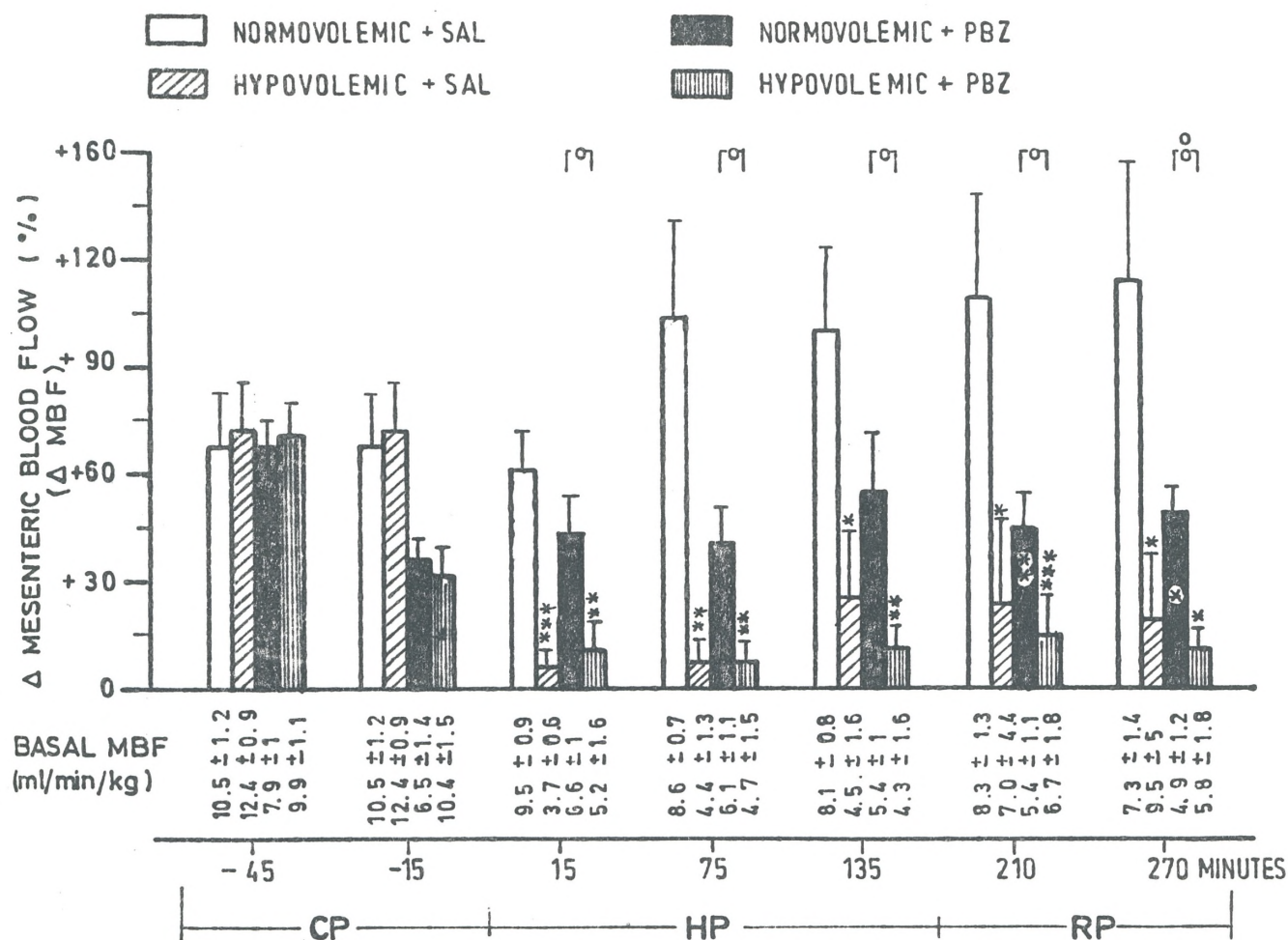
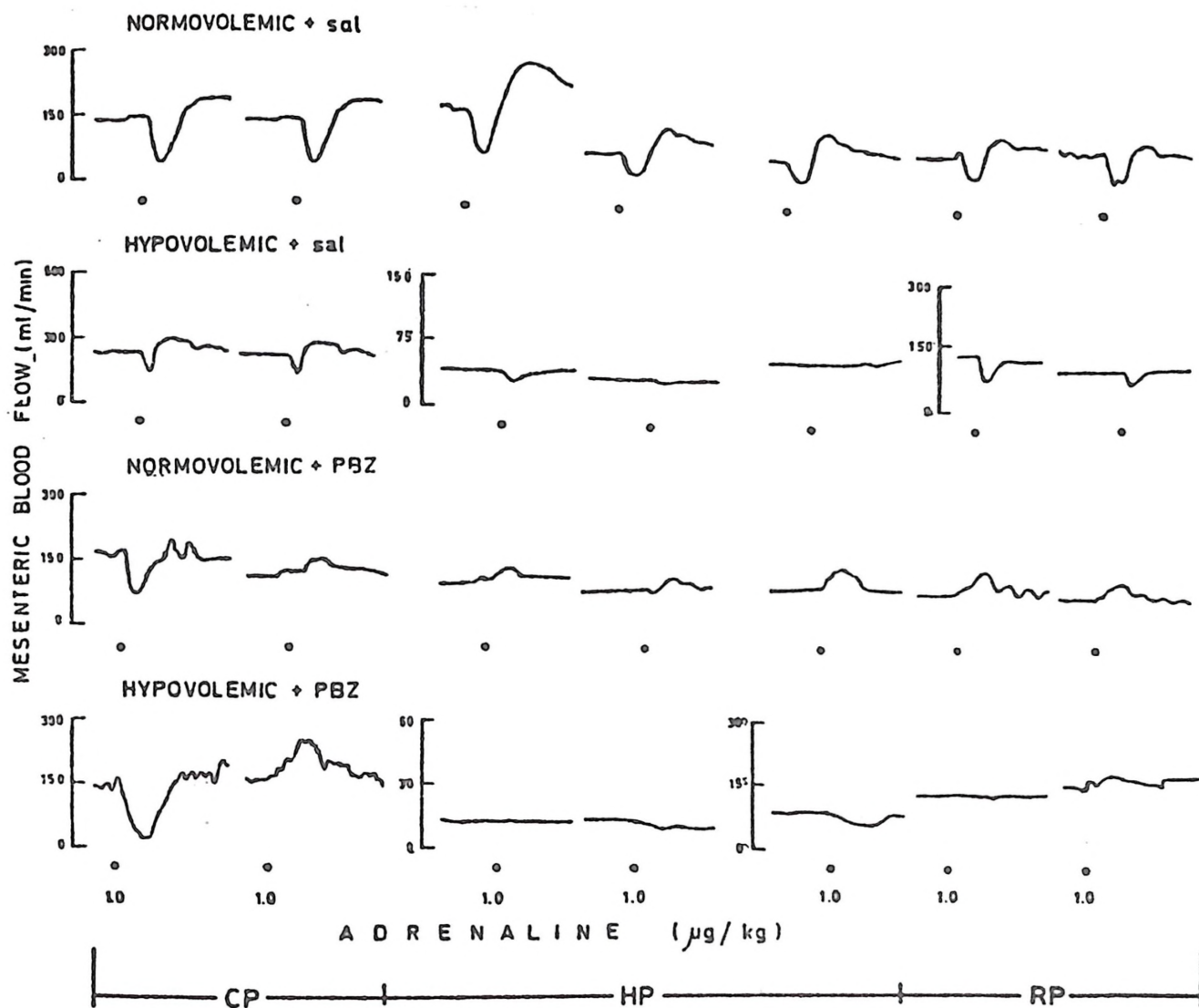


Fig. 7: Efekti izoproterenola na MBF u eksperimentima sa PBZ

efekti u PBZ grupi nešto izraženiji. Također se zapaža da su efekti u hipovolemičkim grupama signifikantno niži no u sal.-tretiranoj normovolemiji, što je sasvim u skladu sa našim prethodnim rezultatima i objavljenim radovima. Interesantna je činjenica da su efekti izoproterenola signifikantno niži u hipovolemičkim grupama, ne samo tokom hipovolemije, no i nakon retransfuzije, što smo također i prije primijetili.

Adrenalin (1 micro g/kg) smo koristili u cilju verifikacije alfa-blokade. Poslije aplikacije PBZ bifazični (6 slučajeva) ili izolovani efekt smanjenja protoka (2 slučajeva) se promijenio u efekt povećanja protoka u svim eksperimentima. Taj efekt povećanja sigurno nije bio efekt apliciranog volumena tečnosti, jer isti volumen zagrijane fiziološke tečnosti nije dao povećanje protoka. U daljem toku eksperimenta u svim slučajevima je adrenalin dao samo povećanje protoka, što govori o efikasnoj alfa<sub>1</sub>- blokadi u svim eksperimentima (Sl. 2). Primijetili smo da



Sl. 2: Tipični efekti i.a. aplikacije adrenalina na protok krvi kroz arteriju mezenteriku superior (originalni zapisi)

aplicirani adrenalin, s druge strane, i u prisustvu alfa-blokade sa PBZ, produkuje sistemske efekte u vidu "pika" povećanja pritiska neposredno poslije aplikacije. Ove smo efekte pripisali stimulaciji alfa<sub>2</sub>-adrenoceptora u sistemske vaskularizaciji od strane cirkulišućeg adrenalina, što se pokazalo tačnim. Aplikacija rauwolscina (0,5 mg/kg i.v.), alfa<sub>2</sub>-antagoniste sa visokom specifičnošću za ove receptore, eliminisala je ove sistemske efekte. Pokušali smo, takodje, približnije odrediti porijeklo povećanja MBF poslije aplikacije adrenalina u prisustvu PBZ blokade. Sigurno je da to nije posljedica sistemskog povećanja pritiska, jer je blokada rauwolscinom otklonila sistemske efekte, ali nije povećanje MBF.

Uticaj PBZ tretmana na MBF (Fig. 8) je predstavljena promjenama MBF u odnosu na srednju vrijednost početnog (kontrolnog)

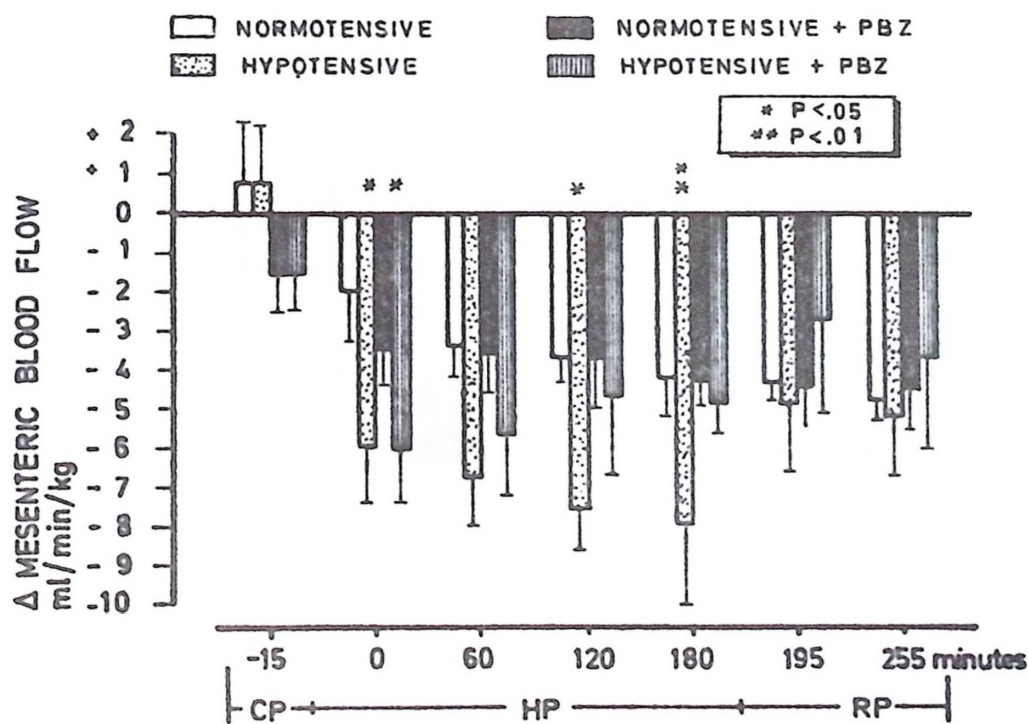


Fig. 8: Promjene protoka kroz art. mezenteriku sup. u eksperimentima sa PBZ

protoka eksperimenata u svim grupama ( $10,05 \pm 0,84$  ml/min/kg). Ova vrijednost je registrovana neposredno prije početka infuzije PBZ. Uočljivo je da PBZ u normovolemiji u početku lagano sma-

njuje MBF, ali u daljem toku eksperimenta smanjenje protoka u obje grupe se izjednačuje. U hipovolemiji je smanjenje mezenteričkog protoka u prvom satu identično i u PBZ- i u sal.-tretiranoj grupi, ali sa razvojem hipovolemije ovo smanjenje postaje izrazitije u sal.-tretiranoj grupi, dok se u PBZ-tretiranoj grupi vidljivo poboljšava. Iz toga proizilazi i signifikantnost smanjenja protoka u sal.- tretiranoj hipovolemičkoj grupi u odnosu na sal.- tretiranu normovolemiju, dok je signifikantnost odsutna u PBZ-tretiranoj hipovolemiji. Očito je da PBZ pozitivno djeluje na perfuziju mezenteričkog vaskularnog stabla u toku hipotenzije.

Mezenterički vaskularni otpor (MVR) je takodje predstavljen promjenama u odnosu na početnu (prije infuzije PBZ) vrijednost, predstavljenu srednjom vrijednošću svih eksperimenata ( $2,29 \pm 0,17$  kPa/ml/min/kg - PRU). MVR (Fig. 9) raste izrazito

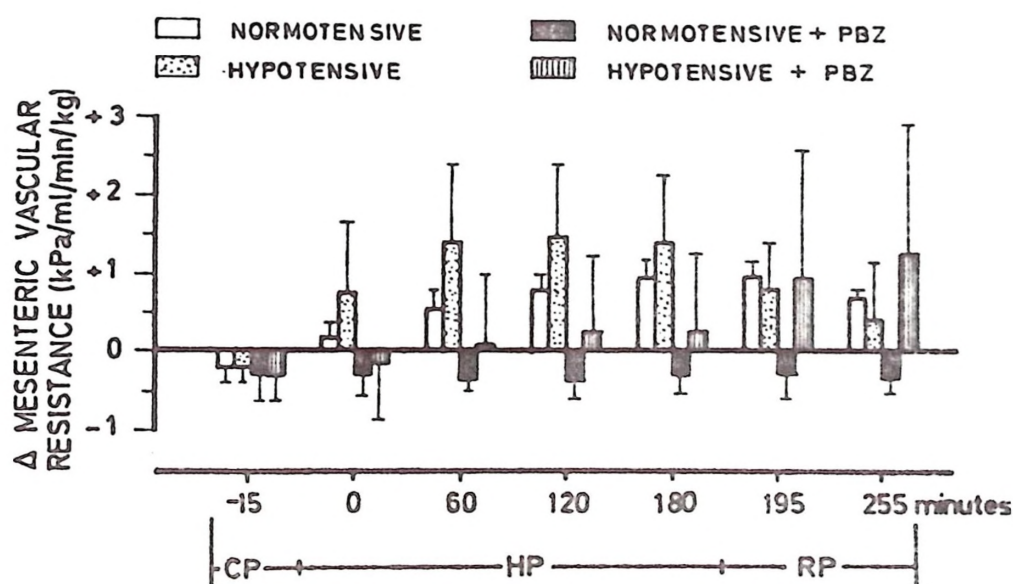


Fig. 9: Promjene mezenteričkog vaskularnog otpora u eksperimentima sa PBZ

poslije hemoragije u sal.-tretiranoj grupi, sa najvišom vrijednošću na kraju drugog sata eksperimenta. U PBZ-tretiranoj hipovolemičkoj grupi otpor vrlo lagano raste tokom hipotenzije, dok nešto izrazitije raste poslije retransfuzije. I u normovolemičkim grupama je zapaženo da PBZ smanjuje MVR, jer PBZ-tretirana

normovolemička grupa održava MVR stalno ispod kontrolnih vrijednosti, dok u sal.-tretiranoj grupi MVR raste sa pikom u petom (5) satu eksperimenta.

## 5.2 OPIOIDNA BLOKADA NALOKSONOM

Nalokson je blokator opioidnih receptora, bez agonističkog djelovanja na bilo koji tip opioidnih receptora. Pozitivno djelovanje naloksona u šoku je činjenica koja u zadnje vrijeme predstavlja predmet interesovanja brojnih istraživača. Uobičajeni model hemoragije koji je korišćen u većini radova za ispitivanje djelovanja naloksona je jedno ili jednoipčasovna hipotenzija. Sa infuzijom naloksona počinje se, ovisno o radu, 15, 30 ili 45 minuta nakon završetka iskrvarenja. Poslije jednog ili jedno i po sata hipotenzije izvršena je retransfuzija. U našim eksperimentima smo koristili tročasovnu hipotenziju na način opisan u poglavlju Materijal i metode. U naloksonskoj hipovolemičkoj grupi od 6 pasa, 5 je preživjelo kompletnu hipotenziju, s tim da su 2 psa egzistirala 2 sata poslije retransfuzije. U sal.-tretiranoj hipovolemičkoj grupi, od 6 pasa 3 su preživjela hipotenziju, a još jedan je egzistirao sat poslije retransfuzije. U našim eksperimentima smo u cilju postizanja većeg preživljavanja zaustavljali pad pritiska ispod 5,3 kPa, ukoliko je postojala takva tendencija. Od 6 pasa naloksonske hipovolemičke grupe, samo smo u jednom slučaju morali otvoriti komunikaciju između arterije i rezervoara u cilju zaustavljanja pada pritiska unutar prvog sata hipotenzije. U drugom satu smo isto morali uraditi u još 2 eksperimenta, a u trećem satu u preostala 3 eksperimenta. U sal.-tretiranoj hipovolemičkoj grupi komunikaciju smo morali otvoriti unutar prvog sata u 5 od 6 eksperimenata, jer bi u suprotnom došlo do fatalnog pada pritiska i egzitusa. Zbog takvog eksperimentalnog modela rezultati volumena iskrvarenja u ove dvije grupe nisu komparabilni, pa nisu ni prikazani.

U našim eksperimentima (Fig. 10) hemoragija je signifikantno povećavala frekvencu disanja i u naloksonskoj i u sal.-tretiranoj grupi, s tim da je u naloksonskoj grupi taj efekt bio prolongiran i poslije retransfuzije. U normovolemičkoj grupi nalokson nije mijenjao frekvencu disanja u odnosu na sal.-tretiranu grupu.

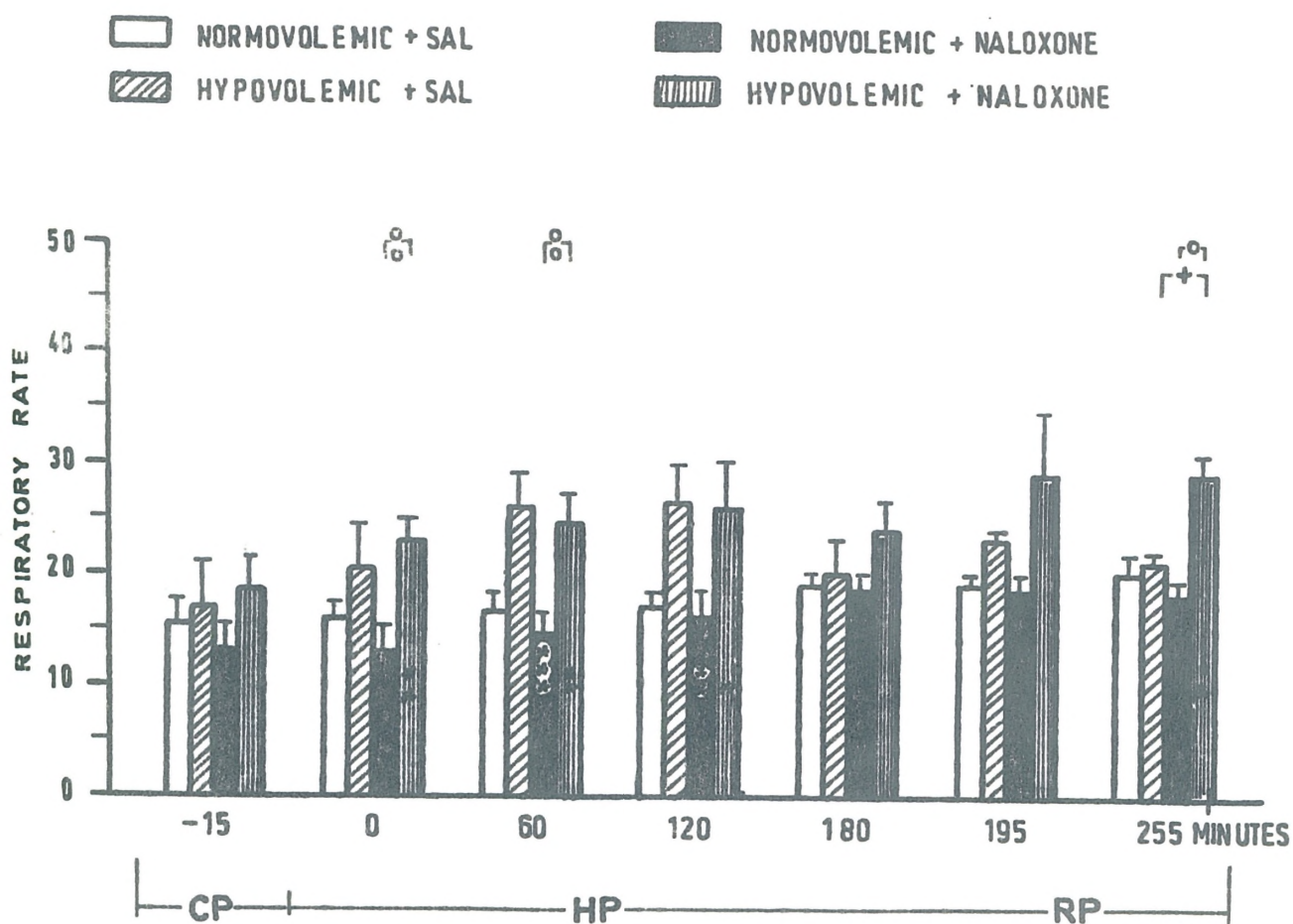


Fig. 10: Frekvencija disanja u eksperimentima sa naloksonom

Frekvencija rada srca (Fig 11) se nije značajno mijenjala u hipovolemičkoj sal.-tretiranoj grupi tokom hipotenzije, međutim, naloksonski tretman je uticao na smanjenje frekvencije u hipotenziji, u odnosu na normovolemičku kontrolu. Među hipovolemičkim grupama nije bilo razlike, dok su ove grupe u odnosu na sal.-tretiranu normovolemičku grupu značajnost ispoljile tek poslije retransfuzije.

Nalokson nije uticao na promjene nivoa proteina (Fig. 12), ni u normovolemičkoj, a ni u hipovolemičkoj grupi, s tim da je u obje hipovolemičke (i naloksonskoj i sal.-tretiranoj) grupe, vrijednost proteinemije bila nešto niža tokom hipotenzije u odnosu na početne vrijednosti, a i u odnosu na normovolemičke kontrole. U drugom satu hipotenzije je proteinemija u sal.-tretiranoj hipovolemičkoj grupi značajno niža nego u normovolemičkoj kontroli.

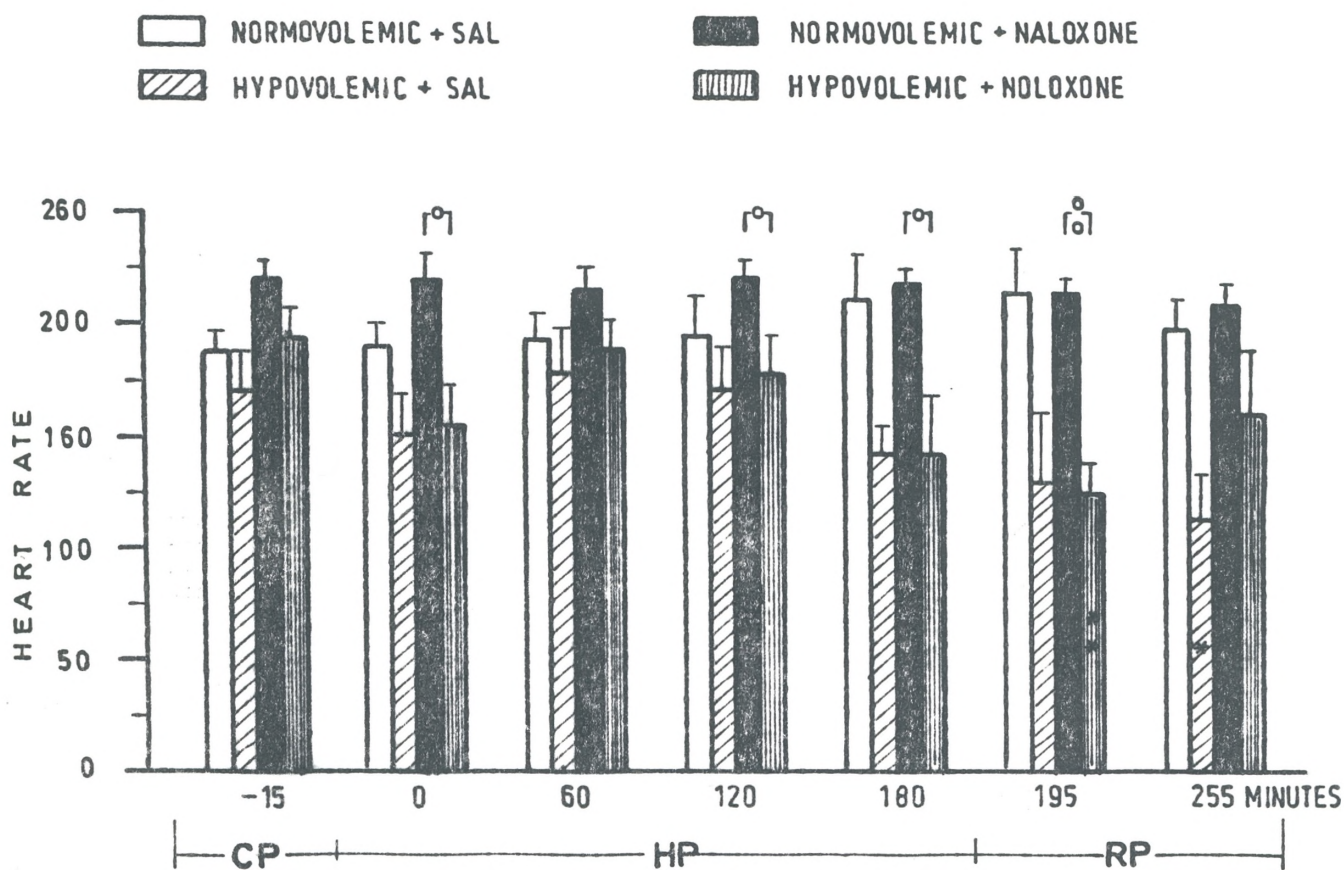


Fig. 11: Dinamika srčane frekvence u eksperimentima sa naloksonom

Hematokrit se također nije signifikantno mijenjao u bilo kojoj grupi u odnosu na sal.- tretiranu normovolemiju, ali je primjetna tendencija rasta hematokrita u naloksonskoj hipovolemičkoj grupi, nasuprot laganom padu u sal.- tretiranoj grupi. U normovolemiji su vrijednosti jako stabilne, posebno u naloksonskoj grupi. Ovo povećanje hematokrita u naloksonskoj hipotenziji bi moglo biti posljedica potenciranja kateholaminskih efekata u šoku.

Jedan od najčešće citiranih efekata naloksona u hipotenziji je njegovo hipertenzivno djelovanje u toku hipotenzije. U našem radu (Fig. 14) nismo mogli ustanoviti signifikantnost razlike u promjenama srednjeg arterijskog pritiska (MBP) u naloksonskoj i sal.- tretiranoj hipovolemičkoj grupi. Istina, u naloksonskoj hipovolemičkoj grupi je pad pritiska u prvom satu nešto manji, ali nema signifikantnosti. Međutim, s obzirom na već opisani model eksperimenta koji smo koristili, ovi rezultati su donekle i očekivani.

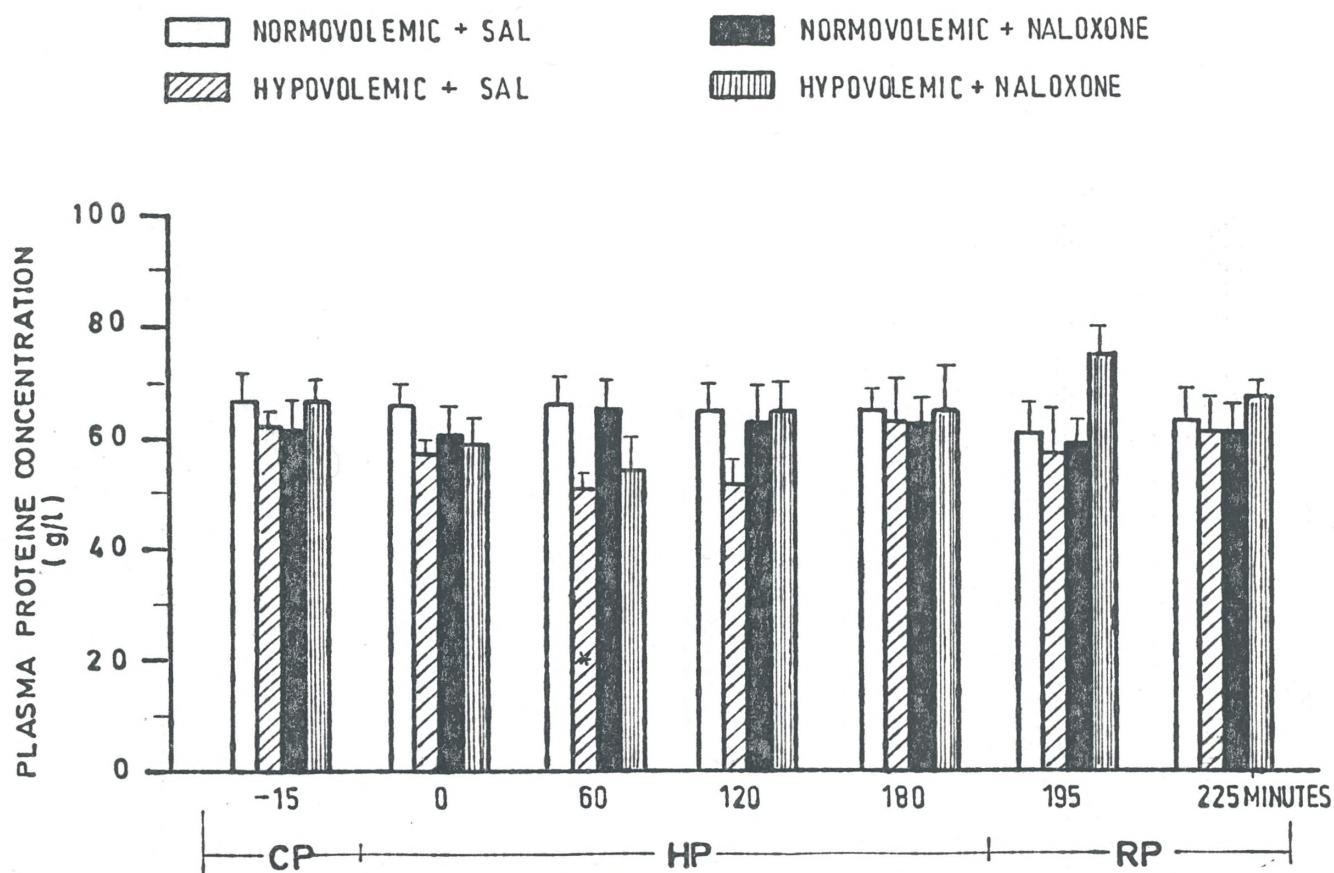


Fig. 12: Dinamika proteinemije u eksperimentima sa naloksonom

Interesantno je da, s druge strane, nalokson u normovolemičkoj grupi održava pritisak stalno iznad bazalne vrijednosti ( $19,12 \pm 0,5$  kPa), dok je u sal.- tretiranoj normovolemičkoj grupi MBP ispod bazalne vrijednosti tako da postoji signifikantna razlika između ove dvije normovolemičke grupe u trećem i četvrtom satu eksperimenta, na nivou signifikantnosti od čak 0,01 u trećem. I u ostalim vremenima su razlike vrlo blizu granice signifikantnosti od 0,05. Znači da smo u našim eksperimentima ustanovili da nalokson ne samo da povećava pritisak u toku hipotenzije (nalaz drugih autora), nego povećava pritisak i u normovolemiji.

U ovoj grupi eksperimenata smo koristili dvije doze (0,1 micro g/kg i 1 micro g/kg) adrenalina i izoproterenola. Međutim, dozu od 1 micro g/kg adrenalina nismo mogli koristiti u naloksonskoj hipotenziji, zbog pojave senzibilizacije organizma na efekte adrenalina u uslovima naloksonskog tretmana, tako da

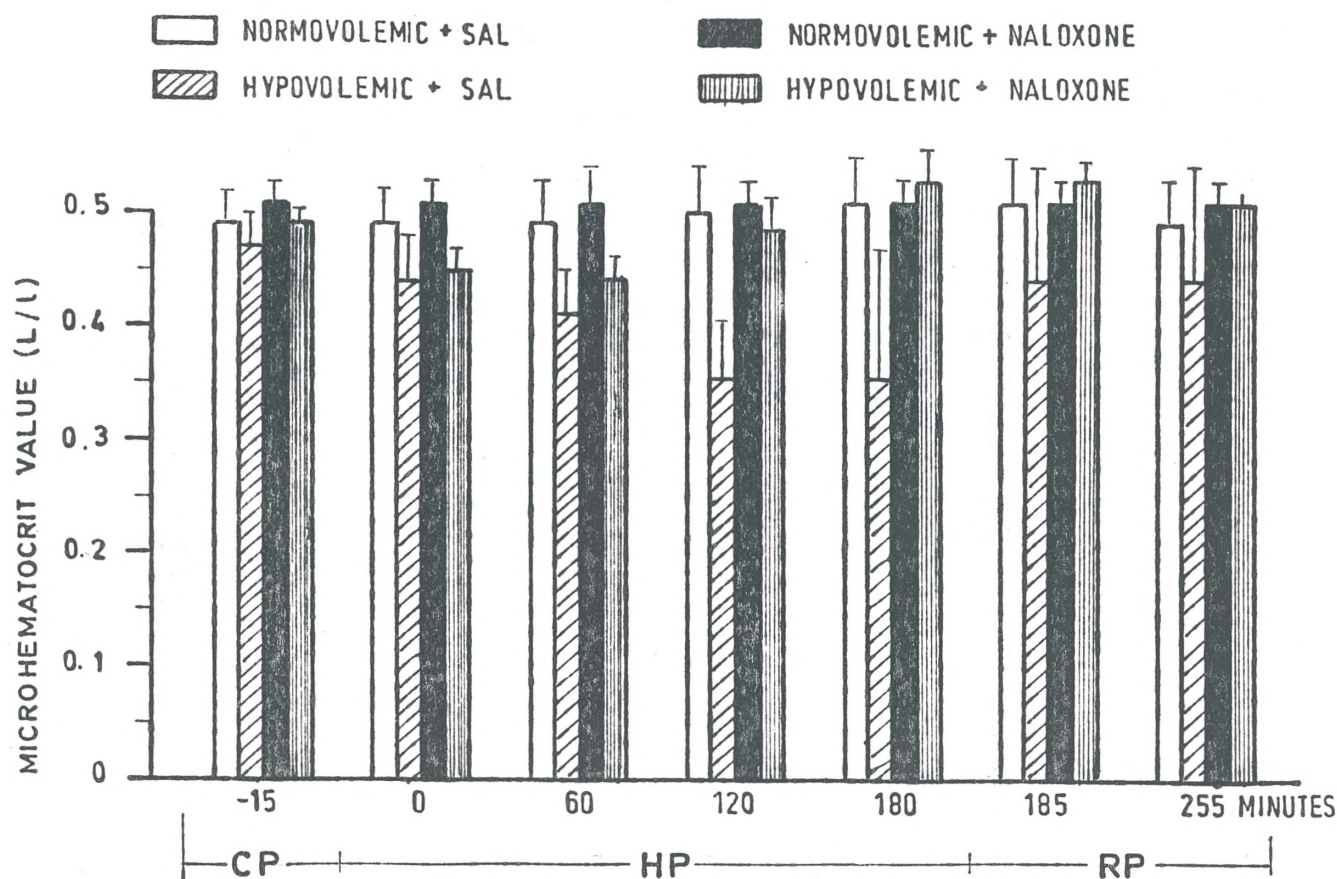


Fig. 13: Dinamika hematokrita u eksperimentima sa naloksonom

je adrenalin u ovoj dozi dovodio do dugotrajnih i teških hemodinamskih promjena koje su dovodile do egzitusa. Stoga nismo ove efekte prikazali u vidu grafikona. Efekti ove veće doze adrenalina su veći u naloksonskoj, no u sal.- tretiranoj normovolemičkoj grupi, ali nema signifikantne razlike. Medjutim, druga činjenica privlači mnogo više pažnje. U naloksonskoj normovolemičkoj grupi efekti ove doze adrenalina gube tipični oblik "pika" koji traje maksimalno 30 sekundi. Ovi efekti u prisustvu naloksonske blokade se znatno produžuju, tako da maksimalni efekt smanjenja protoka traje u prosjeku 1 minut, a kompletan efekt više od 2 minute (Sl. 3). U sal.- tretiranoj grupi efekti imaju oblik "pika" sa oštrim vrhom kao maksimalnim efektom supstance. Ovo izrazito produžavanje efekta adrenalina u uslovima naloksonske blokade je prisutno u svim eksperimentima i ostaje i nakon prestanka infuzije naloksona.

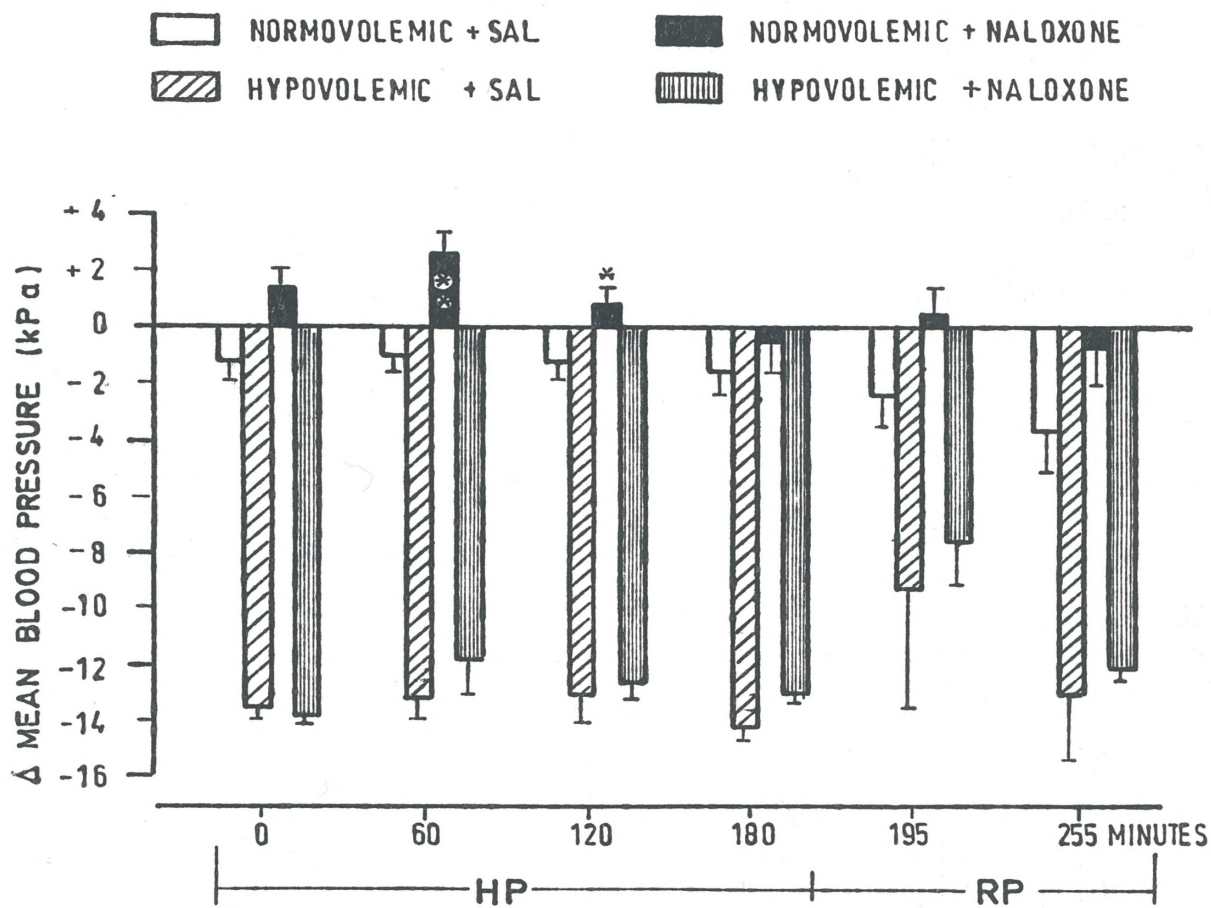
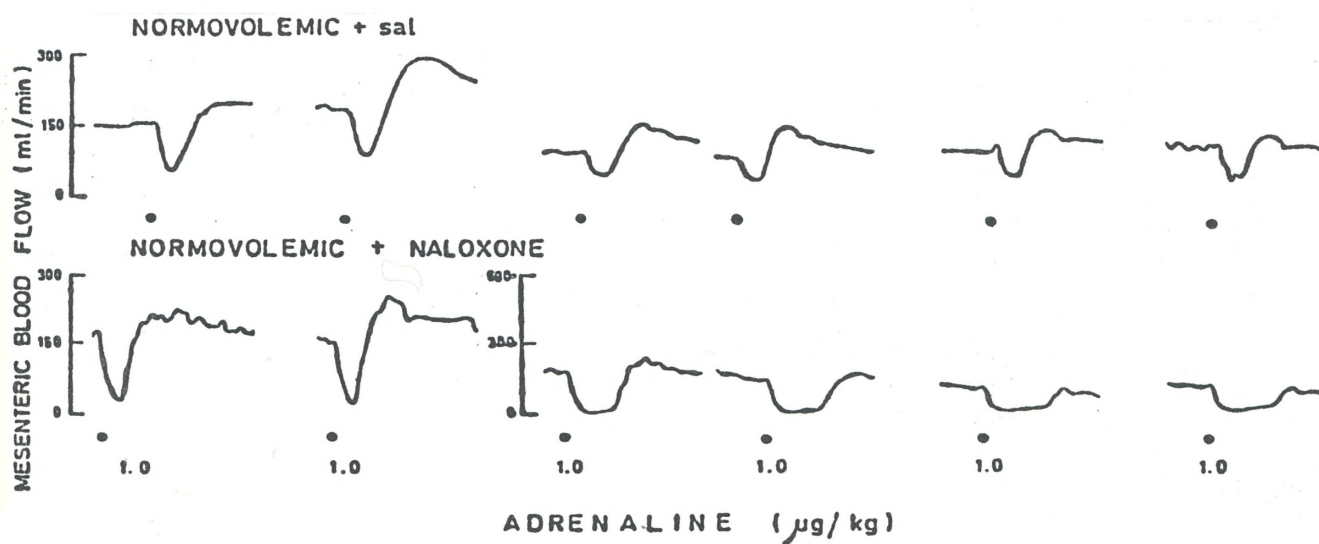


Fig. 14: Dinamika srednjeg arterijskog pritiska u eksperimentima sa naloksonom



Sl. 3: Tipični efekti i.v. aplikacije adrenalina na protok krvi kroz arteriju mezenteriku superior (originalni zapisi)

Efekti manje doze adrenalina (0,1 micro g/kg) se tako-  
dje razlikuju u naloksonskoj i sal.- tretiranoj normovolemičkoj  
grupi (Fig 15). Ovi efekti su prikazani na isti način kao i u  
eksperimentima sa PBZ izoproterenolskim efektima. Jedino je ra-  
zlika u tome što adrenalin produkuje bifazične efekte (smanjenje  
i povećanje protoka), koji su prikazani zajedničkim stubićima,  
ali su posebno uporedjivani efekti smanjenja, a posebno povećanja  
protoka. Nas posebno zanimaju efekti smanjenja protoka, koji su  
dokazano alfa efekti (Sl. 4). Efekti povećanja protoka nisu još  
potpuno etiološki rasvijetljeni, pa ih je teško komentarisati.

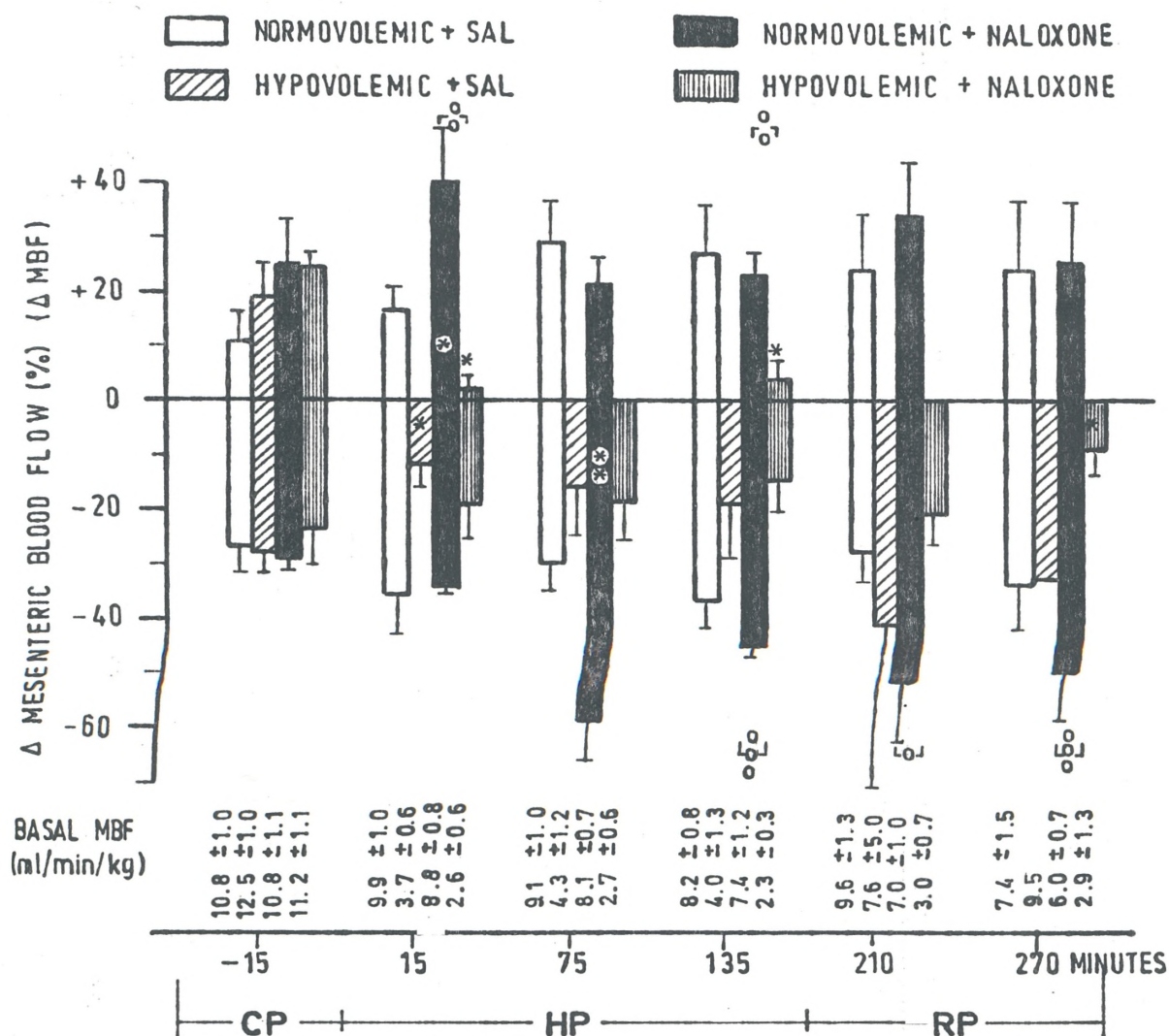
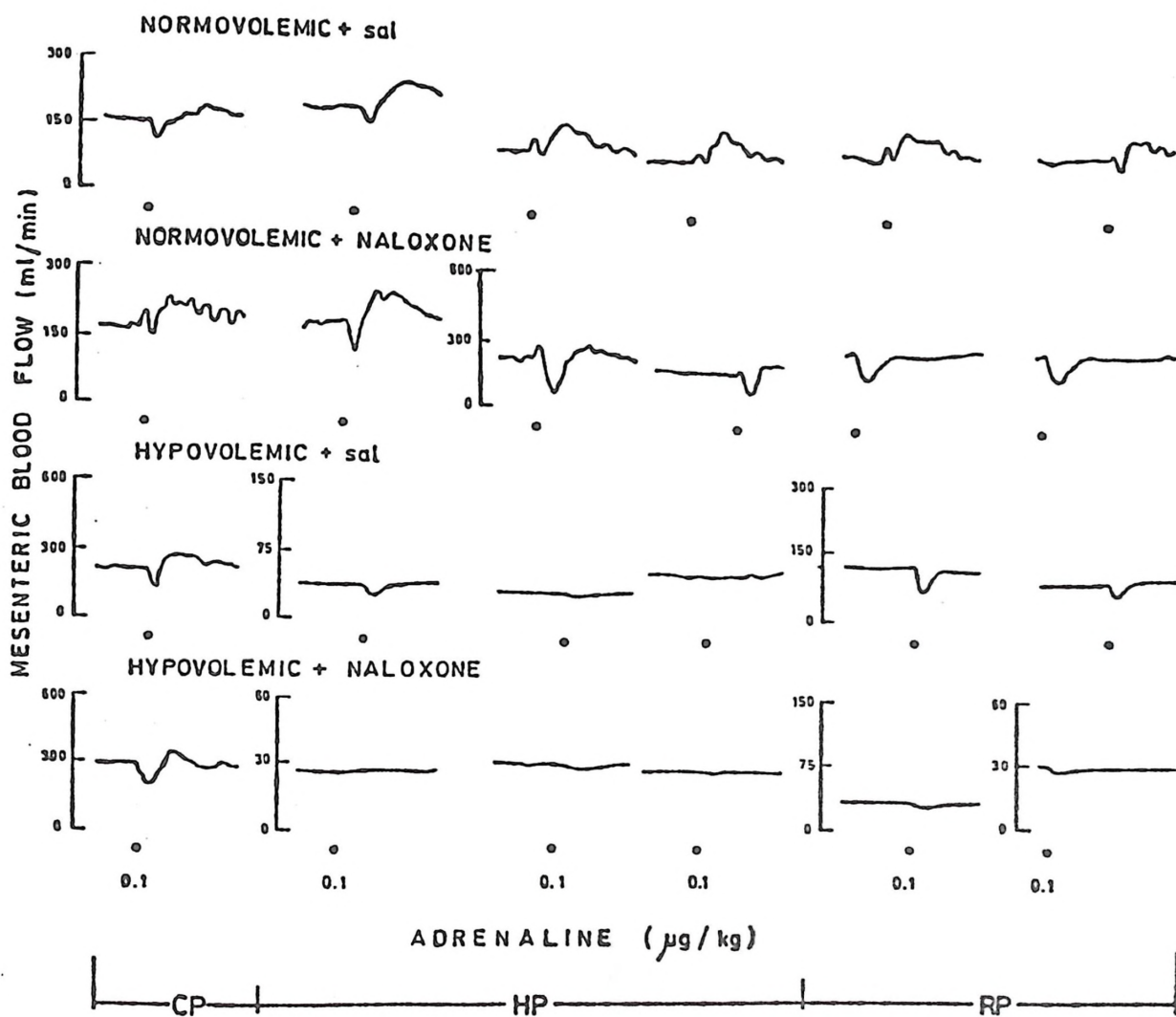


Fig. 15: Efekti adrenalina (0,1 micro g/kg) na MBF u eksperimentima sa naloksonom



Sl. 4: Tipični efekti i.a. aplikacije adrenalina na protok krvi kroz arteriju mezenteriku superior (originalni zapisi)

U trećem i četvrtom satu eksperimenta vazokonstriktorni efekti adrenalina su visoko signifikantno veći u naloksonskoj no u sal.- tretiranoj normovolemičkoj grupi. I u drugim periodima poslije početka infuzije naloksona su efekti izraženiji u naloksonskoj no u sal.- tretiranoj grupi. To se odnosi i na periode poslije završetka infuzije naloksona. U hipovolemičkim grupama ne postoje razlike u vazokonstriktornim efektima međusobno, a u odnosu na normovolemičke kontrole efekti su signifikantno niži u pojedinim periodima, ali u manjem stepenu no što je slučaj sa izoproterenolom. Možemo reći da u normovolemiji nalokson signifikantno stimuliše efekte adrenalina u mezenteričkoj vaskularizaciji.

Efekti izoproterenola (Sl 5 i Sl. 6) su predstavljeni na isti način kao i u eksperimentima sa PBZ. Efekti manje doze izoproterenola (0,1 micro g/kg) se signifikantno razlikuju u hipovolemičkim u odnosu na normovolemičke grupe (Fig. 16). U

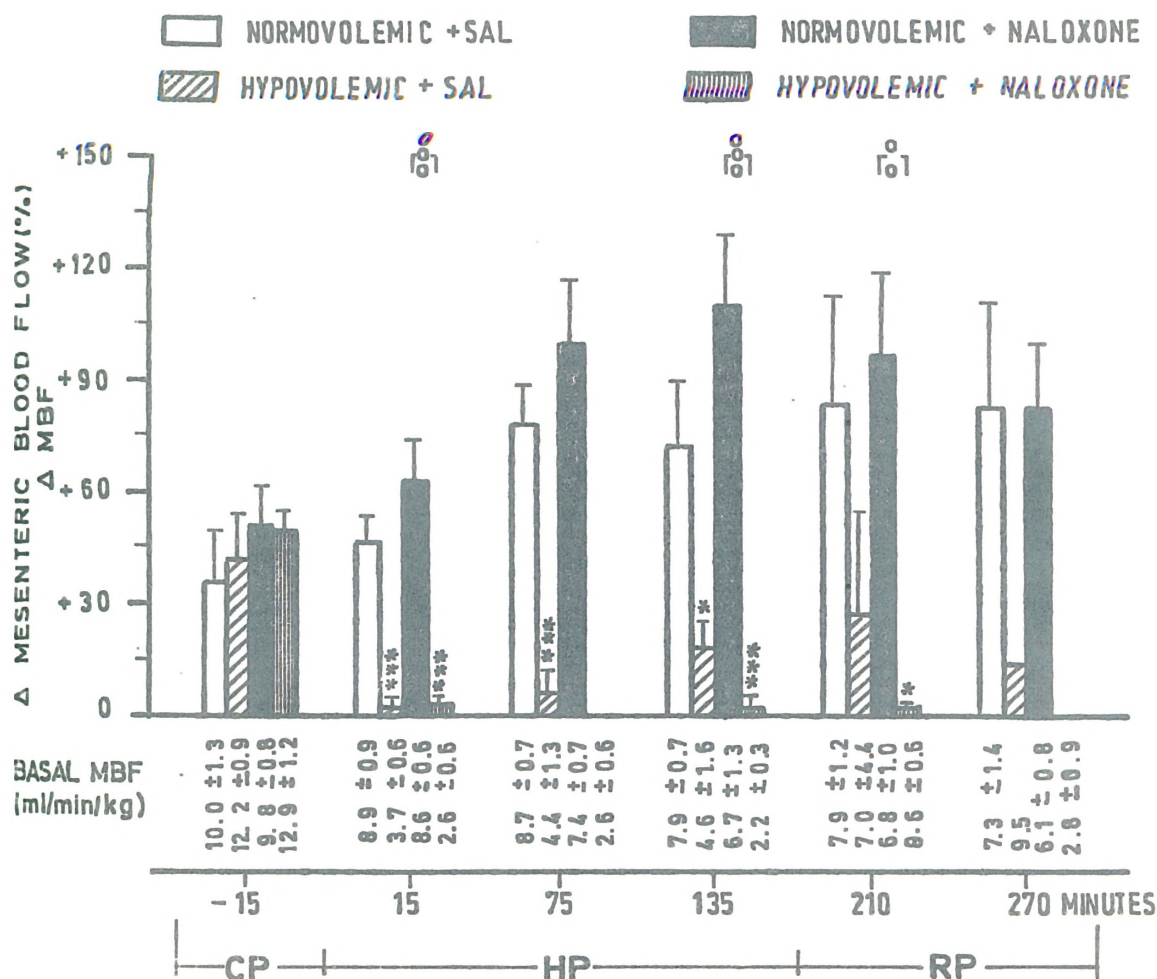
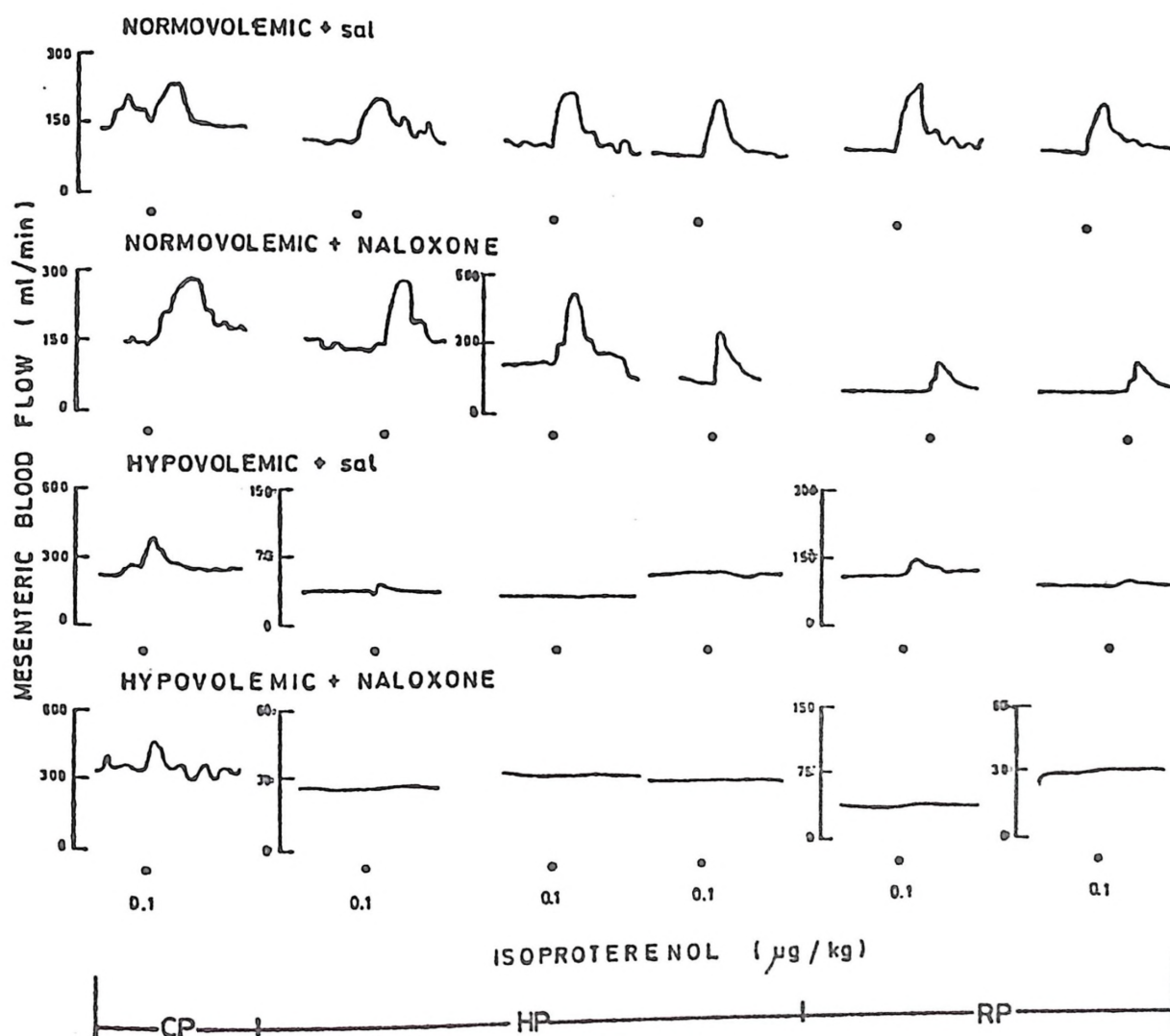
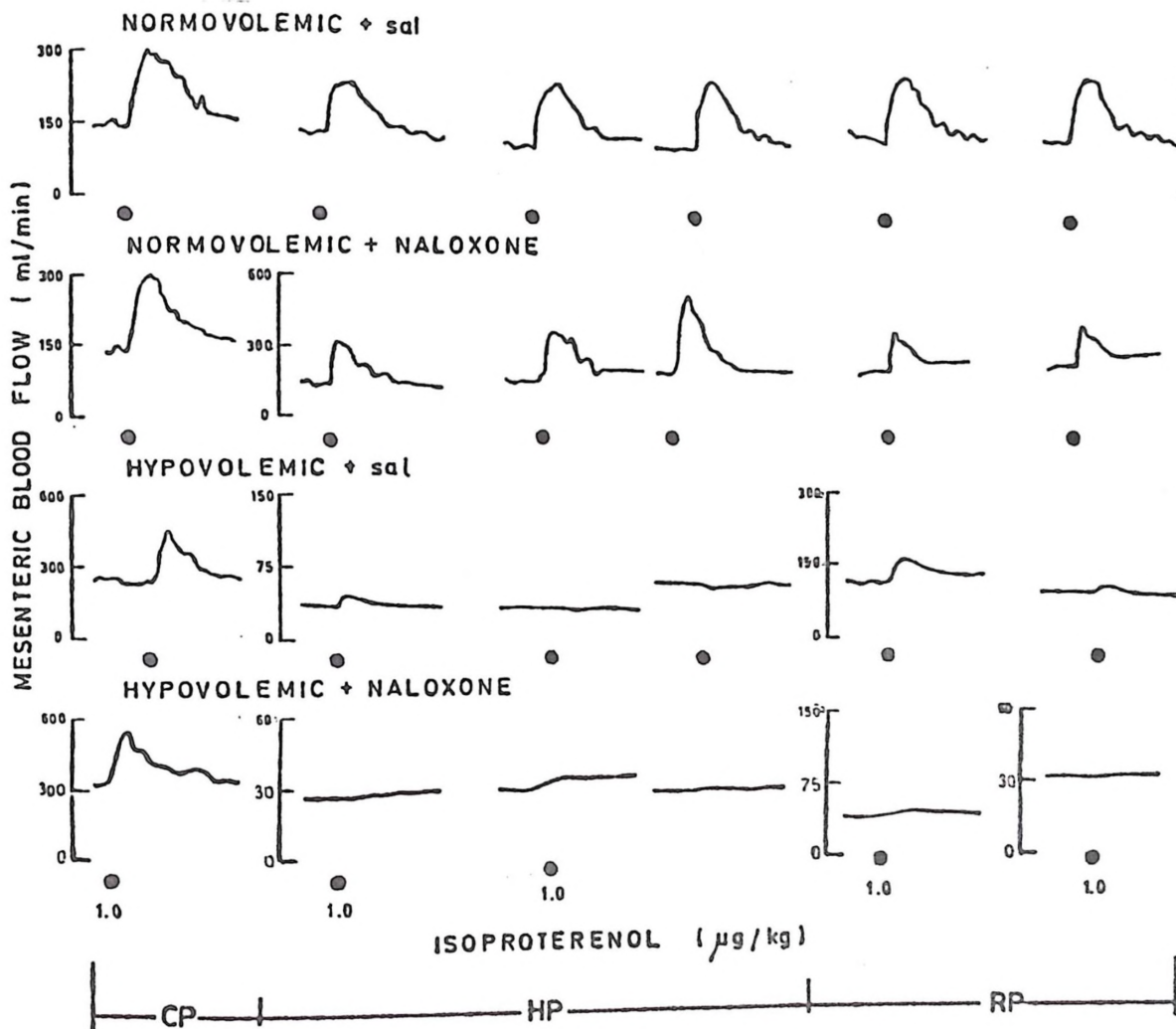


Fig. 16: Efekti izoproterenola (0,1 micro g/kg) na MBF u eksperimentima sa naloksonom



Sl. 5: Tipični efekti i.a. aplikacije izoproterenola na protok krvi kroz arteriju mezenteriku superior (originalni zapisi)



Sl. 6: Tipični efekti i.a. aplikacije izoproterenola na protok krvi kroz arteriju mezenteriku superior (originalni zapisi)

hipovolemiji su ti efekti bili značajno manji, s tim da su u naloksonskoj grupi nešto niži u odnosu na sal.- tretiranu hipovolemičku grupu. Ta razlika se održava i poslije retransfuzije. U drugom satu hipotenzije u naloksonskoj grupi, ni u jednom eksperimentu ova doza izoproterenola nije dala efekte. U normovolemiji naloksonski tretman je uticao stimulatивно na efekte izoproterenola u ovoj dozi, mada efekti nisu statistički signifikantni. Međutim, posebno u četvrtom satu eksperimenta, razlika u efektima je takva da se nikako ne može zanemariti. Poslije prestanka infuzije naloksona efekti u ove dvije grupe se približavaju i na kraju izjednačuju.

Efekti veće doze izoproterenola (1 micro g/kg) pokazuju slično ponašanje kao i u slučaju manje doze, jedino što su efekti izrazitiji i razlike ipak nešto naglašenije (Fig. 17). U

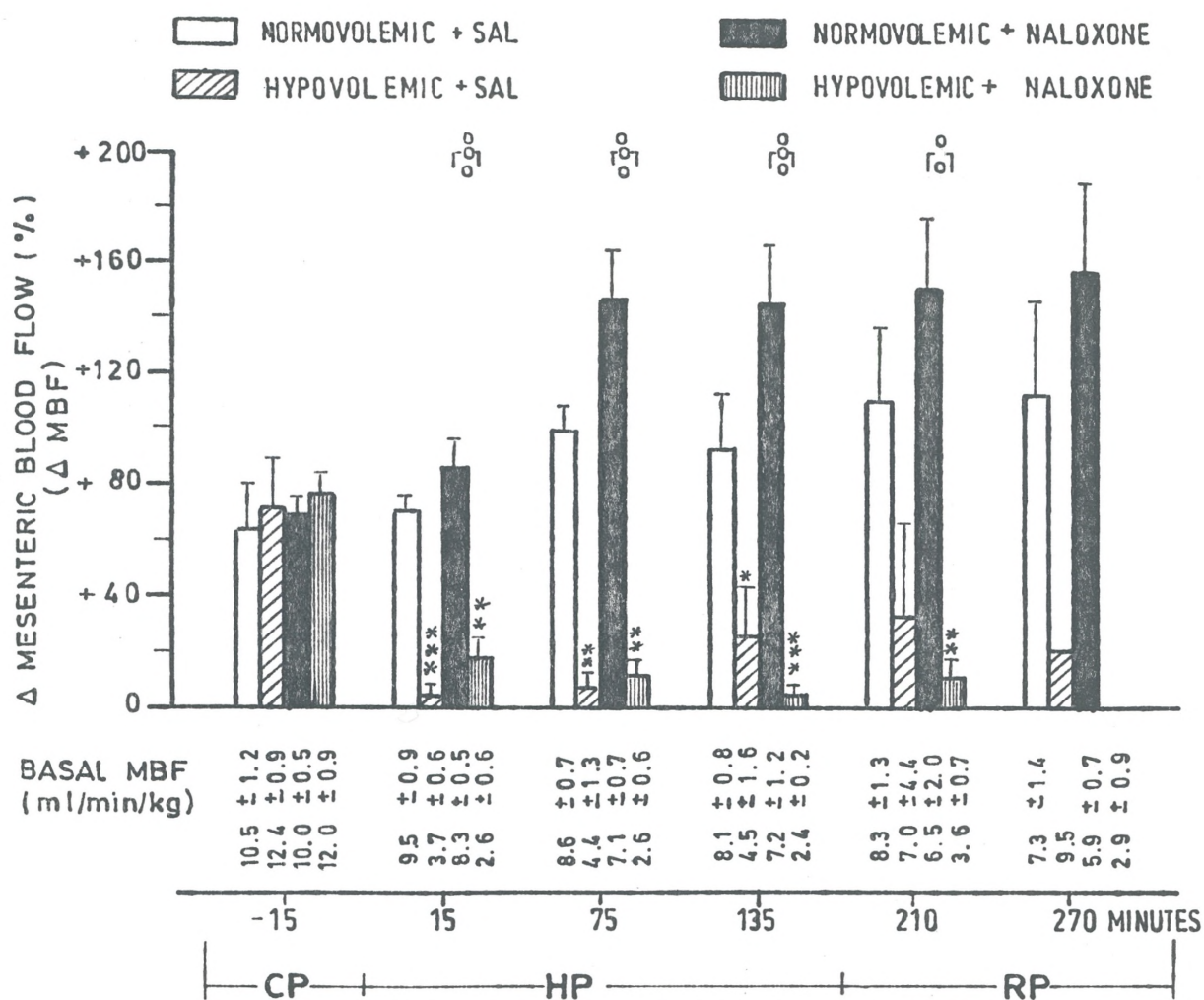


Fig. 17: Efekti izoproterenola (1 micro g/kg) na MBF u eksperimentima sa naloksonom

hipovolemičkim grupama su u početku hipotenzivnog perioda efekti nešto naglašeniji u naloksonskoj grupi, dok su u trećem satu hipotenzije i poslije retransfuzije efekti u sal.- tretiranoj grupi izraženiji. U normovolemičkim grupama su efekti ove doze izoproterenola izrazitiji u naloksonskoj grupi, čak i poslije prekida infuzije naloksona. Premda su razlike u efektima izrazite, nema statističke signifikantnosti razlike, zbog malog broja eksperimenata i dosta velike standardne greške. Međutim, bez obzira na odsustvo matematske verifikacije iz ponašanja reaktivnosti mezenteričke vaskularizacije poslije aplikacije ove dvije doze izoproterenola, može se zaključiti da nalokson potencira efekte vaskularnih beta-adrenoceptora u mezenteričkoj vaskularizaciji.

Hemoragija signifikantno povećava pad MBF i u naloksonskoj i u sal.- tretiranoj grupi u odnosu na normovolemijske grupe (Fig. 18). Ovo smanjenje u odnosu na bazalnu vrijednost MBF

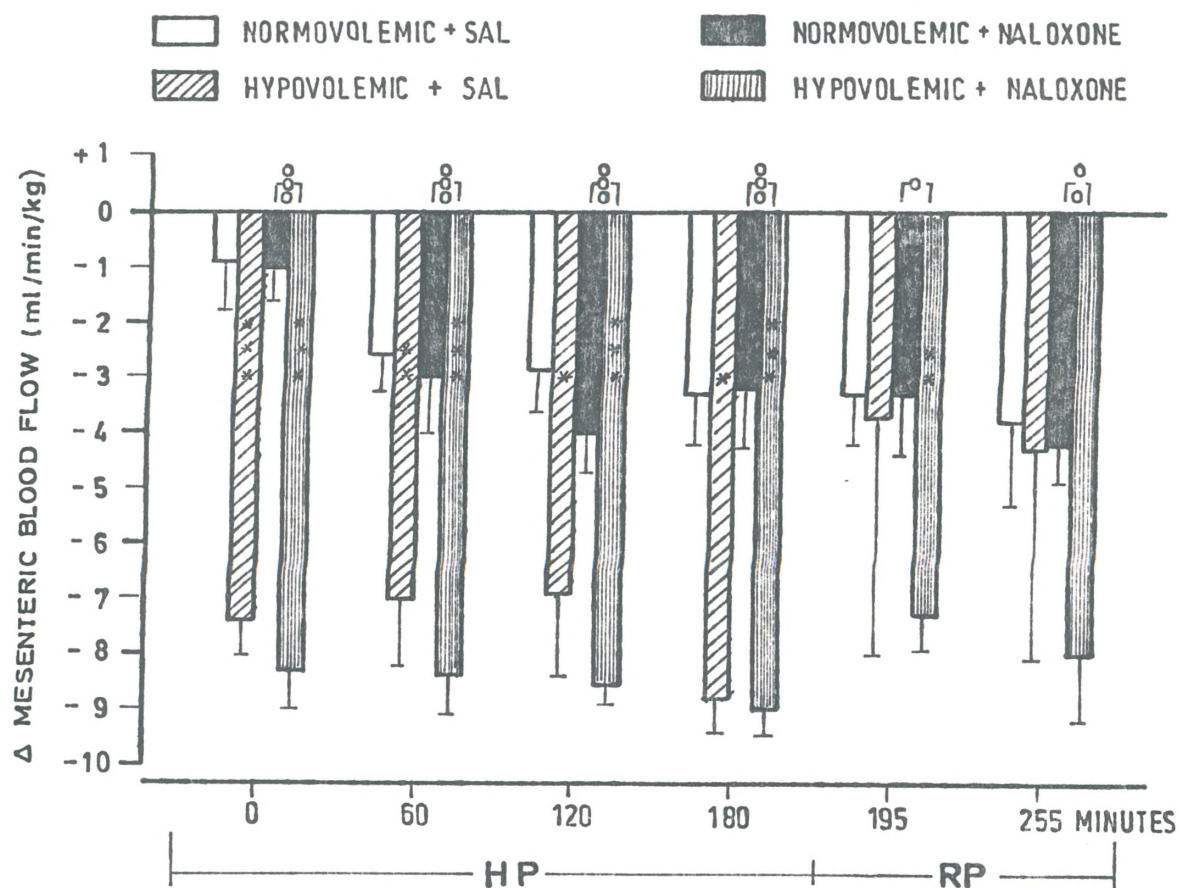


Fig. 18: Promjene protoka kroz art. mezenteriku sup. u eksperimentima sa naloksonom

( $11,12 \pm 0,42$  ml/min/kg) se održava cijelo vrijeme trajanja hipotenzije, međutim sa retransfuzijom MBF se poboljšava u sal.- tretiranoj grupi, ali ne i u naloksonskoj grupi. Znači da retransfuzija u naloksonskoj grupi ne popravlja MBF, no ta vrijednost ostaje na istom nivou bez obzira na vraćenu krv. U normovolemičkim grupama su promjene skoro identične, tako da nema razlika u ponašanju MBF u uslovima naloksonskog uticaja.

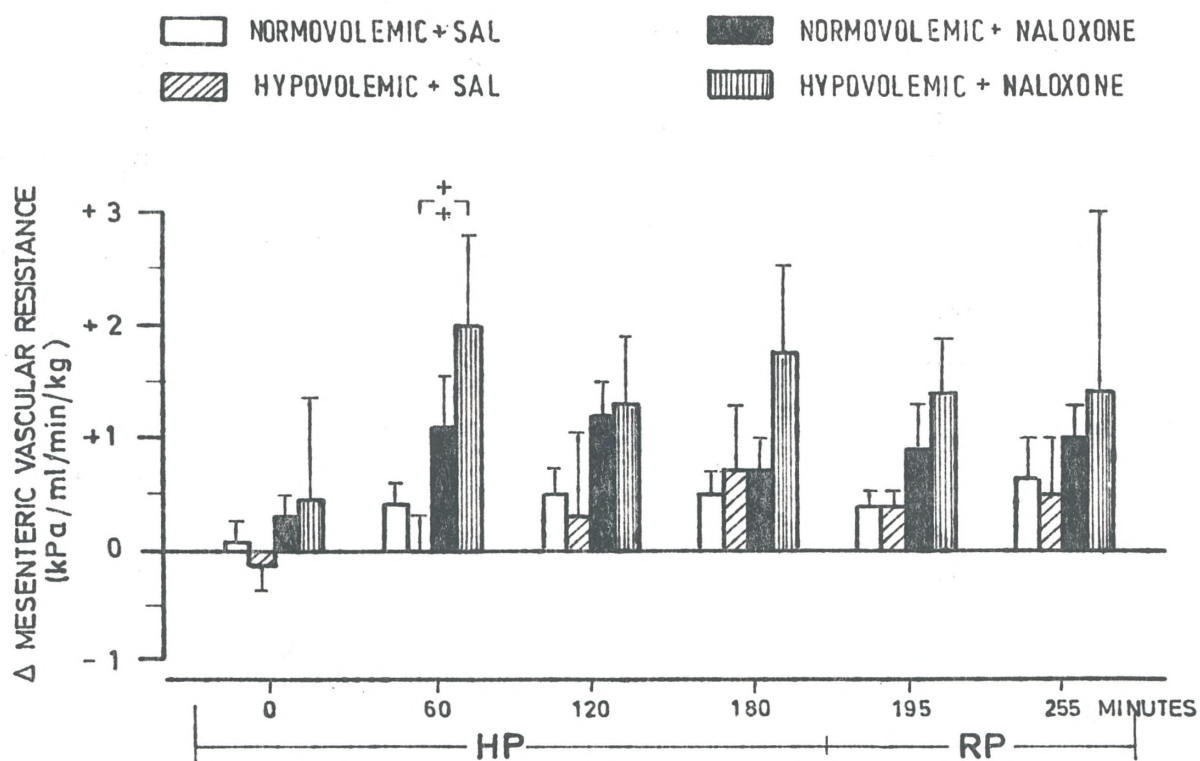


Fig. 19: Promjene mezenteričkog vaskularnog otpora u eksperimentima sa naloksonom

Mezenterički vaskularni otpor (MVR) je pokazao unekoliko neuobičajeno ponašanje u hipovolemičkoj sal.- tretiranoj grupi, jer je porast otpora u ovoj grupi bio u većem dijelu hipotenzije manji nego u kontrolnoj normovolemičkoj grupi. S obzirom da naši prijašnji rezultati ukazuju na drugačije ponašanje, pretpostavljamo da ove razlike izviru iz donekle promijenjenog modela hipotenzije. Bez obzira na to značajan je nalaz visoko signifikantno većeg MVR u naloksonskoj hipovolemičkoj, no u sal.- tretiranoj hipovolemičkoj grupi, 1 sat poslije završetka hemoragije. I u drugim periodima je MVR viši u naloksons-

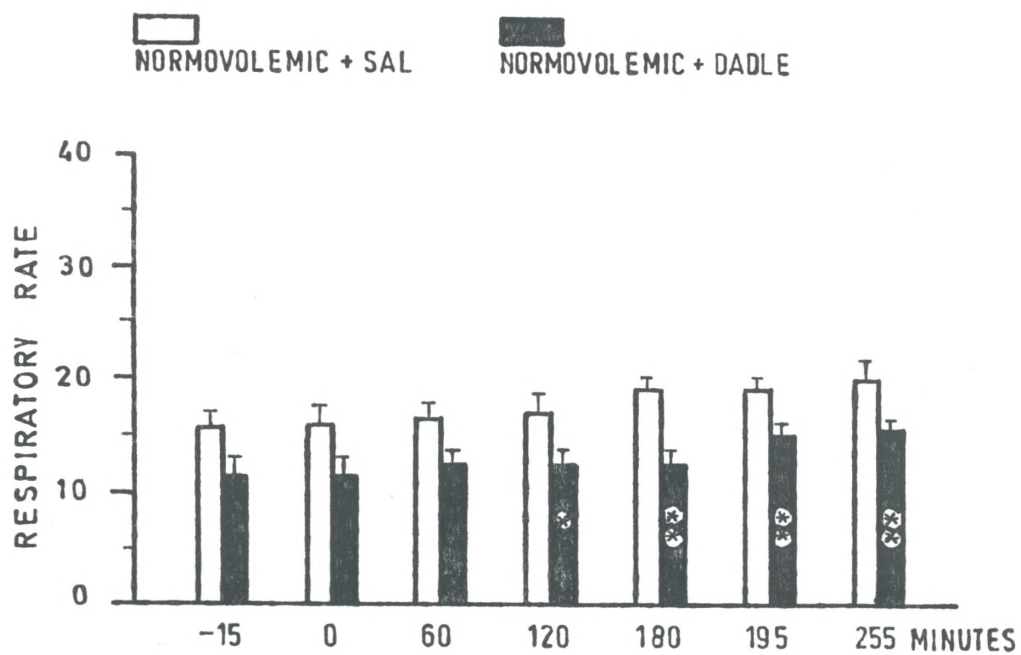


Fig. 20: Promjene frekvence disanja pod uticajem DADLE

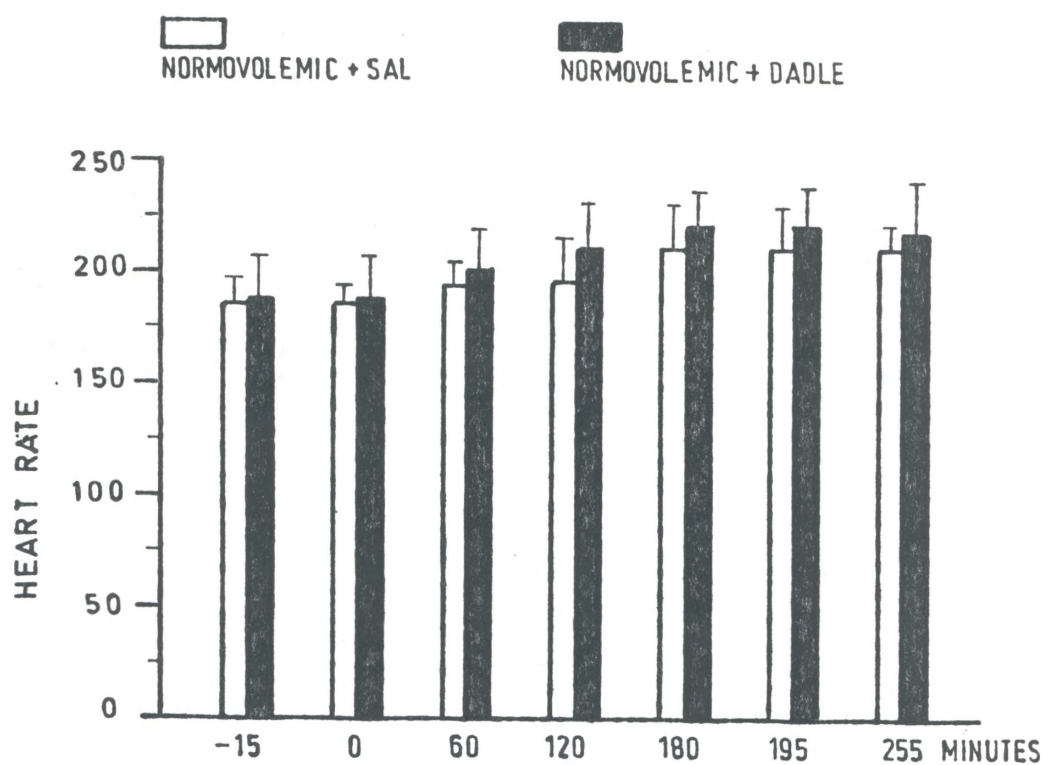


Fig. 21: Dinamika srčane frekvence pod uticajem DADLE

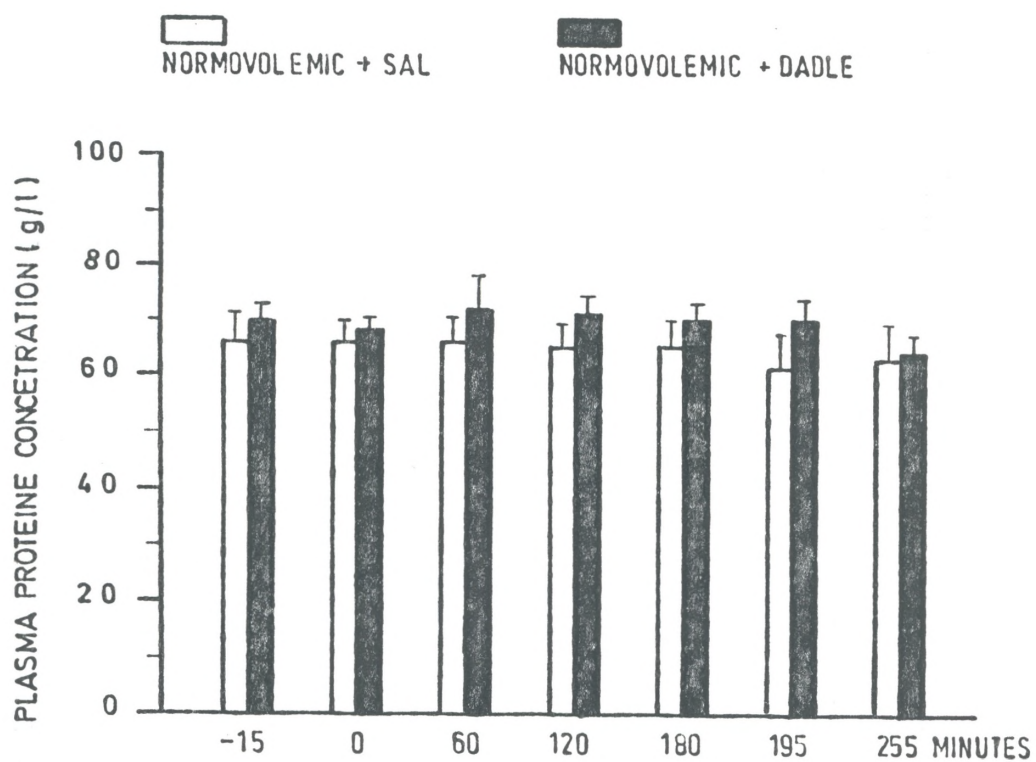


Fig. 22: Dinamika proteinemije pod uticajem DADLE

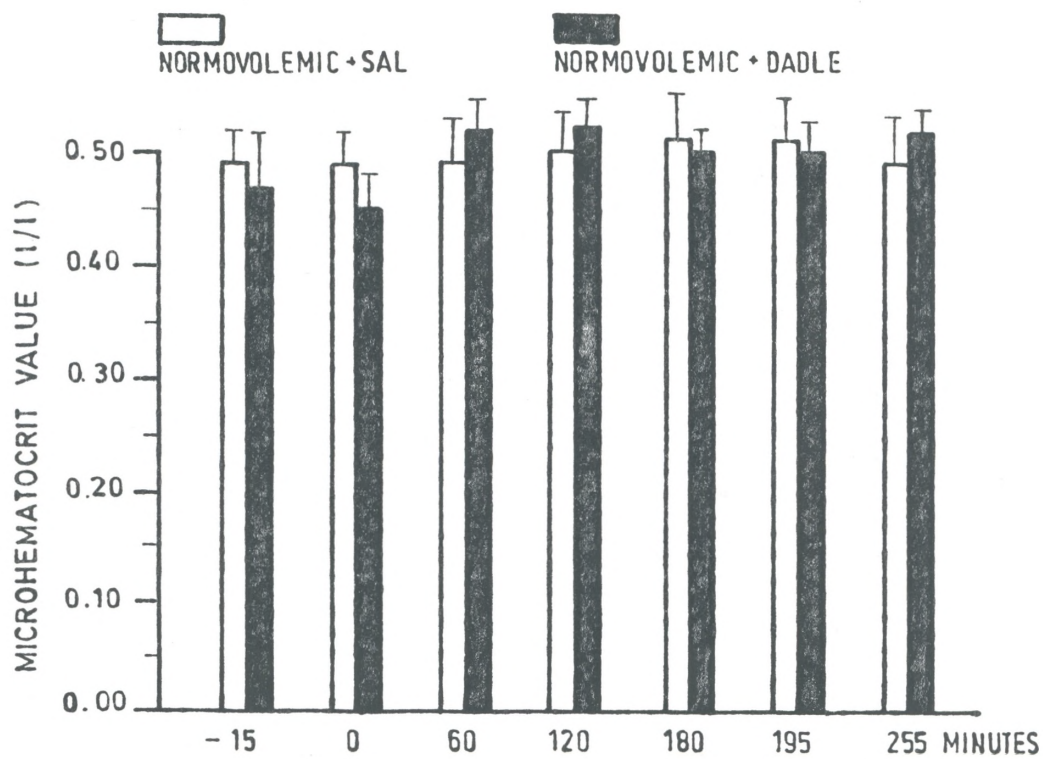


Fig. 23: Dinamika hematokrita pod uticajem DADLE

Dok je u sal.- tretiranoj grupi pritisak niži, i dalje pada lagano u odnosu na bazalni nivo ( $19,15 \pm 0,6$  kPa), tretman sa DADLE utiče na pritisak u smislu njegovog rasta u odnosu na bazalni nivo. Stoga postoje signifikantne razlike u promjenama MBP u sal.- i DADLE- tretiranoj grupi. Ovi efekti se održavaju i poslije prestanka infuzije DADLE (Fig. 24).

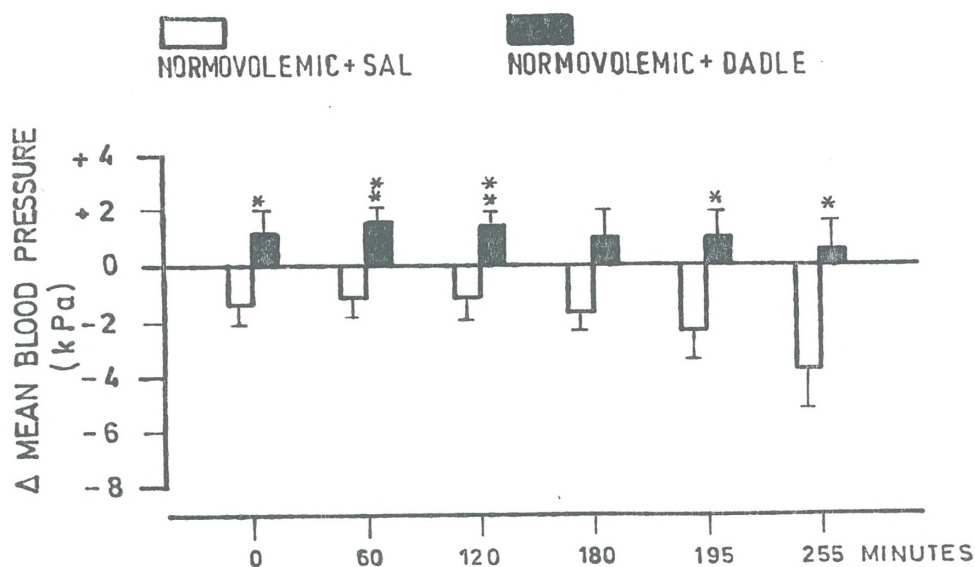
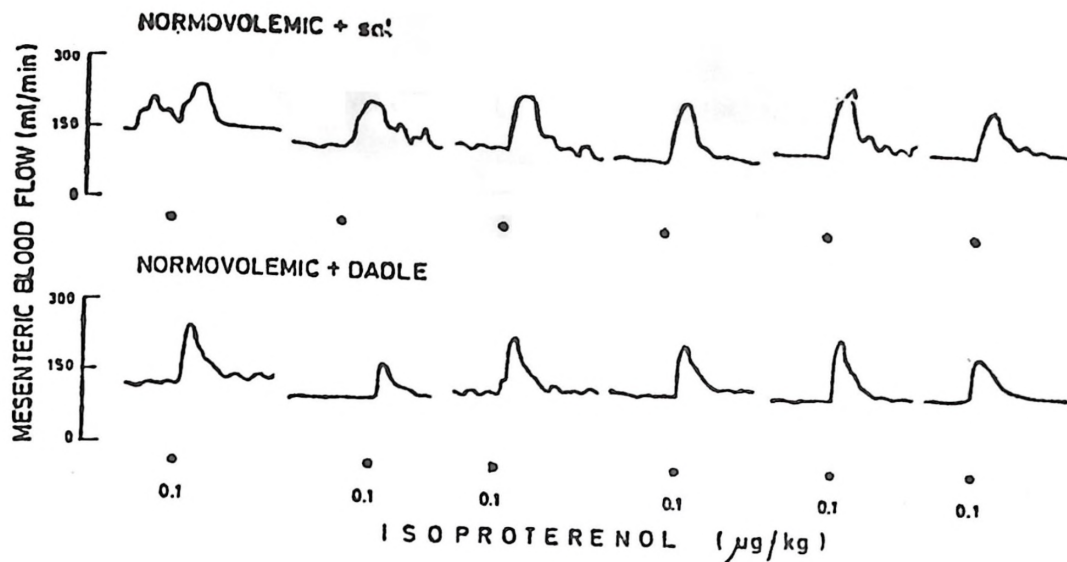


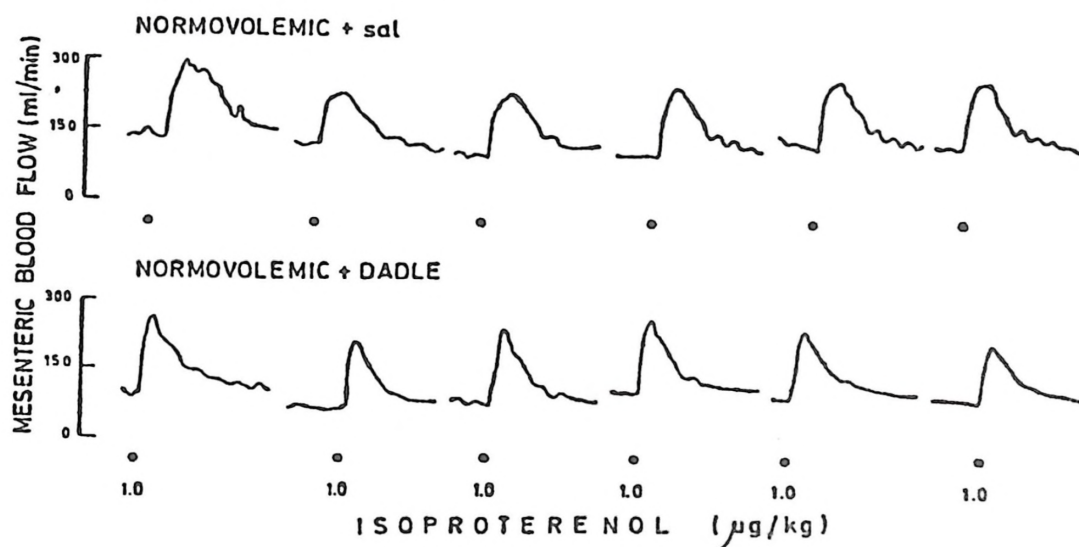
Fig. 24: Dinamika srednjeg arterijskog pritiska pod uticajem DADLE

Efekti adrenalina i izoproterenola su ispitivani sa dvije doze supstanci (0,1 i 1 micro g/kg). Manja doza izoproterenola (Sl. 7) produkuje povećanje protoka koje je u DADLE-tretiranoj grupi nešto manje izraženo, no u sal.- tretiranoj. To je naročito naglašeno (Fig. 25) u trećem i četvrtom satu eksperimenta, dok se poslije završetka infuzije efekti približavaju, a u drugom satu se i izjednačavaju po intenzitetu.

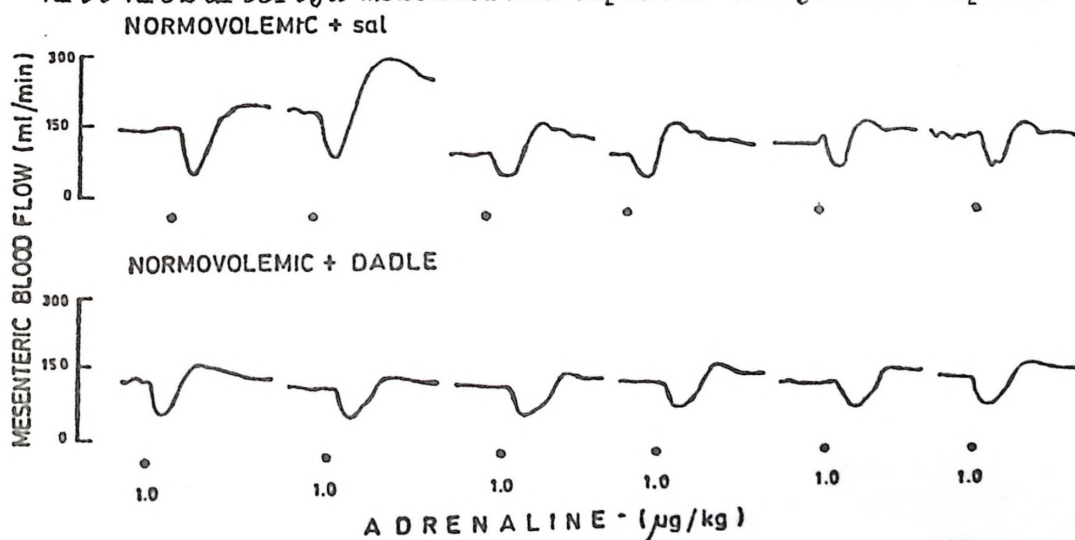
Efekti veće doze (Sl. 8) izoproterenola (1 micro g/kg) poslije infuzije DADLE se smanjuju u odnosu na sal.- tretiranu grupu, a taj efekt se održava i poslije završetka infuzije. Ovo smanjenje nije signifikantno, ali ukazuje na tendencu DADLE da reducira beta-adrenergičku ekspresivnost u mezenteričkoj vaskularizaciji (Fig. 26).



Sl. 7: Tipični efekti i.a. aplikacije izoproterenola na protok krvi kroz arteriju mezenteriku superior (originalni zapisi)



Sl. 8: Tipični efekti i.a. aplikacije izoproterenola na protok krvi kroz arteriju mezenteriku superior (originalni zapisi)



Sl. 9: Tipični efekti i.a. aplikacije adrenalina na protok krvi kroz arteriju mezenteriku superior (originalni zapisi)

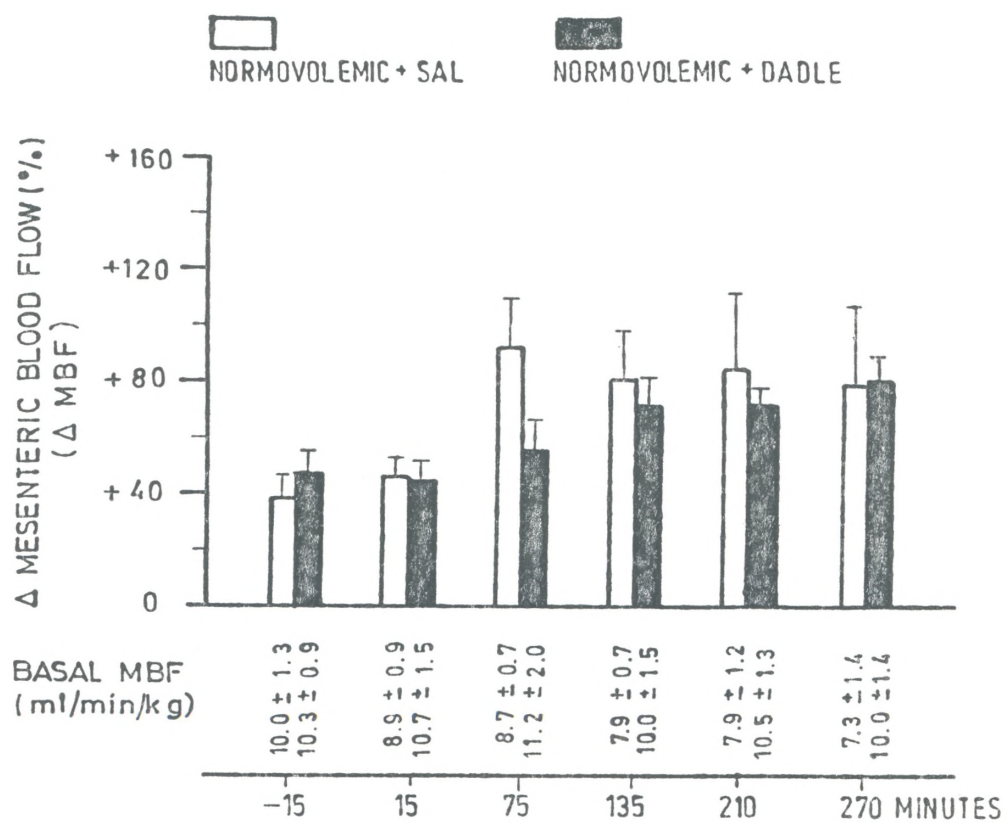


Fig. 25: Efekti izoproterenola (0,1 micro g/kg) na MBF pod uticajem DADLE

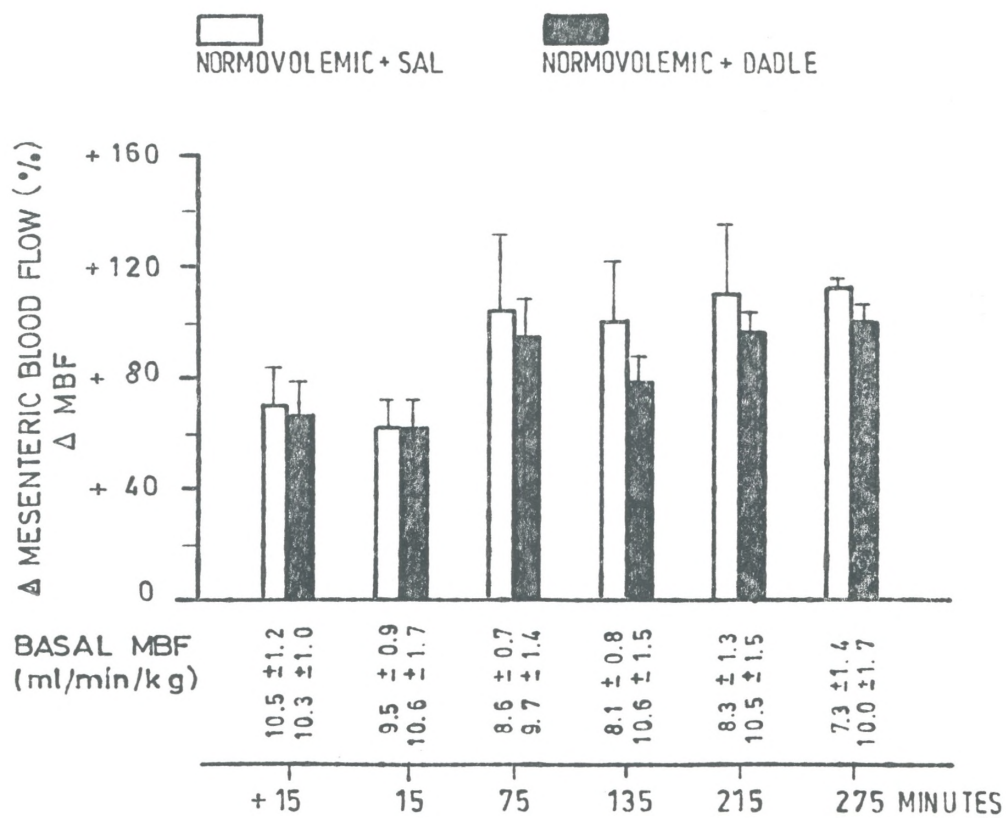


Fig.26: Efekti izoproterenola (1 micro g/kg) na MBF pod uticajem DADLE

Manja doza adrenalina (0,1 micro g/kg) izaziva vazokonstrikciju (Sl. 9) sličnog stepena i u sal.- i u DADLE- tretiranoj grupi. Ne postoji trend ni smanjenja, ni povećanja ovih efekata u uslovima infuzije DADLE, jer su rezultati dosta nehomogeni (Fig. 27).

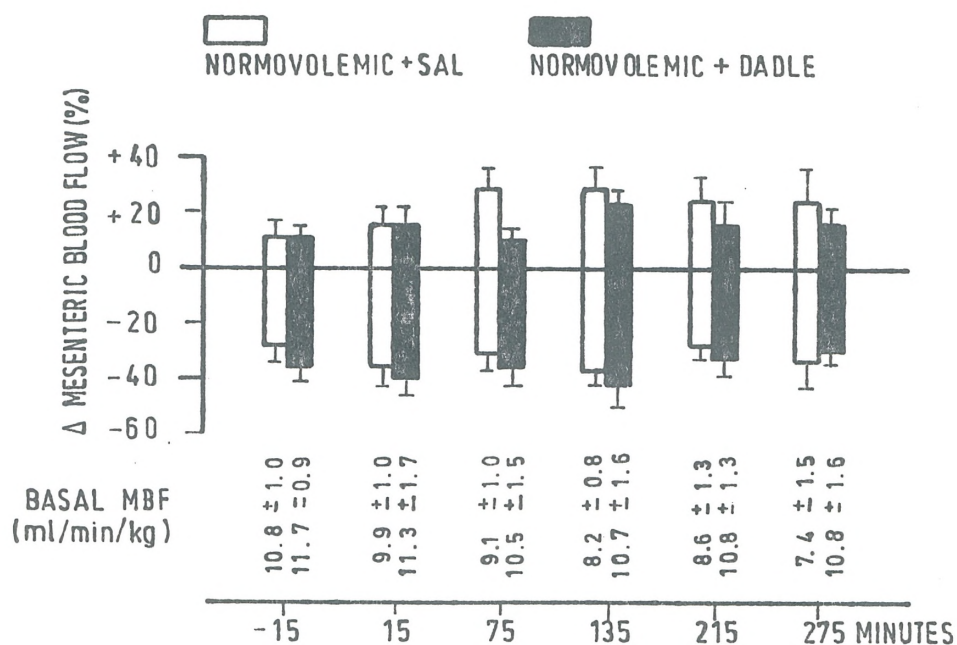
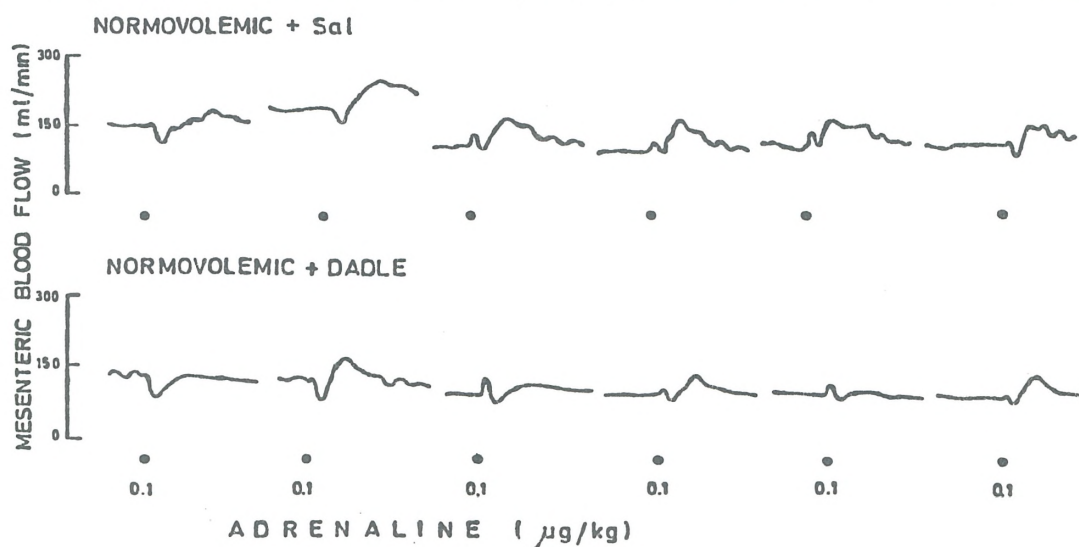


Fig 27: Efekti adrenalina (0,1 micro g/kg) na MBF pod uticajem DADLE

I u slučaju veće doze (Sl. 10) adrenalina (1 micro g/kg) ne postoji jasan trend promjena veličine adrenalinskih



Sl. 10: Tipični efekti i.a. aplikacije adrenalina na protok krvi kroz arteriju mezenteriku superior (originalni zapisi)

efekata poslije tretmana sa DADLE (Fig. 28). Na osnovu ovih rezultata teško je donijeti zaključak o efektima DADLE na funkciju alfa-adrenoceptora u mezenteričkoj vaskularizaciji.

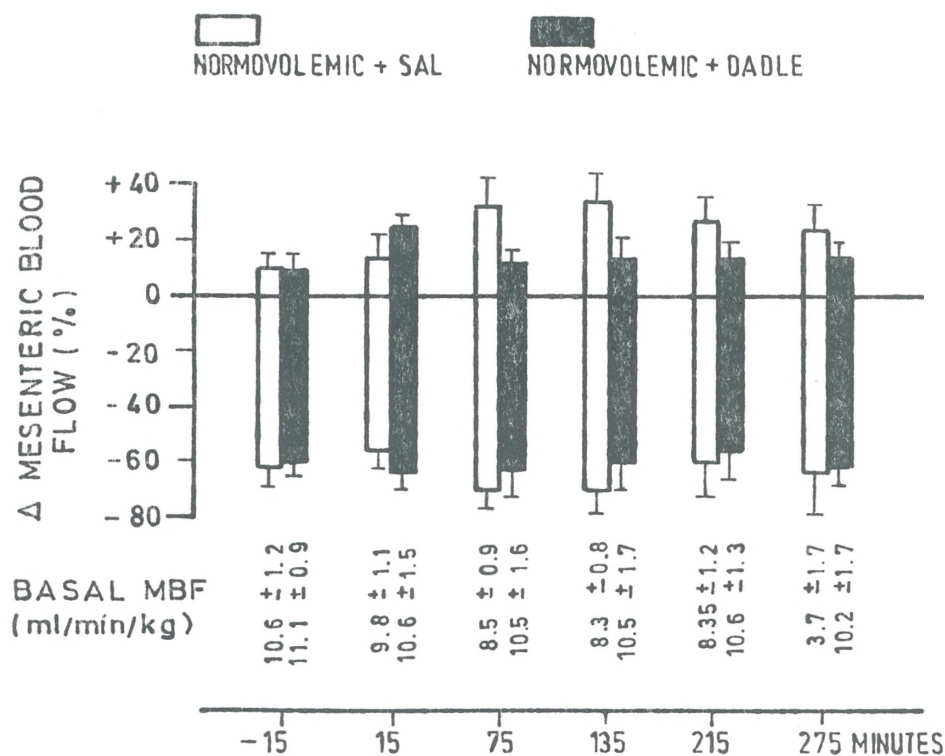


Fig. 28: Efekti adrenalina (1 micro g/kg) na MBF pod uticajem DADLE

Tretman sa DADLE reducira smanjenje protoka u odnosu na bazalni protok ( $10,76 \pm 0,7$  ml/min/kg), s tim da u početku čak postoji povećanje MBF u ovoj grupi. Razlike u smanjenju protoka u sal.- i DADLE- tretiranoj grupi u četvrtom satu eksperimenta, tj. u drugom satu infuzije DADLE su statistički signifikantne. I u drugim periodima, pa i poslije prestanka infuzije DADLE, u ovoj grupi je MBF viši no u sal.- tretiranoj grupi (Fig. 29).

Promjene MVR u DADLE- tretiranoj grupi u poredjenju sa sal.- tretiranom grupom nisu značajne. Smanjenje MVR u odnosu na bazalnu vrijednost ( $1,0 \pm 0,13$  PRU) u DADLE- tretiranoj grupi je dosta stabilno i nešto manje izraženo no u sal.- tretiranoj grupi (Fig. 30). Medjutim, promjene nisu tako izražene da bi se mogao donijeti fundiran zaključak o uticaju DADLE na MVR.

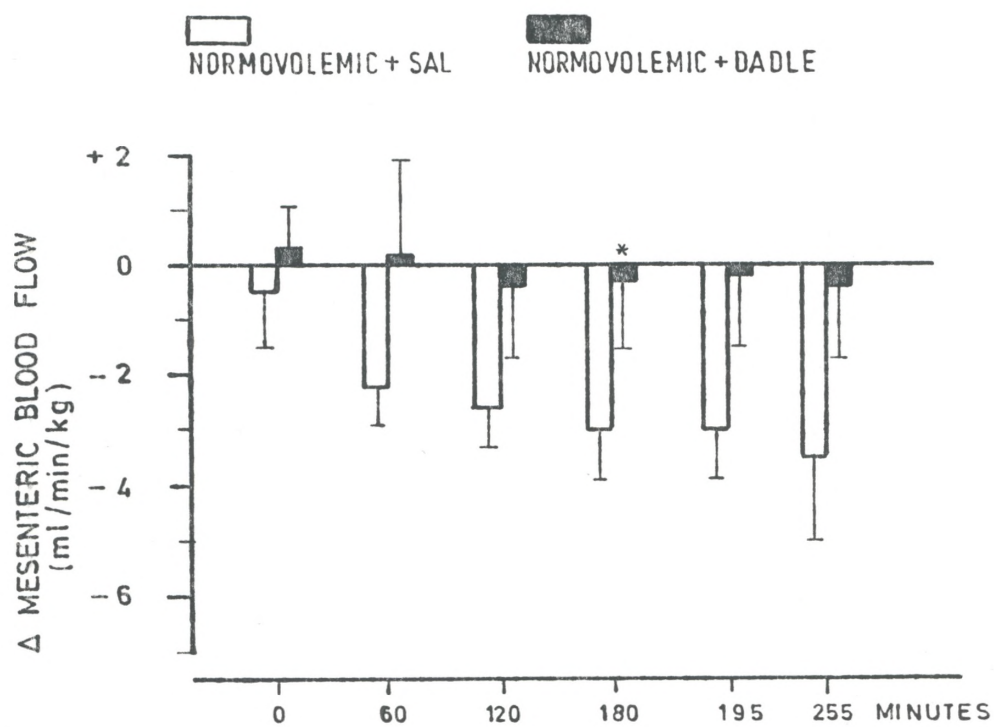


Fig. 29: Promjene protoka kroz art. mezenteriku sup. pod uticajem DADLE

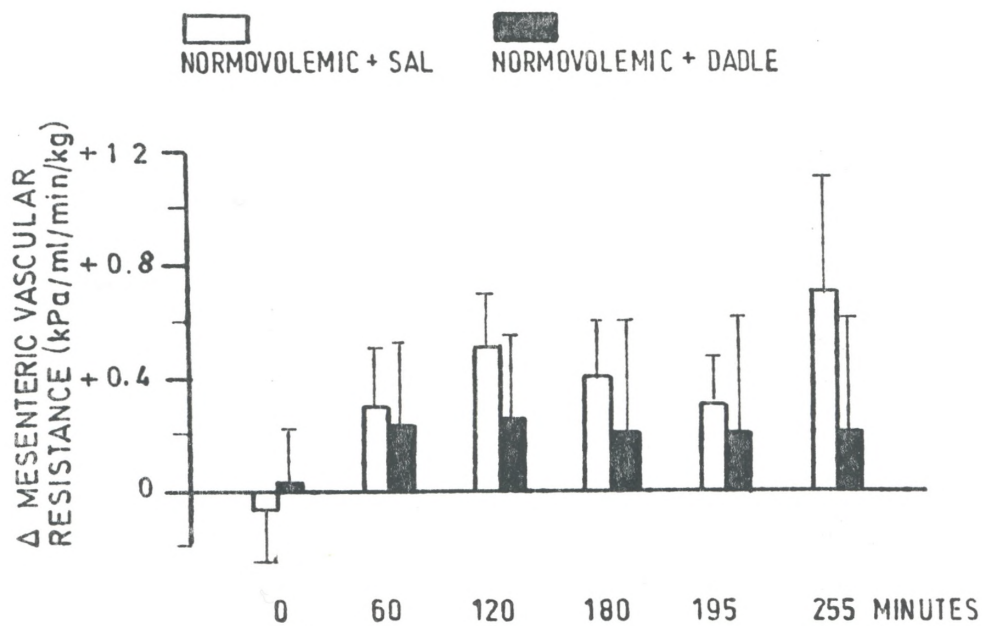


Fig. 30: Promjene mezenteričkog vaskularnog otpora pod uticajem DADLE

Na kraju, napravili smo još jednu seriju eksperimenata (6 pasa) u kojima smo aplicirali u kanulirani ogranak art. mezenterike sup. seriju rastućih doza (1, 3, 10, 30, 100, 300 i 1000 micro g) DADLE u bolusima. Ni u jednom eksperimentu nismo mogli dobiti upotrebljiv odgovor MBF na aplikaciju. Posebno nije bilo doza - odgovora. Jedini efekt poslije aplikacije ovih doza DADLE je bio blag porast MBF iste veličine bez obzira na dozu. Taj efekt je rezultat aplikacije određenog volumena tečnosti, jer je isti efekt davala i aplikacija istog volumena tople fiziološke otopine.

## 6. DISKUSIJA

Veliki značaj mezenteričkog vaskularnog područja za ishod hemoragičnog šoka je tačka presjeka mnogobrojnih teorija o patofiziologiji šoka. Jasno je da mezenteričko vaskularno korito učestvuje u hemodinamskim kompenzatornim mehanizmima, koji se dešavaju tokom razvoja sindroma šoka (H i r s c h and G l i c k, 1973). Splanhnička vaskulatura sadrži oko 20% cirkulirajućeg volumena krvi i prima oko 20% minutnog volumena (L i n t e r m a n s et al., 1967). Pri tome, oko 17% minutnog volumena odlazi u mezenterijalno vaskularno stablo (H i r s c h and G l i c k, 1973). U toku hemoragične hipotenzije dolazi do značajnih promjena protoka krvi kroz art. mezenteriku sup., koje su posljedica aktivne vazokonstrikcije (R i c h a r d s o n and W i t h r i n g t o n, 1978; S r k a l o v i ć et al., 1985b). Postojanje aktivne vazokonstrikcije u mezenteričkoj vaskularnoj regiji djeluje pozitivno na preživljavanje u šoku skretanjem krvi u vitalne regione (H i r s c h and G l i c k, 1973). Međutim, ova vazokonstrikcija može djelovati i u smislu produbljanja sindroma šoka (B o u n o u s et al., 1963), posebno u svjetlu nalaza L i l l e h e i -a i sar. (1957), koji su uspjeli povećati preživljavanje u šoku održavanjem adekvatnog mezenteričkog protoka. S druge strane, mezenterička vazokonstrikcija, produkcijom splanhničke ishemije, stimuliše stvaranje splanhničkih medijatora šoka (L e f e r, 1970).

U našim eksperimentima smo iskoristili ispitivanje mezenteričkog protoka i njegovih promjena dvojako: kao model za ispitivanje reaktivnosti beta-adrenoceptora u uslovima modifikacije vegetativnog i opioidnog sistema, i na drugoj strani kao objekt proučavanja promjena ovog izdvojenog vaskularnog segmenta u normo i hipovolemiji. U eksperimentima smo koristili dvije supstance u cilju ispitivanja reaktivnosti beta-adrenoceptora: izoproterenol i adrenalin.

Izoproterenol je agonist beta-adrenoceptora (W i e n e r, 1980), nespecifična s obzirom na subtip beta-adrenoceptora (B o l t o n, 1979). Tipičan efekt izoproterenola je dilatacija (R o b i n s o n and C o l l i e r, 1979) sa posljedičnim povećanjem protoka krvi kroz date krvne sudove. Ovo djelovanje izoproterenol ostvaruje stimulacijom izlaska  $Ca^{2+}$  iz ćelije, i/ili stimulacijom vezivanja  $Ca^{2+}$  unutar ćeljskih depoa kalcijuma, preko cAMP ovisnog mehanizma (Gagnon et al., 1980). Detaljniji mehanizam ovog djelovanja još uvijek nije u potpunosti poznat, ali je sigurno da je u ove izoproterenolske efekte uključena akcija cAMP (A n d e r s s o n, 1972; R a s m u s s e n, 1976). Izoproterenol, pored dilatacije arterijskih krvnih sudova, produkuje i venodilataciju (G u i m a r a e s and O s w a l d, 1969; W e b b -P e p l o e and S h e p h e r d, 1969). U splahničkom području izoproterenol smanjuje splahnlički venski otpor i eventualno povećava venski povrat ovim mehanizmom (G r e e n, 1977). Ove promjene nisu uslovljene promjenama protoka kroz art. hepatiku, jer se održavaju i kada je hepatski arterijski tok održavan konstantnim (R u t l e n et al., 1981). Izoproterenol ispoljava efekte u smislu povećanja protoka u većini vaskularnih korita (mezentričkom, renalnom, femoralnom) i sigurno je to efekt beta-adrenergičke stimulacije, jer se može blokirati propranololom (M c N a y and G o l d b e r g, 1966; H a m a m d ž i ć et al., 1986). U velikim dozama izoproterenol može na određene preparate (isječak aorte, npr.) in vitro (F u r c h g o t t, 1954), a i in vivo (S p e n c e r, 1956) djelovati i vazokonstriktorno.

Prisustvo beta-adrenoceptora u mezenteričkom vaskularnom stablu je činjenica koja je, uz različita mišljenja o zastupljenosti i broju ovih receptora u datoj regiji, preovladavajuća u većini radova koji tretiraju ovu problematiku. Medjutim, R o g e r s i sar. (1965) nisu mogli ustanoviti promjene perfuzionog pritiska u izolovanom mezenteriju psa nakon aplikacije izoproterenola (1-500 micro g). To su autori protumačili kao dokaz za odsustvo beta-adrenoceptora u ovoj vaskularizaciji. U tom radu je izvršena takva preparacija da su sačuvani samo arterijski krvni

sudovi. Osim ovog izolovanog nalaza o odsustvu beta-adrenoceptora u ovom vaskularnom koritu, razlike postoje u pogledu zastupljenosti ovih receptora u mezenteričkom vaskularnom stablu. Prema Green-u i Kerpchar-u beta-adrenoceptori su dosta slabo zastupljeni u vaskularnom području art. mezenterike sup. Medjutim, noviji radovi ukazuju na mogućnost postojanja brojne populacije inhibitornih beta<sub>2</sub>-adrenoceptora na glatkim mišićnim membranama ćelija mezenteričkih krvnih sudova (Arms et al., 1984; Bond et al., 1986). To baca novo svjetlo na važnost beta-adrenoceptora u ovom vaskularnom stablu, posebno s obzirom na važnost ovih receptora, a i ove regije u regulaciji intravaskularnog volumena tečnosti.

Druga supstanca koji smo koristili je adrenalin, prirodni kateholamin, koji se, uglavnom, oslobadja iz hromafinih ćelija srži nadbubrega, i djeluje kao cirkulišući agens, a oslobadja se i kao ko-transmitter zajedno sa noradrenalinom iz presinaptičkih završetaka (Winer, 1980). Postojanje alfa-adrenoceptora u mezenteričkom vaskularnom stablu je neosporno (Hirsch and Gluck, 1973). Rogers i sar. (1965), kao i Duvall i sar. (1981) spominju prisustvo oba subtipa alfa-adrenoceptora (alfa<sub>1</sub> i alfa<sub>2</sub>) u mezenteričkom vaskularnom stablu.

Efekti adrenalina na mezenteričko vaskularno stablo su bili predmet brojnih radova; Folkow i sar. (1963) poslije i.a., a Kock (1959) poslije i.v. injekcije adrenalina nalaze jedino redukciju mezenteričkog protoka. Medjutim, originalni zapisi tih eksperimenata ukazuju na postojanje i sekundarnog porasta protoka koji ovi autori ne spominju i ne komentarišu. Dea i Green (1956) su, uz korišćenje elektromagnetskog floumetra, našli poslije i.a. injekcije adrenalina primarnu konstrikciju, praćenu sa dilatacijom mezenteričkog vaskularnog stabla. Iste efekte nalazi i Ross (1967), s tim da on smatra da je ovaj naknadni efekt povećanja protoka u stvari dominantan, jer traje duže, za razliku od "blic" efekta smanjenja. U našim radovima smo našli iste efekte adrenalina poslije i.a. aplikacije kao i Ross. Naknadni efekt povećanja protoka je trajao duže, mada je ovaj efekt bio manje intenzivan, s obzirom na visinu (dubinu) "pika", no efekt smanjenja. Koje je porijeklo ovog naknadnog povećanja

protoka? R o s s (1967) smatra da je to rezultat stimulacije beta-adrenoceptora, jer je uspio blokirati ovaj efekt propranololom. Sa dozom od 1 mg/kg i.v. propranolola, u prisustvu alfa-blokade sa PBZ nismo mogli blokirati ovaj efekt povećanja protoka. Međutim, sa ovom dozom propranolola nismo mogli u potpunosti blokirati ni efekte 1 micro g/kg izoproterenola, pa ne bismo mogli odbaciti beta-adrenergičko porijeklo ovog efekta. Sigurno je da ovaj efekt nije rezultat naknadnog efekta poslije primarnog smanjenja protoka kao refleksnog fenomena, jer je u našim eksperimentima adrenalin uzrokovao porast protoka i u uslovima PBZ blokada, kada je bio potpuno eliminisan efekt smanjenja protoka. Postoje i drugačija mišljenja o porijeklu ovog naknadnog efekta adrenalina. M a r s h a l l i H e b e r t (1986) u preparatu izolovanog mezenterija pacova nisu mogli blokirati ovaj naknadni efekt topički apliciranog adrenalina propranololom, ali im je to uspjelo alfa-blokadom fentolaminom. Mi smo u našim eksperimentima dobili efekte povećanja protoka poslije aplikacije adrenalina i u prisustvu alfa<sub>1</sub>-adrenergičke blokade sa PBZ, a nismo mogli blokirati ovaj efekt sa dozama rauwolscina koje su potpuno blokirale alfa<sub>2</sub>-adrenoceptore (koristili smo kao provjeru alfa<sub>2</sub>-agonistu guanabenz) ni poslije i.a., ni poslije i.v. aplikacije. Iz toga možemo zaključiti da ovaj efekt adrenalina sigurno nije rezultat stimulacije ni alfa<sub>1</sub>, ni pre- ni postsinaptičkih alfa<sub>2</sub>-adrenoceptora. Takodje nije rezultat ni povećanja pritiska kao sistemskog efekta adrenalina koji smo imali u našim eksperimentima, jer smo sa rauwolscinom blokirali sistemske efekte, ali nismo ovaj lokalni efekt adrenalina. Drugi autori (S h e h a d e h et al., 1969; R o s s, 1967) su odbacili uticaj motiliteta crijeva, portalnog pritiska i refleksnih uticaja na ovaj efekt adrenalina.

U uslovima blokade alfa<sub>1</sub>-adrenoceptora sa PBZ, koji ne blokira alfa<sub>2</sub>-adrenoceptore (C o n s t a n t i n e and L e b e l, 1980), adrenalin ni u jednom eksperimentu nije produkovao smanjenje protoka. U isto vrijeme je izazivao sistemske efekte u smislu povećanja pritiska, koje smo blokirali sa rauwolscinom (0,5 mg/kg i.v.). Takodje guanabenz, agonist alfa<sub>2</sub>-adrenoceptora (1 mg u art. mezenteriku sup.) nije produkovao lokalne

efekte na mezenterički protok, dok je sistemski dat (4 mg iv.) izazivao porast pritiska. Na osnovu ovoga možemo reći da se ne slažemo sa Rogersom i sar. (1965), kao i Duvallom i sar. (1981) koji izvještavaju o postojanju postsinaptičkih alfa<sub>2</sub>-adrenoceptora u mezenteričkom vaskularnom stablu. S obzirom da postsinaptički alfa<sub>2</sub>-adrenoceptori preferencijalno reaguju na cirkulišući adrenalin (Langer and Shepperson, 1982), a na osnovu opisanih naših rezultata, izgleda da postsinaptički alfa<sub>2</sub>-adrenoceptori ne postoje ili bar nisu funkcionalni u mezenteričkom vaskularnom stablu. O prisustvu presinaptičkih alfa<sub>2</sub>-adrenoceptora ne možemo govoriti, s obzirom na činjenicu da nismo registrovali oslobađanje obilježenog noradrenalina u uslovima električne stimulacije perivaskularnih nerava mezenteričke arterije, što bi bio neophodni uslov za dobivanje podataka o ovim receptorima.

Fenoksibenzamin (PBZ) spada u grupu beta-haloalkilamina, i kao i drugi spojevi iz ove grupe je selektivni alfa<sub>1</sub>-antagonist koji uzrokuje nekompetitivnu ireverzibilnu blokadu ovih receptora njihovom alkilacijom (Hamilton et al., 1982). Mnogo je efikasniji kao blokator presornog odgovora na simpatičku stimulaciju, nego na administrirani noradrenalin, što je tipično za supstance koje blokiraju alfa<sub>1</sub>-, a ne alfa<sub>2</sub>-adrenoceptore (Yamaguchi and Kopin, 1980). PBZ smanjuje početni volumen iskrvarenja, što je rezultat smanjenja vazokonstrikcije u vaskularizaciji (Bond and Johnson, 1984; Krnić, 1983). Iste rezultate smo i mi dobili u našim eksperimentima. Ovaj efekt je razumljiv s obzirom na činjenicu da je početni pritisak prije iskrvarenja u PBZ grupi niži no u sal.-tretiranoj. U našim eksperimentima se početak usisavanja krvi iz rezervoara vremenski poklapa u PBZ i u sal.-tretiranoj grupi, s tom razlikom da je ovo usisavanje u PBZ grupi mnogo manjeg intenziteta i manje drastično. Drugi autori navode nešto kasniji početak usisavanja krvi iz rezervoara u PBZ grupi i to navode kao jedan od mogućih pokazatelja beneficianog djelovanja (Hollenberg and Nickeerson, 1970; Mladinić, 1976). Našim rezultatima nismo ovo mogli potvrditi, ali to ne čudi s obzirom na jako raznolike modele hipotenzije koji se koriste u pojedinim radovima.

Cijelo vrijeme trajanja naših eksperimenata u PBZ normovolemičkoj grupi je srednji arterijski pritisak signifikantno niži, no u sal.- tretiranoj normovolemiji. To je i razumljivo s obzirom na alfa<sub>1</sub>-blokadu koju produkuje PBZ. Taj pad pritiska bi trebao biti rezultat pada perifernog otpora i sistemske vazodilatacije, kao i vjerovatnog centralnog djelovanja PBZ. U mezenteričkoj vaskularizaciji smo ustanovili ponašanje u skladu sa očekivanim. Tretman sa PBZ u normovolemičkoj grupi je uticao da je mezenterički vaskularni otpor (MVR) ostalo stalno ispod bazalnog nivoa. Mezenterički protok (MBF) je identičan u obje normovolemičke grupe. To je u skladu sa zažanjanjem da PBZ tretman ne mijenja splahnhički protok u normovolemičkim uslovima (N i c k e r s o n and C o l l i e r, 1975).

Naši prethodni radovi (S r k a l o v i ć, 1984; S r k a l o v i ć et al., 1985b) ukazuju da mezenterička vaskularizacija reaguje pri iskrvarenju aktivnom vazokonstrikcijom. Medijatori ovog odgovora bi mogli biti i alfa<sub>1</sub> i alfa<sub>2</sub>-postsinaptički receptori. Medjutim, s obzirom na već diskutovane rezultate pri aplikaciji adrenalina u PBZ grupama, koji ukazuju na odsustvo alfa<sub>2</sub>-adrenoceptora u mezenteričkoj vaskularizaciji, medijatori ove vazokonstrikcije bi trebali biti alfa<sub>1</sub>-adrenoceptori. Naše analize promjena MBF i MVR u toku hipotenzije u PBZ- i sal.- tretiranoj grupi u potpunosti potvrđuje ovu pretpostavku. Pad protoka i rast otpora je tokom razvoja hipotenzije veći u sal.- tretiranoj grupi, dok se poslije retransfuzije izjednačuju. To jasno govori o činjenici da se veliki dio aktivne mezenteričke vazokonstrikcije u toku hipotenzije može pripisati alfa<sub>1</sub>-adrenoceptorima. Manji dio vazokonstrikcije je možda rezultat pasivnog odgovora glatkih mišića mezenteričke vaskularizacije na smanjenje intramuralnog pritiska (C h i e n, 1967). Na kraju možemo reći da bi prema našim rezultatima, jedan dio djelovanja PBZ u šoku mogao biti ostvaren poboljšavanjem mezenteričkog protoka i smanjivanjem mezenteričkog otpora.

U našim eksperimentima, paralelno sa očekivanim padom proteinemije, rezultatom određene hemodilucije, registrovali smo neočekivani porast hematokrita u PBZ- tretiranim grupama.

Ovaj neočekivani nalaz bi se mogao objasniti jedino padom onkotskog pritiska plazme i sljedstvenim bubrenjem eritrocita. Pošto nismo odredjivali MCV, ovo ostaje nepotvrđena mogućnost. Druga mogućnost je postojanje alfa<sub>2</sub>-adrenoceptora u slezeni, tako da je adrenalin, koji smo davali i.a. stimulisao ove receptore i izazivao kontrakciju slezene i oslobadjanje eritrocita iz nje.

Pretpostavka je da bi PBZ tretman trebao stimulisati efekte izoproterenola. Ona se zasniva na efektima blokade alfa-adrenoceptora (Bevan, 1979). Blokada alfa-adrenoceptora skreće funkcionalnost simpatičkog sistema prema beta-adrenoceptorima, koji u takvim uslovima intenzivnije funkcionišu. S druge strane, PBZ je poznat kao inhibitor i ekstraneuronalnog i neuronalnog "uklanjanja" kateholamina. Blokada neuronalnog "uklanjanja" (Uptake<sub>1</sub> po Iversen-u, 1967) je manje izražen efekt PBZ (Trendelenburg, 1986), dok je blokada ekstraneuronalnog (Uptake<sub>2</sub>) osnovni efekt PBZ na uklanjanje kateholamina iz sinaptičke pukotine (Langr, 1970). Ranije je primijećeno da PBZ može blokirati enzimatsku inaktivaciju kateholamina (Furchgott, 1960). Eksperimentalne dokaze za ovo je dao Langer (1970). Izoproterenol je supstrat "uptake<sub>2</sub>", dok "uptake<sub>1</sub>" nema uticaja na njegovu koncentraciju i efekte (Trendelenburg, 1986). "Uptake<sub>2</sub>" može biti blokiran sa tri grupe supstanci: (a) razni O-metilirani metaboliti kateholamina (Uhliger et al., 1976), (b) razni kortikosteroidi (Grohmann and Trendelenburg, 1984) i (c) PBZ. Hidrokortizon baš na osnovu blokade "uptake<sub>2</sub>" potencira efekte izoproterenola (Besse and Bass, 1966) na preparat aortalnog isječka. Takođe i McNay i Goldberg (1966) pretpostavljaju da su izrazitiji efekti izoproterenola na renalni i femoralni protok u njihovim eksperimentima, kada se porede sa drugim radovima, posljedica alfa-blokade sa PBZ.

U našim radovima nismo dobili očekivane rezultate. Efekti izoproterenola u PBZ normovolemičkoj trupi su poslije blokade niži, no u sal.- tretiranoj grupi, tako da u petom i šestom satu eksperimenta ovi efekti postaju signifikantno niži u PBZ grupi. Za ove signifikantno niže efekte može biti odgovorno neko-

liko mehanizama. PBZ smanjivanjem sistemskog pritiska može uzrokovati ograničenu mogućnost beta-adrenoceptorne vazodilatacije i povećanja protoka. Pri tome ne treba zaboraviti da je u ovim uslovima MVR već snižen, što je donekle posljedica već postignute beta dilatacije u datoj vaskularizaciji, pa je time dio beta-dilatacije već iscrpljen. Kao jedan od mogućih mehanizama, mada najmanje vjerovatan, i dosada neopisan, mogao bi biti i direktan uticaj PBZ na beta-adrenoceptore. Pošto se radi o alkilirajućem agensu, može se pretpostaviti da ovaj agens na neki način mijenja i beta-adrenoceptore, ali za ovakvu pretpostavku treba dati vrlo čvrste dokaze. Najvjerovatniji mehanizam vezan je sa jednim od poznatih efekata PBZ. To je njegov efekt na presinapsu. Alfa-adrenergički agonisti uzrokuju porast oslobađanja noradrenalina iz presinapse (W e s t f a l l, 1977). Primijećeno je da alfa-adrenergička blokada inhibicijom adenilat-ciklaze na presinaptičkom nivou stimuliše oslobađanje noradrenalina i stimuliše efekte izoproterenola na presinaptičkom nivou (J o h n s t o n and M a j e w s k i, 1986). Noradrenalin, oslobodjen u povećanoj mjeri, vezuje se i za beta-adrenoceptore, istina u malom stepenu, što rezultira određenom slabijom stimulacijom ovih receptora, a to se vidi i po padu MVR. Medjutim, ova okupacija beta-adrenoceptora ometa efekte apliciranog izoproterenola, pa dolazi do slabijih efekata ove supstance u PBZ normovolemičkoj grupi, u odnosu na sal.- tretiranu grupu. Dokaz za ovo su i efekti u hemoragiji gdje su čak efekti tokom hipotenzije u PBZ-hipovolemičkoj grupi, nešto veći no u sal.- tretiranoj grupi. U toku hipotenzije dolazi do jake simpatičke stimulacije (C h i e n, 1967) i visokog nivoa oslobađanja noradrenalina iz sinapsi, pa u tim uslovima PBZ ne može stimulisati povećano oslobađanje NA iz sinapse.

Znači da PBZ nema stimulatorno dejstvo na beta-adrenoceptore u normovolemiji, a u hipovolemiji je bez signifikantnog uticaja. Sigurno je da u osnovi njegovog djelovanja u hipotenziji nije stimulacija beta efekata. Medjutim, interesantan je nalaz da PBZ smanjuje MVR i poboljšava MBF u toku hipotenzije, što bi moglo da bude pozadina njegovih pozitivnih efekata u šoku.

Upotreba naloksona u šoku je već izašla iz laboratorije i počela svoj klinički život. U dva pacijenta sa septičkim šokom

D i r k s e n i sar. (1980) su našli dramatično poboljšanje sa porastom sistemskog pritiska i diureze. Iako su ovi slučajevi završili egzitusom, značajno je kao i u slučaju o kome izvještava T i e n g o (1980) da nalokson inicira signifikantno poboljšanje cirkulatornih funkcija. Terapeutsko korišćenje naloksona je isprobano i u kardiogenom šoku (D i r k s e n et al., 1980), kao i u šoku izazvanom hiperdoziranjem sedativa (L e n z et al., 1981). P e t e r s i sar. (1981) izvještavaju o porastu pritiska u 8 od 13 pacijenata sa prolongiranom hipotenzijom poslije aplikacije naloksona. Pacijenti koji nisu reagovali na nalokson, reagovali su na kortikosteroide. Ovi podaci govore u upotrebljivosti naloksona u različitim tipovima šoka, uz uslova da je kortiko-adrenalna osnova funkcionalna.

Nalokson je hemijski N-Allylnoroxymorphone (H a n n, 1984) koji je čisti opioidni antagonist bez agonističke aktivnosti (K o s t e r l i t z and W a t t, 1968). U visokim dozama blokira mu- i delta-opioidne receptore (F r o g g a t et al., 1983). U svome djelovanju ispoljava stereospecifičnost, jer se jedino (-)-nalokson vezuje za opioidne receptore (G a y t o n et al., 1978; A r n d t and F r e y e, 1979). Doze veće od 1 mg/kg su neophodne za efektivnu blokadu opioidnih receptora (C o h e n et al., 1983). Mi smo u našim eksperimentima koristili dozu od 2 mg/kg u bolusu, plus infuzija od 2 mg/kg/sat u trajanju od 150 min (doza održavanja) koja je bazirana na studiji o farmakodinamici naloksona (M a r t i n, 1976), a uglavnom se koristi u eksperimentima koji u centru pažnje imaju hemoragični šok i nalokson (L e c h n e r et al., 1985 a i b; B r ü c k n e r et al., 1984; P a t o n et al., 1983).

Efekti opioidnih antagonista na respiraciju su brojni i mogu biti rezultat četvorostrukog djelovanja: (a) u akutnoj morfinskoj intoksikaciji kompetitivno antagoniziraju morfinsku akciju; (b) mogu stimulisati respiraciju per se antagoniziranjem endogenih opioida; (c) neki antagonisti mogu stimulisati respiraciju svojom sigmaagonističkom aktivnošću i (d) stimulišu respiraciju i u ovisnika od opioida (M a r t i n et al., 1976). Medjutim, ni nalokson (J a s i n s k i et al., 1967), niti drugi čisti opioidni antagonista naltrekson (G r i t z et al., 1976) nisu

imali uticaja na respiraciju u zdravih dobrovoljaca. W u i M a r t i n (1983) su pokazali da nalokson povećava, a fen-tanil smanjuje minutni volumen respiracije u anesteziranim akutno decerebriranim psima. U našim eksperimentima nismo mogli ustanoviti signifikantne efekte naloksona na frekvencu disanja u normovolemiji, pa ni u hipovolemiji, jer nije bilo razlike između nalokson- i sal.- tretirane grupe. Razlike u odnosu na nalaze W u -a i M a r t i n -a, proizilaze iz drugačijeg statusa životinje (decerebrirane i intaktne), iz stanja svjesnosti i drugačijih parametara koji su praćeni (minutni volumen respiracije i frekvencija disanja). B r ü c k n e r i sar. (1984), koristeći model eksperimenta vrlo sličan našem ne nalazi signifikantne razlike srčane frekvence između naloksonске i kontrolne (sal.tretirane) hipovolemičke grupe. Iste rezultate su dobili i L e c h n e r i sar. (1985 c), a isti autori nisu dobili signifikantne promjene srčane frekvence ni poslije intrakoronarne aplikacije tri doze (0,05, 0,1 i 0,2 mg/kg) naloksona (L e c h n e r et al., 1985b). Nikakve promjene nisu našli ni P a t t o n i sar. (1983). Naši rezultati su u skladu sa ovim nalazima, jer nismo našli signifikantne, a niti konzistentne promjene ovog parametra ni u jednoj grupi u odnosu na apsolutnu kontrolu (sal.- tretiranu normovolemiju), osim u pojedinim periodima koji ispadaju iz generalnog trenda razvoja parametra. L e c h n e r i sar. (1985c) su našli signifikantno povećanje srčane frekvence u hipovolemiji poslije adrenalne denervacije i ganglionarne blokade, i zatim infuzije kateholamina, što ukazuje da bi nalokson mogao potencirati hronotropne efekte adrenergičkih agonista. Ove rezultate nismo mogli ni prihvatiti ni odbaciti, s obzirom na sadržaj naših eksperimenata.

U našim eksperimentima nalokson nije signifikantno uticao ni na proteinemiju ni na hematokrit, što bi moglo značiti da se njegov uticaj ne ispoljava promjenama reoloških karakteristika krvi.

Najčešće opisivani nalaz djelovanja naloksona u hipotenziji je porast pritiska. H o l a d a y i F a d e n (1980) su našli povećanje srednjeg arterijskog pritiska u pacova poslije brzog iskrvarenja 50% obračunatog ukupnog volumena krvi.

V a r g i s h i sar. (1980) nalaze u pasa izloženih hemoragičnom šoku, signifikantan porast inotropne funkcije, reflektovan porastom udarnog volumena i srednjeg arterijskog pritiska poslije aplikacije naloksona (2 mg/kg u bolusu praćeno sa infuzijom 2 mg/kg/sat). G u r l l i sar. (1981) nalaze doza-ovisne efekte naloksona na pritisak i ostale hemodinamske parametre. Iste rezultate na psima nalaze i L e c h n e r i sar. (1985). Slični rezultati su dobiveni i na mačkama (F e u e r - s t e i n et al., 1980) i na zečevima (S c h a d t and York, 1981). Svi ovi eksperimenti su izvedeni po istom modelu hipotenzije koji smo i mi koristili, samo što je u ovim eksperimentima hipotenzija ograničena na maksimalno jedan sat.

U našim eksperimentima nismo mogli naći signifikantnu razliku u pritiscima u hipotenziji između nalokson- i sal.- tretirane hipovolemičke grupe, mada je ta razlika u prvom satu hipotenzije nešto izrazitija. Signifikantne razlike u pritiscima između nalokson- tretirane i kontrolne grupe u hipovolemiji nisu našli ni I s o y a m a i sar. (1982) na modelu hemoragične hipotenzije u pacova, s tim da je u ovim eksperimentima hipotenzija trajala 30 minuta. B r ü c k n e r i sar. (1984) su u eksperimentu održavali stalni pritisak od 40 mm Hg tri sata i potom izvršili retransfuziju, poslije koje se pritisci nisu signifikantno razlikovali u naloksonskoj i kontrolnoj grupi. U naloksonskoj grupi je volumen iskrvarenja bio nesignifikantno viši no u kontrolnoj grupi. Autori ovaj veći volumen iskrvarenja objašnjavaju boljom hemodinamskom kondicijom u uslovima naloksonskog tretmana. Mi smo takodje uradili nekoliko eksperimenata sa ovim modelom kontrolisane hipotenzije, sa otvorenom komunikacijom rezervoara i arterije svo vrijeme eksperimenta, i možemo reći da nismo uspješli postići zadovoljavajuće preživljavanje u naloksonskoj grupi.

Promjene pritiska u našim eksperimentima su vezane za model i anesteziju koju smo koristili. Želeći da dobijemo što veće preživljavanje u sal.- tretiranoj hipovolemičkoj grupi, zadržavali smo pad pritiska u trenutku pada ispod 5,3 kPa. To smo isto radili i u naloksonskoj grupi, samo što je u ovoj grupi ta tendenca bila manje izražena. Ipak, odsustvo signifikantnog povišenja pritiska u naloksonskoj grupi u odnosu na sal.- tretirane

ranu upućuje na sumnju u efekte naloksona u smislu povišenja pritiska u hipotenziji. Ovi nalazi su posebno značajni u svjetlu pojave radova novijeg datuma (I s o y a m a i s a r., 1982; B r o w n a n d B u r r, 1986), koji, također, opovrgavaju ranije citirana mišljenja o rastu tenzije u hipovolemiji poslije aplikacije naloksona. Interesantno je da B r o w n i B u r r (1986) nisu mogli reproducirati rezultate F a d e n a i H o l a d a y a (1979), uz identičnu eksperimentalnu proceduru i eksperimentalne uslove, i donekle modificiranu anesteziju.

Interesantan je nalaz promjena pritiska u normovolemičkim grupama. Prema većini nalaza (F a d e n a n d H o l a d a y, 1979; C u r t i s a n d L e f e r, 1980; C h a n c e e t a l., 1985) nalokson ne utiče na arterijski pritisak u životinja u normovolemiji. Međutim, naši rezultati pokazuju signifikantan porast arterijskog pritiska u naloksonskoj normovolemičkoj u odnosu na sal.- tretiranu grupu. Ovaj, donekle iznenadjujući nalaz najvjerojatnije je rezultat upotrebljene anestezije (hloraloza) i eksperimentalne procedure u našim eksperimentima. Poznato je da anestezija mijenja odgovor na hemoragični šok (C h i e n, 1967). S druge strane, promjena statusa adrenergičkog sistema jako mijenja odgovor kardiovaskularnog sistema na nalokson (B e n t o n e t a l., 1985; L e c h n e r e t a l., 1985). Hloraloza je anestetik koji podstiče snažnu simpatičku aktivnost (S r k a l o v i ć e t a l., 1985 c), a hirurška procedura koja podrazumijeva laparotomiju i abdominalne manipulacije doprinosi daljem povišenju nivoa simpatičkog tonusa i cirkulišućih kateholamina. Taj povišeni simpatički tonus bi mogao biti uzrok ovom neuobičajenom efektu naloksona na pritisak u normovolemičkim životinjama. U većini ovdje citiranih radova je korišćena barbituratna anestezija.

Da li su efekti naloksona na pritisak centralni ili periferni, ili možda obostrani, još uvijek nije jasno. Centralno mjesto djelovanja bi mogli biti već navedeni lokusi (prednji hipotalamus, lokus ceruleus, nuc. traktus solitarii), mada se ne mogu isključiti ni druga područja CNS-a (B e r n t o n e t a l., 1985). Periferna mjesta akcije naloksona bi mogla biti autonomna ganglija (D a l s g a a r d e t a l., 1982), srčani mišić ili vaskularni glatki mišić (B l u m a n d S p a t h, 1986).

Interesantan je efekt naloksona na srčane aritmije psa. Te efekte smo primijetili i u našim eksperimentima. Aritmije koje su česte u hloraloza-anesteziranim psima, a naročito su naglašene tokom hipotenzije bile su reducirane pod uticajem naloksonskog tretmana. Srce ima svoje opioidne receptore (S a x o n et al., 1982) i depoe opioidnih peptida (L o n g et al., 1983). Vjerovatno je da su kapa-opioidni receptori odgovorni za regulaciju frekvence srca (G a u t r e t and S c h m i t t, 1984). Naša zapažanja da nalokson inhibira aritmije je u skladu sa zapažanjima B r a s c h -a (1986) i F a g b e m i -ja i sar. (1982), koji, također, nalaze pozitivan uticaj naloksona na aritmije.

Jedan od mogućih mehanizama beneficijelnog djelovanja naloksona u šoku bi moglo biti i povećanje hepatičkog i intestinalnog protoka krvi (L e c h n e r et al., 1985). U hipovolemiji nalokson signifikantno povećava miokardijalni, intestinalni, hepatički i adrenalni protok u odnosu na sal.- tretiranu grupu (L e c h n e r et al., 1985). Ova mjerenja su izvršena mikrosferama, pa daju podatke o tkivnom protoku krvi. Nije bilo promjena u kožnom, mišićnom, pankreatičnom, renalnom, moždanom, niti u protoku kroz masno tkivo. Naši rezultati u normovolemiji ukazuju na činjenicu da nalokson ne mijenja značajno mezenterički protok. Ni u hipovolemiji nema poboljšanja mezenteričkog protoka u naloksonskoj u odnosu na sal.- tretiranu grupu. Interesantno je da poslije retransfuzije i prestanka naloksonske infuzije smanjenje protoka kroz art. mezenteriku sup. ostaje u naloksonskoj grupi na istom nivou, dok u sal.- tretiranoj grupi biva reducirana. Znači da poboljšanje mezenteričkog protoka u hipotenziji sigurno nije u pozadini beneficijelnog djelovanja naloksona, jer je poznato da održavanje adekvatnog mezenteričkog protoka može biti mehanizam povećanog preživljavanja u šoku (L i l l e h e i, 1957).

Periferni vaskularni otpor pod uticajem naloksona se u toku hemoragije ne mijenja (R e y n o l d s et al., 1980; P a t t o n et al., 1983), dok G u r l l i sar. (1982) sa manjim dozama (0,5 i 1 mg/kg) ne dobivaju nikakve promjene, dok sa većim dozama (2 mg/kg) nalaze prolazni porast perifernog vaskula-

rnog otpora, praćen sa naknadnim laganim padom. Takodje, ni I s o y a m a i sar. (1982) ne nalaze promjene pulsnoг pri-tiska kao indikatora sistemskog vaskularnog otpora poslije opioidne administracije. S c h a d t i Y o r k (1980), medju-tim, nalaze da visoka doza naloksona (5 mg/kg) u zeca produkuje porast pulsnoг pritiska u normovolemiji, dok u hipovolemiji i ova, a i manje doze (2 i 3 mg/kg) signifikantno povećavaju pul-sni pritisak, dok je mala doza (0,2 mg/kg) ostala bez efekta. Mi smo u našim eksperimentima ispitivali segmentalni, mezente-rički vaskularni otpor. Naloksonski tretman je uticao na odre-djeni porast MVR u normovolemiji, ali taj porast nije bio signi-fikantan. Medjutim, u hipovolemiji je tretman naloksonom uticao na signifikantan porast MVR u drugom satu hipotenzije, a i u drugim periodima hipotenzije je MVR viši u naloksonskoj, no u sal.- tretiranoj grupi. Ovaj viši nivo MVR u naloksonskoj grupi, zajedno sa nešto nižim MBF, ukazuje na moguće potenciranje alfa-adrenergičkih efekata u uslovima naloksonske infuzije. Ovaj e-fekt je posebno izražen u uslovima hipotenzije, kada postoji viši nivo adrenergičke aktivnosti i izrazito visoki nivo cirku-lirajućih kateholamina. To je u skladu sa mišljenjem da je u us-lovima stimulacije adrenergičkog sistema efektivnost naloksona znatno potencirana (B e r n t o n et al., 1985). Ovi rezultati osvjetljavaju eventualni mehanizam beneficianog djelovanja na-loksona, koji bi se sastojao u prolongiranju sposobnosti kardio-vaskularnog sistema da reaguje na stimulaciju (nervnu ili humo-ralnu), čije odsustvo mnogi autori smatraju uzrokom kardiovasku-larne deterioracije (B o n d et al., 1986).

Osnovne karakteristike inotropnog odgovora na intrako-ronarnu aplikaciju naloksona ukazuju na lokalnu facilitaciju beta-adrenergičke aktivnosti (L e c h n e r et al., 1985b). To može biti rezultat presinaptičkog djelovanja ili je uključen postsinaptički mehanizam u smislu stimulacije efekata noradrena-lina oslobođenog iz presinapse (C a f f r e y et al., 1986). Porast miokardijalne kontraktilnosti poslije aplikacije naloksona je u skladu sa regionalnom facilitacijom adrenergičkih mehanizama kao jednim od efekata naloksona (C a f f r e y, 1985; L e c h - n e r et al., 1985c). Veza opioidnog sistema sa beta-adrenocep-torima na iscrpljuje se samo uticajem na srčane beta-adrenoceptore.

Morfin inhibira aktivnost dopamin-senzitivne adenilat-ciklaze u amigdalnog jezgru primata (W i l k e n i n g et al., 1976). Ovaj efekt je bio blokiran akcijom naloksona. Morfin također inhibira aktivaciju adenilat-ciklaze prostaglandinom E u neuroblastoma x glioma hibridnoj ćelijskoj liniji (S h a r m a et al., 1975). U našim eksperimentima smo našli da nalokson povećava efekte izoproterenola koji se ispoljavaju povećanjem mezenteričkog protoka i sa manjom, a i sa većom dozom (0,1 i 1 micro g/kg) tokom normovolemije. U slučaju doze od 0,1 micro g/kg ti efekti su bili reverzibilni, dok su se efekti doze od 1 micro g/kg održali i poslije prestanka infuzije naloksona.

Medjutim, u hipovolemiji nalokson nije uspio da stimuliše efekte izoproterenola, posebno u slučaju manje doze. Efekte doze od 1 micro g/kg, nalokson je i u prvom satu hipotenzije donekle stimulisao. Medjutim, ovi efekti u hipotenziji nisu pokazivali pravilnost, pa se može reći, generalno, da nalokson ne stimuliše efekte izoproterenola u hipotenziji, kao što ih stimuliše u normovolemiji. Poslije retransfuzije efekti izoproterenola se ne vraćaju ni blizu kontrolnog nivoa ni u jednoj od hipovolemičkih grupa. Koji je mehanizam ovog djelovanja? C a f f r e y i sar. (1986) izvještavaju o naloksonske stimulaciji efekata izoproterenola na srčane funkcije. Osnovni parametar koji je praćen u ovom radu bio je  $dp/dt$  lijevog ventrikula. Izoproterenol (u dozama 0,05, 0,1 i 0,15 micro g/kg) produkovao je "pik" porasta LV  $dp/dt$ , koji je u uslovima naloksonske infuzije bio značajno povećan i produžen. Mogući mehanizmi, koji ovo uslovljavaju bi mogli biti sljedeći: (a) direktan uticaj preko postsinaptičkog mehanizma i (b) blokiranje sistema uklanjanja izoproterenola. Što se tiče ovog drugog mehanizma, ne bismo se mogli saglasiti sa ovom pretpostavkom. U eksperimentima sa PBZ, koji je blokator ekstraneuronalnog aptejka, čiji je izoproterenol supstrat (T r e n d e l e n b u r g, 1986), nismo dobili ni potenciranje niti prolongiranje efekta izoproterenola. Neuronalno "uklanjanje" izoproterenola je zanemarljivo (T r e n d e l e n b u r g, 1986). To smo i mi zapazili, jer blokada neuronalnog "uklanjanja" sa kokainom (1 mg/kg) nije imala nikakvog uticaja na izoproterenolne efekte. Stoga možemo reći da u mezenteričkom vaskularnom tkivu ne postoji neuronalno "uklanjanje" izoproterenola. Od dva

navedena moguća mehanizma uticaja naloksona na izoproterenolske efekte, znači, mnogo je vjerovatniji mehanizam uticaja na postsinaptičkom nivou. To je u skladu sa pretpostavkom L e c h n e r -a i sar. (1985c) o uticaju naloksona na srčane beta-adrenoceptore. Ta pretpostavka se zasniva na modelu beta-adrenoceptorne funkcije koji je dao G i l m a n (1984). Ovaj model podrazumijeva da nalokson blokira inhibitorni uticaj opioida na ekspresivnost beta-adrenoceptora. To je u skladu i sa rezultatima koje smo dobili u eksperimentima sa DADLE.

Ostaje otvoreno pitanje zašto nalokson nije stimulirao efekte izoproterenola i u hipotenziji. Moguće objašnjenje je razvoj jake acidoze u toku hipotenzije (C l o u t i e r et al., 1969). G u r l l i sar. (1983) su našli da acidoza reducira odgovor na nalokson, a s druge strane postoji i snažna redukcija kateholaminskog vezivanja na beta-adrenoceptore u uslovima niskog pH (L e f k o w i t z et al., 1973). Znači da na kraju možemo reći da nalokson svoje djelovanje u šoku ne zahvaljuje uticaju na beta-adrenoceptore.

Alfa<sub>1</sub>-adrenoceptori tokom hemoragične hipotenzije ne doživljavaju promjene u smislu desenzitizacije, a posebno ne destrukcije, što je dokazano u mezenteričkom vaskularnom stablu in vivo (S r k a l o v i ć, 1984). Takodje, ni u eksperimentima in vitro, alfa-adrenoceptori arterija mišića u toku hipotenzije ne samo da ne pokazuju promjene u smislu desenzitizacije ili ograničenja ekspresivnosti, nego njihova senzitivnost raste (B o n d et al., 1981). U eksperimentima in vitro nalokson ispoljava inhibitorni uticaj na norepinefrin-inducirane kontrakcije bazilarne arterije psa (S a s a k i et al., 1984a). Prema autorima ovo nije rezultat antagonističke akcije, prema opioidnim receptorima, ili direktne inhibicije, alfa-, ili stimulacije beta-adrenoceptora u glatkim mišićima ove arterije. Nalokson u eksperimentima sa psima ispoljava inhibitorne efekte na norepinefrinsku konstrikciju cerebralnih arterija (S a s a k i et al., 1984b). L e e i B e r k o w i t z (1976) visokim koncentracijama naloksona in vitro ( $3 \times 10^{-4}$  do  $1 \times 10^{-3}$  M) su reducirali kontrakcije pacovske aorte izazvane sa KCl i noradrenalinom. Isti autori su pokazali da ovi vazodilatatorni efekti ovise o koncentraciji  $Ca^{2+}$  u medijumu.

S a s a k i i sar. (1984c) su, međutim, pokazali sasvim suprotne efekte malih koncentracija naloksona ( $3 \times 10^{-6}$  i  $3 \times 10^{-5}$  M) na noradrenalinske kontrakcije mezenteričke arterije *psa in vitro*. Ove doze su signifikantno stimulisale noradrenalinske, ali ne i KCl kontrakcije ovog preparata. Ovi efekti nisu bili vezani sa koncentracijom  $Ca^{2+}$  u mediju. Ovaj efekt izgleda nije rezultat direktne stimulacije alfa-adrenoceptora u tkivu. Naši rezultati potvrđuju rezultate ovih autora, s obzirom da smo mi, također, našli potenciranje efekata adrenalina mezenteričkoj vaskularizaciji u uslovima naloksonske infuzije. Ovo potenciranje je bilo dvostruko: stimulisana je bila i veličina odgovora na dozu od 0,1 micro g/kg adrenalina, kao što je i odgovor na veću dozu adrenalina (1 micro g/kg) bio znatno produžen i produbljen, uz znatnu izmjenu oblika krivulje promjene MBF. Ovo znatno produžavanje i produbljivanje efekta adrenalina, kao i jako povećana osjetljivost kardiovaskularnog sistema na aplicirani adrenalin ide u prilog tvrdnji S a s a k i -ja i sar. (1984c) da su ovi efekti naloksona rezultat inhibicije "uklanjanja" adrenalina od strane tkiva mezenteričke arterije. Tome u prilog ide i nalaz da kokain u uslovima naloksonske infuzije ne mijenja efekte adrenalina na MBF. Ovi rezultati zajedno sa već navedenim promjenama MBF i MVR umnogome potvrđuje mišljenje S a s a k i -ja i sar. (1984c) da nalokson bar dio svojih efekata duguje povećanju konstriktornog odgovora splahnhičkih arterija induciranog endogenim kateholaminima.

Leu- i Met- enkefalini su izolirani najprije iz CNS-a od strane H u g h e s -a i sar. (1975). Isti autori su prvi prikazali i strukturu enkefalina i pokazali njihovu pentapeptidnu strukturu. Enkefalini su dokazani osim u CNS-u, i bubrezima, intestinumu i adrenalnoj žlijezdi različitih životinjskih vrsta (S m i t h et al., 1976; D i G u i l i o et al., 1979; L e w i s et al., 1979; Y o n g et al., 1980). Imunocitohistohemijske studije adrenalne žlijezde pacova lokalizovale su enkefaline u medularne ćelije (S c h u l t z b e r g et al., 1978). Enkefalini se snažno oslobadjaju u odgovoru na akutni stres (F a r r e l et al., 1983). Oni se brzo razgradjuju specifičnim plazma protezama (B e r n t o n et al., 1985). Modifikacijama molekula

ovih supstanci može se postići značajno veća biološka aktivnost, kao i metabolička stabilnost koja omogućava upotrebu supstance u eksperimentu. Takođe se efekti prirodnih enkefalina mogu produžiti upotrebom inhibitora proteaza ili enkefalinaza, bacitracinom ili fosforamidonom (V a r a g i ć, lični kontakt). U našim eksperimentima smo koristili metabolički stabilni analog Leu-enk (d-Ala<sup>2</sup> d-Leu<sup>5</sup>)-enkefalin (DADLE) koji je najaktivniji analog enkefalina u tri esej sistema, vaz deferensu miša, ileumu pacova i opioidnim receptorima mozga pacova (B e d d e l l et al., 1977).

Efekti opioida na disanje se ostvaruju uglavnom akcijom na prednju medulu, tako da aplikacija opioida u ovo područje produkuje respiratornu depresiju (H u r l e et al., 1982). Aplikacija agonista delta receptora (d-Ala-d-Leu-enkefalina) produkuje prolongirane ekspiracije i smanjenje minutne ventilacije (H a d d a d et al., 1984). Efekti enkefalina apliciranih centralno su dosta ovisni o početnom respiratornom statusu, kao i stanju ventilacije (prirodna ili arteficijelna) u toku eksperimenta (F e u e r s t e i n, 1985). U našim eksperimentima smo i poslije i.v. aplikacije DADLE u trećem, četvrtom i petom satu eksperimenta dobili signifikantno smanjenje frekvence disanja u odnosu na sal.- tretiranu grupu. Ovi efekti su vjerovatno rezultat centralnog djelovanja DADLE, s obzirom na mogućnost djelovanja cirkulišućih enkefalina na centralne opioidne receptore preko cirkumventrikularnih lokusa CNS-a (H o l a d a y, 1983).

Efekti Leu-enk na srčanu frekvencu ovisi od stanja anestezije i respiracije (F e u e r s t e i n, 1985). Mikroinjekcije Leu-enk u nuc. ambiguus anesteziranih pacova smanjuju frekvencu srca, dok u slučaju arteficijelne ventilacije frekvencu pada (H a s s e n et al., 1984). Intracisternalna aplikacija DADLE (25 i 125 micro g/kg) produžuje R-R interval u pasa, koji nije mogao biti blokiran sa naloksonom (H a d d a d et al., 1986). Najvjerovatnije je ovaj efekt rezultat stimulacije parasimpatičke aktivnosti, a izgleda da nije u vezi sa baroreceptorom aktivnošću. Visoke doze DADLE date sistemski induciraju male ili nikakve

promjene R-R intervala (H a d d a d et al., 1986). Mi, tako-  
dje, nismo našli promjene frekvence poslije aplikacije DADLE  
u poredjenju sa sal.- tretiranom grupom. Izgleda da opiodi  
stimulišu parasimpatičku kontrolu u slučaju ako je balans ve-  
getativnog nervnog sistema pomaknut prema parasimpatičkoj  
funkciji (C a f f r e y et al., 1985).

U našim eksperimentima DADLE nije značajno mijenjao  
proteinemiju, a ni hematokrit, tako da izgleda da su njegovi  
efekti na mikrocirkulaciju u upotrebljenoj dozi beznačajni.

DADLE je preferencijalni delta-agonist, pa je većina  
njegovih efekata vezana za delta-opioidnu aktivnost (W e i et  
al., 1977). Aplikacija DADLE u četvrtu moždanu komoru rezultira  
presornim odgovorom u neanesteziranih pacova, koji nestaje po-  
slije lagane anestezije barbituratima (H o l a d a y, 1983).  
Aplificiran u treći ventrikul DADLE produkuje hipotenzivni odgo-  
vor, vjerovatno stimulacijom hipotalamičkih delta-opioidnih re-  
ceptora koji dalje inhibiraju simpatički tonus. H a d d a d i  
sar. (1986) nalaze bifazični odgovor na intracisternalnu apli-  
kaciju DADLE sa inicijalnim porastom i naknadnim padom na bazal-  
nu liniju ili ispod nje. Ovaj efekt je bio nalokson-senzitivan  
i mogao se u potpunosti blokirati intracisternalnom aplikacijom  
naloksona. H a s s e n i sar. (1984) nalaze porast pritiska  
poslije aplikacije DADLE u nuc. ambiguus anesteziranih pacova,  
sa spontanom disanjem, dok arteficiona ventilacija okreće ovaj  
efekt u smanjenje pritiska. F e l d b e r g i W e i (1978)  
nalaze pad pritiska poslije i.v. aplikacije DADLE u mačaka. M o -  
o r e i D o w l i n g (1980) registrovali su bifazični odgo-  
vor pritiska, sa početnim povećanjem, poslije i.v. aplikacije  
enkefalina. Naši rezultati ukazuju na signifikantno povećanje  
pritiska poslije tročasovne infuzije DADLE (100 micro g) u toku  
cijelog trajanja infuzije, pa i kratko poslije prestanka. Ovi  
rezultati su u skladu sa nalazima S i m o n -a i sar. (1978),  
koji su našli progresivni porast arterijskog pritiska poslije  
i.v. injekcije Leu-enk u neanesteziranim pacovima. Najvjerovatni-  
je je da su ovi efekti perifernog porijekla, jer su mogli biti  
blokirani intravenskom, ali ne i intraventrikularnom aplikacijom  
naloksona (S c h a z et al., 1980). Isti autori navode intere-

santan nalaz da su ovi efekti Leu-enk izrazitiji u spontano hipertenzivnim, no u normotenzivnim životinjama. Suprotne rezultate našima dobili su C a f f r e y i sar. (1985), koji su poslije systemske aplikacije DADLE registrovali značajno smanjenje arterijskog pritiska. Ovo neslaganje možda proizilazi iz drugačije anestezije (barbituratna versus hloraloza), a s druge strane bazalni pritisak u C a f f r e y -evim eksperimentima je bio  $15,1 \pm 1$  kPa, dok je u našim eksperimentima bio  $20,3 \pm 0,8$  kPa, što rječito govori o početnom statusu vegetativnog nervnog sistema. Očito je da početni vegetativni status značajno utiče na odgovor na aplikaciju enkefalina. Ovo je posebno potencirano činjenicom da hloraloza koju smo koristili podiže simpatičku aktivnost, dok barbiturati izazivaju bradikardiju.

Koristeći metodu identičnu našoj P a w l i k i sar. (1980) su ispitali uticaj Met-enk na mezenterički protok. Poslije aplikacije rastućih doza Met-enk (0,03, 0,06, 0,125, 0,25, 0,5 i 1 micro g/kg/min u trajanju od 10 minuta) direktno u art. mezenteriku sup. psa registrovali su doza-ovisno povećanje MBF. Maksimalni odgovor je postignut sa 0,5 micro g/kg/min. Mi smo napravili seriju eksperimenata u kojima smo aplicirali takodje direktno i.a. rastuće doze DADLE (1, 3, 10, 30, 100, 300 i 1000 micro g) u bolusima bez vidljivog odgovora MBF. S obzirom da su oba enkefalina agonisti delta-opioidnih receptora, s tim da DADLE posjeduje najveću agonističku aktivnost od svih poznatih supstanci, možemo zaključiti da efekti Met-enk, koje su opisali P a w l i k i sar. (1980) ne uključuju direktno delta-opioidne receptore.

Promjene MBF u toku i.v. aplikacije infuzije DADLE u našim eksperimentima ukazuje da DADLE posjeduje određenu vazodilatatornu aktivnost u mezenteričkoj vaskularizaciji, koja u zadnjem satu infuzije postaje statistički signifikantna. Slične rezultate pri aplikaciji Leu-enk u preparatu izoliranog stražnjeg ekstremiteta psa dobili su i M o o r e i sar. (1982). Oni su aplikacijom progresivno rastućih doza Leu-enk (0,032, 0,1, 0,32, 1, 3,2, 10, 32, 100 i 320 micro g) dobili pad perfuzionog pritiska, koji indicira vazodilataciju ovog korita. Ove rezultate

autori objašnjavaju i direktnim i indirektnim efektima enkefalina. Direktni efekti bi uključivali opioidne receptore ili histaminske efekte, a indirektni uticaj opšteg pritiska ili interakciju sa adrenergičkim sistemom. Učešće beta-adrenoceptora u ovom efektu se isključuje. Takodje ovi autori postavljaju atraktivnu hipotezu da Leu i Met-enk ispoljavaju svoja dejstva preko različitih tipova receptora. Time bi se mogla objasniti razlika efekata Pawlik i sar. (1980) i naših rezultata. Ipak, dok ova hipoteza ne bude eventualno dokazana, ostajemo pri tvrdnji da efekti koje su Pawlik i sar. dobili nisu vezani za delta opioidne receptore u mezenteričkoj vaskularizaciji. Možda je povećanje MBF koje smo dobili u toku infuzije DADLE ipak najprije uslovljena porastom arterijskog pritiska koji smo takodje registrovali, a ne direktnim vazodilatatornim efektom. Ovaj zaključak je još više potvrđen nalazom uticaja infuzije DADLE na efekte izoproterenola na MBF, kao i odsustvom razlike MVR u DADLE i sal.- tretiranoj grupi.

Izoproterenolski efekti na MBF u uslovima infuzije DADLE bili su nešto reducirani u odnosu na sal.- tretiranu grupu. Mada nema statistički signifikantne razlike, trend smanjenja je vidljiv sa obje doze izoproterenola. Ovi rezultati ukazuju da dio stimulatornih naloksona na ekspresivnost mezenteričkih beta-adrenoceptora proizilazi iz blokiranja enkefalinske inhibicije beta-adrenoceptora. Ovi efekti nisu vezani za delta-opioidne receptore, čije prisustvo u mezenteričkoj vaskularizaciji nismo mogli dokazati, već se, vjerovatno, radi o potvrdi modela funkcionisanja beta adrenoceptora koji daje Gilman (1984), koji podrazumijeva vezivanje enkefalina za inhibitornu subjedinicu receptorske molekule ( $R_i$ ) i inhibiranje beta-ekspresivnosti.

DADLE nije ispolji efekte na alfa-adrenergičku aktivnost u mezenteričkoj vaskularizaciji tako da je razumljivo da se MVR nije mijenjao u toku infuzije DADLE. Ovi naši rezultati su još jedna potvrda mišljenja Simantov-a i sar. (1982) da opioidni peptidi nemaju efekte na alfa-adrenoceptoru gustoću. Ostaje i dalje aktuelno mišljenje ovih autora da alfa i enkefalinski receptori koriste iste generalne regulatorne puteve.

Premda nismo uspjeli dokazati prisustvo postsinaptičkih delta-opioidnih receptora u mezenteričkoj vaskularizaciji (DADLE

nije ispoljavao efekte date i.a.) ostaje i dalje pitanje prisustva presinaptičkih delta-opioidnih receptora u ovoj vaskularizaciji. I l l e s i sar. (1986) u zečijoj ušnoj arteriji i K ü g e l g e n i sar. (1985) u ileokoličkoj arteriji zeca su dokazali presinaptičke delta i kapa-receptore. Osnovni efekt njihove stimulacije je redukcija oslobađanja NA iz presinapse. To je jedan od mogućih mehanizama vazodilatatornog dejstva enkefalina, pa može stajati u pozadini vazodilatatornog dejstva DADLE u našim eksperimentima, kada je dat i.v. u infuziji. Međutim, zašto efekte nije dao i i.a. dat DADLE. Vjerovatno je to znak centralnog efekta supstance.

Mezenterička vaskularizacija ima dobru intrinzičku kontrolu (B o n d et al., 1986) i pokazuje autoregulatorno ponašanje. Pojam "autoregulacija" se koristi za opisivanje sposobnosti vaskularizacije organa ili tkiva da održava konstantni protok bez obzira na promjene perfuzionog pritiska (Johnson, 1964). Očito je da mezenterička vaskularizacija pokazuje takvo ponašanje koje ima funkciju zaštite metaboličkog integriteta tkiva bez obzira na promjene arterijskog pritiska (B o n d and G r e e n, 1983). To je jasno prikazano i našim analizama korelacije arterijskog pritiska i protoka krvi kroz art. mezenteriku sup. u normovolemičkim grupama (Graf. 31, 32, 33 i 35). U ovim uslovima ove korelacije su niske i nesignifikantne, što govori da mezenterički protok ne reagira pasivno na promjene perfuzionog tj. arterijskog pritiska. Međutim, pad pritiska i druge promjene koje izazivaju tretman sa PBZ (Graf. 33) i iskrvarenje (Graf. 31) potpuno ukidaju "autoregulaciju" mezenteričke vaskularizacije, pa visoki nivo signifikantnosti korelacije govori o pasivnom odgovoru mezenteričkog protoka na promjene pritiska. Tretman sa naloksonom i DADLE ne utiču značajno na "autoregulaciju", mada u normovolemiji donekle smanjuju korelaciju (Graf. 32 i 36), dok u hipovolemiji nalokson skoro da ne mijenja korelaciju arterijskog pritiska i mezenteričkog protoka (Graf. 34).

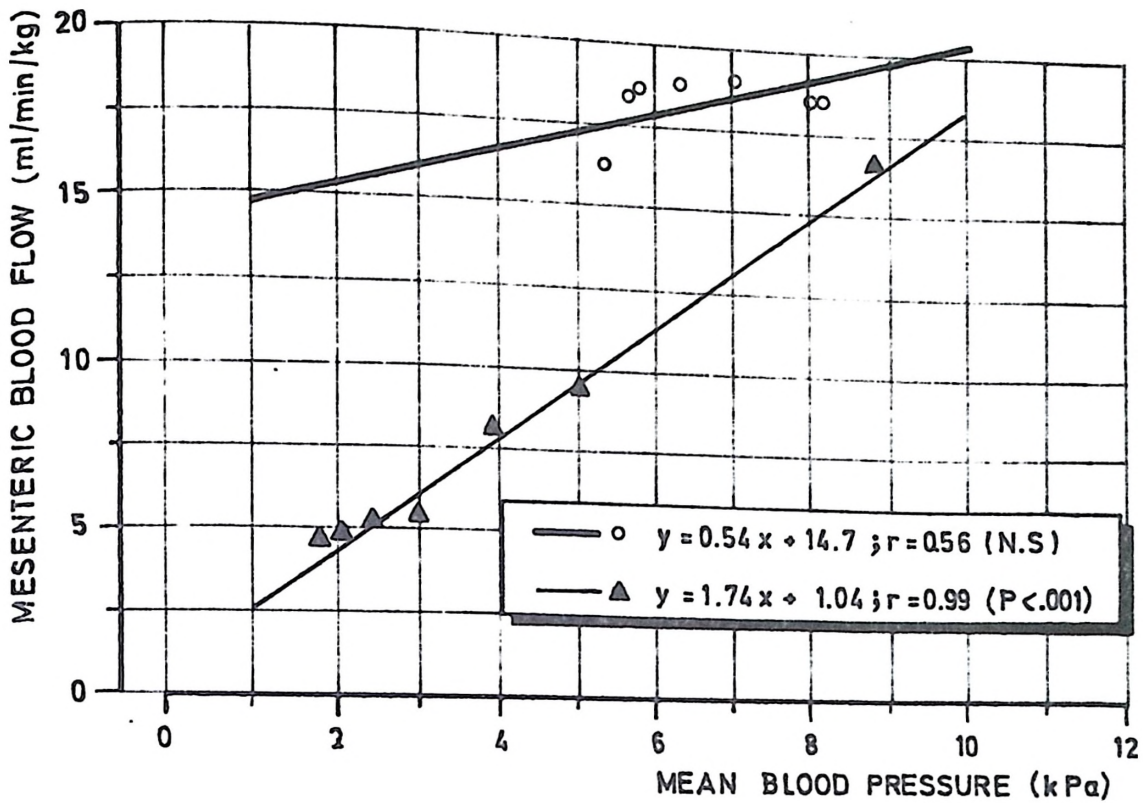


Fig. 31: Korelacija između protoka krvi kroz arteriju mezenteriku superior i srednjeg arterijskog pritiska u normovolemičkoj + sal. (30 min) (o) i hipovolemičkoj + sal. (30 min) (Δ) grupi. Linije su izvedene pomoću linearne regresione analize

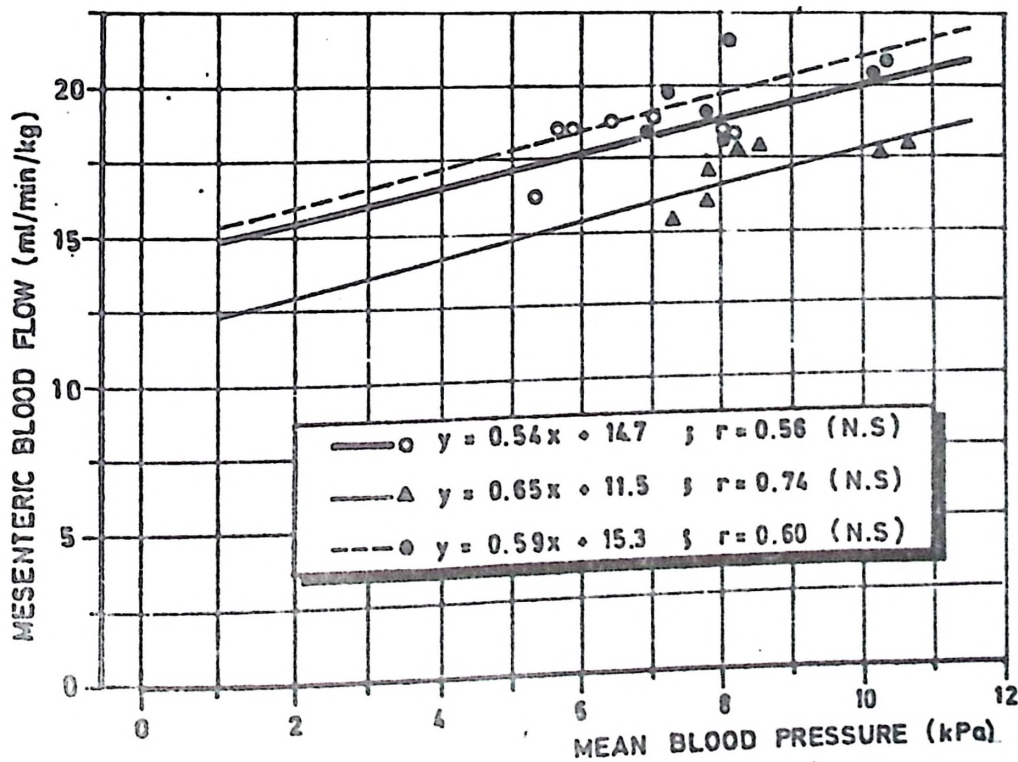


Fig. 32: Korelacija između protoka krvi kroz arteriju mezenteriku superior i srednjeg arterijskog pritiska u normovolemičkoj + sal. (30 min) (o), normovolemičkoj + sal. (2,5 sata) (Δ) i normovolemičkoj + nalokson (●) grupi. Linije su izvedene pomoću linearne regresione analize

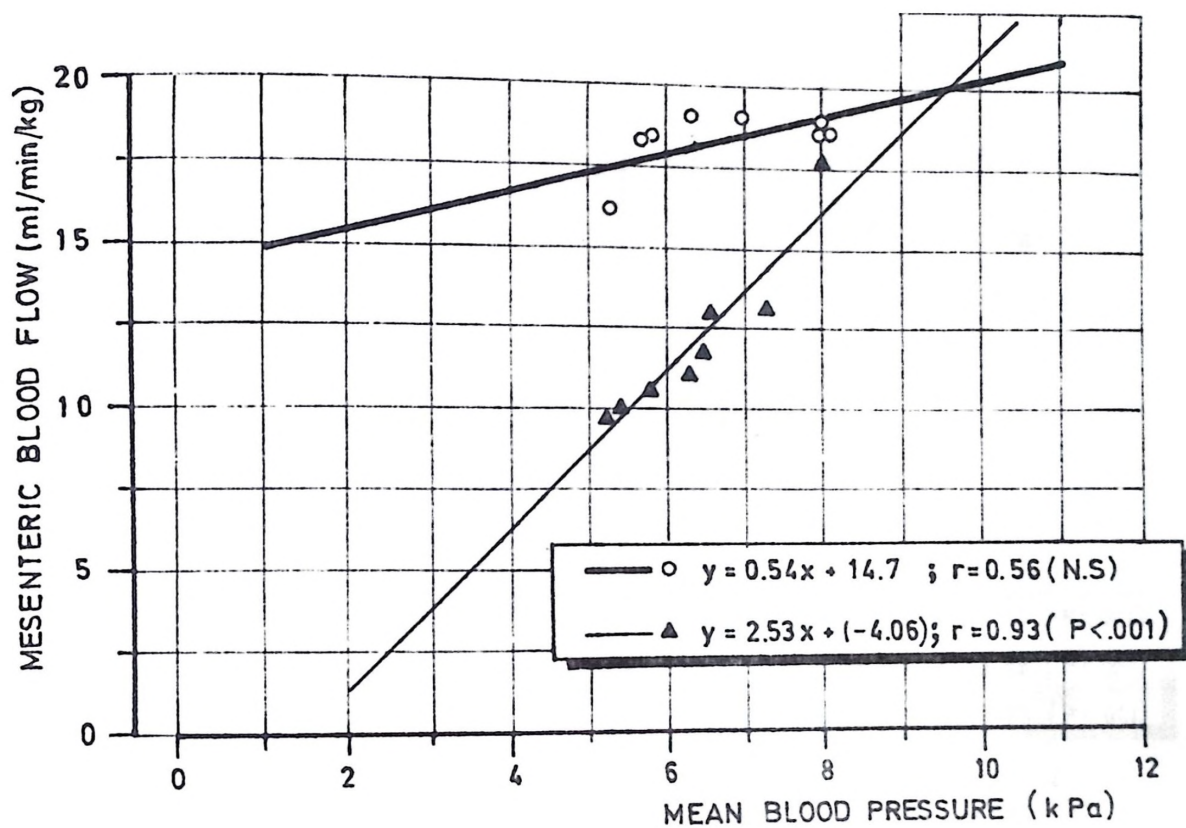


Fig.: 33; Korelacija izmedju protoka krvi kroz arteriju mezenteriku superior i srednjeg arterijskog pritiska u normovolemičkoj + sal. (30 min) (○) i normovolemičkoj + PBZ (30 min) (▲) grupi. Linije su izvedene pomoću linearne regresione analize

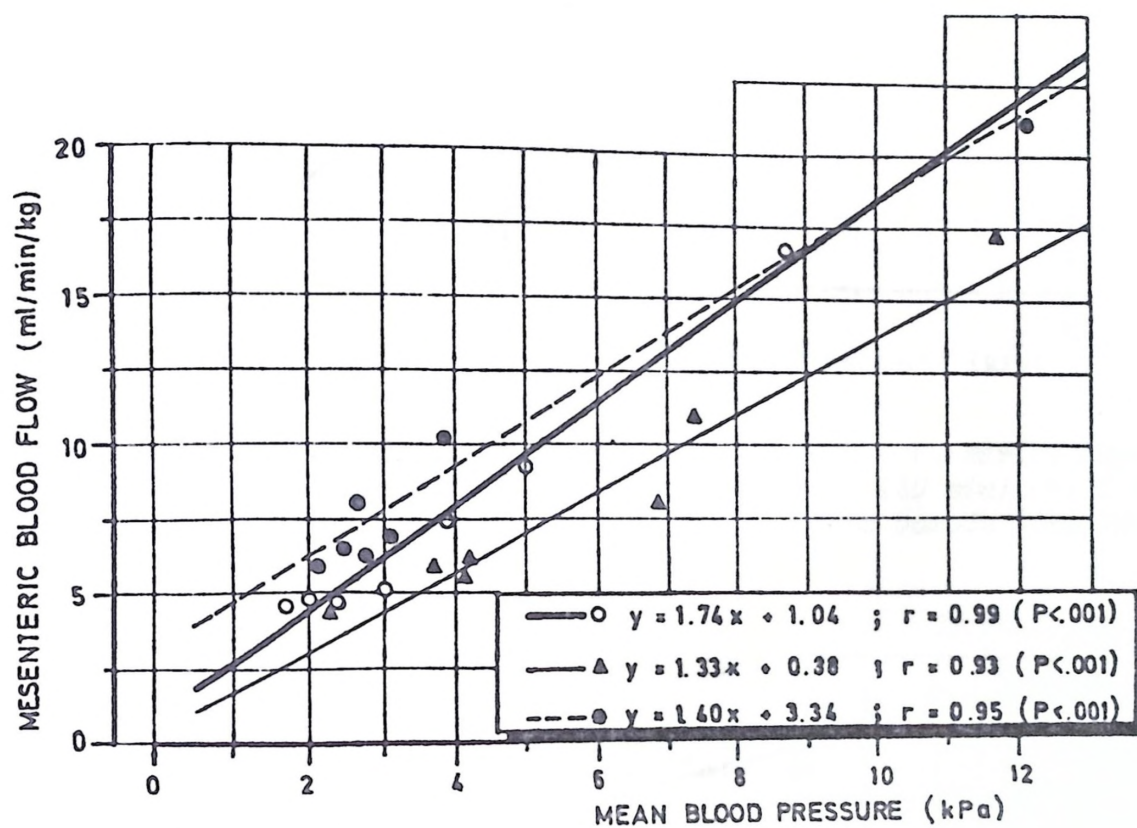


Fig. 34: Korelacija između protoka krvi kroz arteriju mezenteriku superior i srednjeg arterijskog pritiska u hipovolemičkoj + sal. (30 min) (○), hipovolemičkoj + sal. (2,5 sata) (△) i hipovolemičkoj + nalokson (●) grupi. Linije su izvedene pomoću linearne regresione analize

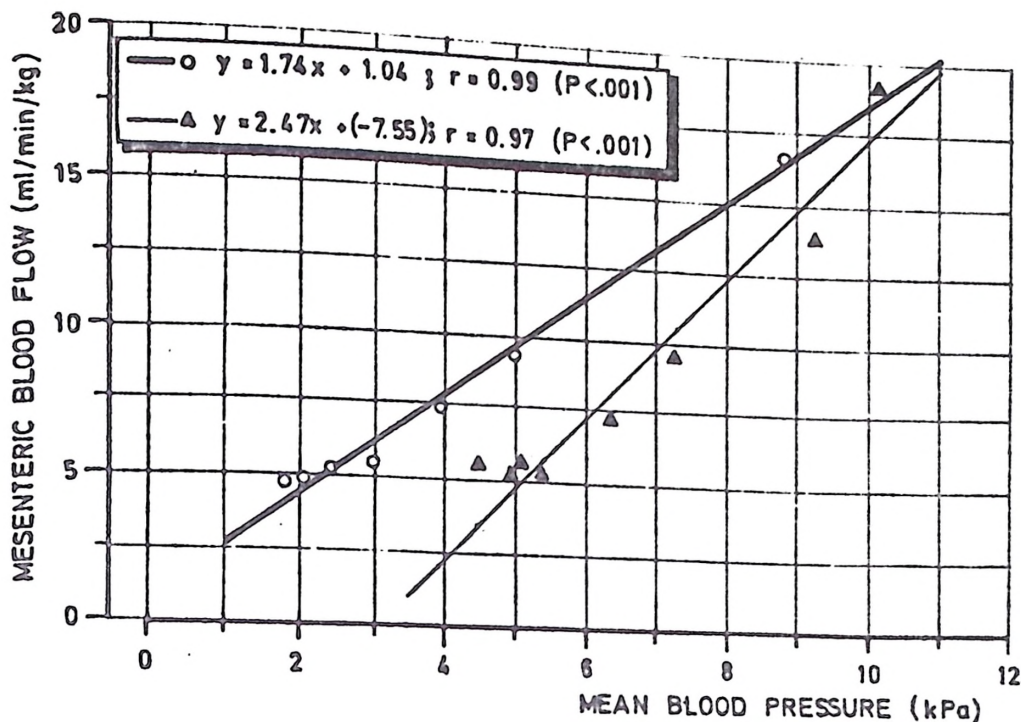


Fig. 35: Korelacija između protoka krvi kroz arteriju mezenteriku superior i srednjeg arterijskog pritiska u hipovolemičkoj + sal. (30 min) (○) i hipovolemičkoj + PBZ (30 min) (△) grupi. Linije su izvedene pomoću linearne regresione krive

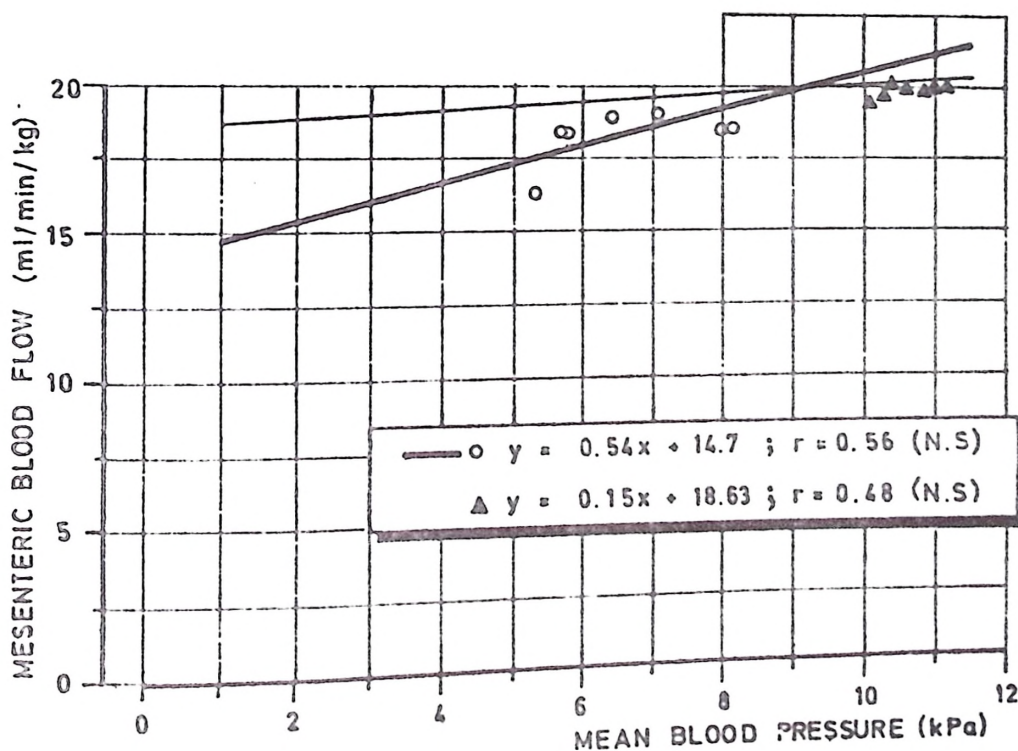


Fig. 36: Korelacija između protoka krvi kroz arteriju mezenteriku superior i srednjeg arterijskog pritiska u normovolemičkoj + sal. (3 sata) (○) i normovolemičkoj + DADLE (3 sata) (△) grupi. Linije su izvedene pomoću linearne regresione analize

## ZAKLJUČCI

1. Nalokson u uslovima anestezije hloralozom na povećava srednji arterijski pritisak u toku hemoragične hipotenzije pasa. Medjutim, nalokson signifikantno povećava arterijski pritisak u normovolemiji u poredjenju sa grupom tretiranom fiziološkom otopinom. Ovi nalazi koji se razlikuju od većine dosad objavljenih su vjerovatno posljedica anestezije hloralozom.

2. Nalokson stimuliše aktivnost mezenteričkih vaskularnih beta- i naročito alfa-adrenoceptora, kao što je i pretpostavljeno u odredjenom broju drugih radova. Efekti naloksona na funkciju alfa-adrenoceptora su bar djelomično rezultat blokade uklanjanja adrenalina.

3. Nalokson povećava mezenterički vaskularni otpor u toku naših eksperimenata, što je takodje, u velikoj mjeri, posljedica blokade uklanjanja adrenalina od strane tkiva art. mezenterike sup.

4. Rezultati stimulisanja funkcije beta-adrenoceptora od strane naloksona su potvrda hipoteze po kojoj opioidni peptidi inhibiraju funkciju beta-adrenoceptora.

5. Leu-enkefalin signifikantno povećava srednji arterijski pritisak u našim eksperimentima. Pri tome ne mijenja frekvencu srca, niti mezenterički otpor. Najvjerovatnije je ovaj efekt rezultat centralnog djelovanja supstance. Leu-enkefalin ne doprinosi, najvjerovatnije, padu pritiska u toku hipotenzije.

6. Leu-enkefalin reducira, istina nesignifikantno, ekspresivnost vaskularnih beta adrenoceptora. Nalokson bi, stoga, mogao bar dio svog efekta na beta-adrenoceptore ispoljavati blokadom akcije enkefalina.

7. Fenoksibenzamin dio svog djelovanja u šoku ispoljava smanjivanjem MVR i poboljšavanjem mezenteričkog protoka u uslovima

hipotenzije. U uslovima PBZ blokade vazodilatacija mezenteričkog vaskularnog područja, kao rezultat stimulacije mezenteričkih vaskularnih beta-adrenoceptora, biva reducirana.

8. Naši rezultati ukazuju na mogućnost odsustva post-sinaptičkih  $\alpha_2$ -adrenoceptora u mezenteričkom vaskularnom području psa. Za aktivnu mezenteričku vazokonstrikciju koja se dešava u toku hipotenzije odgovorni su  $\alpha_2$ -adrenoceptori.

9. Mezenterička vaskularizacija psa u normovolemiji pokazuje izrazito "autoregulationo" ponašanje. Nalokson i leu-enkefalin ne remete to ponašanje u normovolemiji. Hipotenzija i PBZ skoro potpuno ukidaju "autoregulaciju" mezenteričkog vaskularnog područja, a tretman naloksonom je ne popravlja.

## LITERATURA

1. Ahlquist, R.P. (1948): Study of adrenergic receptors. *Am. J. Physiol.*, 153, 586-600
2. Altura, B. (1983): Endothelium, reticuloendothelial cells and microvascular integrity; roles in host defence. In: *Handbook of shock and trauma*, Vol. 1, Altura, B.M., Lefler, A. and Schumer, W. (eds.), Raven press, New York, pp. 51-95
3. Altura, B.M., Altura, B.T., Corella, A., Turhapaty, P.D.M.D. and Weinberg, J. (1980). Vascular smooth muscle and general anesthetics. *Federation Proc.*, 39, 1584-1591
4. Anderson, R.G.G. (1972): Cyclic AMP and calcium ions in mechanical and metabolic responses of smooth muscles: influence of some hormones and drugs. *Acta Physiol.Scand.*, Suppl. 382, 1-59
5. Armstead, W.M., Lipton, H.L., Hyman, A.L. and Kadowitz, D.J. (1984): Analysis of adrenergic responses in the mesenteric vascular bed of the cat; evidence that vascular beta<sub>2</sub>-adrenoceptors are innervated. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 62, 1470-1478
6. Arndt, J.C. and Freye, E. (1979). Opiate antagonists reverses the cardiovascular effects of inhalation anaesthesia. *Nature*, 277, 399-400
7. Atwel, S.F. and Kuhar, M.J. (1977): Autoradiographic localization of opiate receptors in rat brain. I Spinal cord and lower medulla. *Brain Res.*, 53-67
8. Bacalzo, L.V., Jr., Cary, A.D., Miller, L.D. and Parkins, W.M. (1971): Methods and critical uptake volume for hemorrhagic shock in rats. *Surgery*, 70, 555-560

20. Bloom, F.E. (1938): The endorphins: a growing family of pharmacologically pertinent peptides. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 23, 151-170
21. Bloom, B.M. and Goldman, I.M. (1966): The nature of catecholamine-adenine-mononucleotide interactions in adrenergic mechanisms. In: *Advances in drug research*, vol. 3, Harper, N.J. and Simmonds, A.B. (eds.), Academic Press, London, pp. 121-169
22. Blum, P.S. and Spath, J.A. (1986): Interaction between naloxone serotonin in the control of the cardiovascular system in hemorrhaged cats. *Eur. J. Pharmacol.*, 123, 99-108
23. Blume, A.J., Lichtshtein, D. and Boome, G. (1979): Coupling of opiate receptors to adenylate cyclase; requirement for  $\text{Na}^+$  and GTP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 5626-5630
24. Boogaerts, M.A., Vermylen, J., Deckmyn, H., Roekant, C., Verwilghen, R.L., Jacob, H.S. and Moldow, C.F. (1983): Enkephalins modify granulocytes-endothelial interactions by stimulating prostacyclin production. *Thromb. Haemostasis (Stuttgart)*, 50, 572-575
25. Bolton, T.B. (1979): Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. *Physiol. Rev.*, 59, 606-718
26. Bond, R.F., Bond, Carol and Johnson, G. III (1986): Intrinsic versus extrinsic regional vascular control during hemorrhagic hypotension and shock. *Circ. Shock*, 18, 115-129
27. Bond, R.F., Bond, Carol, Peissner, L.C. and Manning, E.S. (1981): Adrenergic responses at gracilis arteries removed during hemorrhagic hypotension and shock. *Circ. Shock*, 8, 411-423
28. Bond, R.F. and Green, H.D. (1983): Peripheral circulation. In: *Handbook of shock and trauma*, Vol. 1, Altura, B.M., Manley, E.S. Jr and Farrar, D.J. (eds.), Raven Press, New York. pp. 29-49

29. Brown, D. and Burr, R. (1986): Naloxone fails to reverse hemorrhagic hypotension. *Am. J. Physiol.*, 251, H468-H470
29. Bond, R.F. and Johnson, G III (1984): Cardiovascular adrenoceptor function during compensatory and decompensatory hemorrhagic shock. *Circ. Shock*, 12, 9-24
30. Bond, R.F. and Johnson, G. III (1985): Vascular adrenergic interactions during hemorrhagic shock. *Federation Proc.*, 44, 281-289
31. Bond, R., Zepp, A., Peissner, L. and Manning, E. (1979): Correlation between skeletal muscle free fatty acid extraction and vascular decompensation during hemorrhagic hypotension. *Lipids*, 14, 842-847
32. Bounous, G., Hampson, L.G. and Gurd, F.W. (1963): Regional blood flow and oxygen consumption in experimental hemorrhagic shock. *Arch. Surg.*, 84, 340-354
33. Brasch, H. (1986): Influence of the optical isomers (+)- and (-)-naloxone on beating frequency, contractile force and action potentials of guinea-pig isolated cardiac preparations. *Br. J. Pharmac.*, 88, 733-740
34. Brückner, L.B., Land, R.E. and Garten, D. (1984): Release of opioid peptides in canine hemorrhagic hypotension. Effects of naloxone. *Experientia*, 184, 171-178
35. Burgen, A.S.V. (1979): Drug receptors. *Br. Med. Bull.*, 35, 269-273
36. Burnie, J. (1982): Naloxone in shock. *Lancet*, I, 942-946
37. Caffrey, J.L. (1984): Enkephalin/catecholamine interactions in cardiac, skeletal and intestinal muscle. *J. Am. Osteopath. Assoc., Suppl.*, 84, 135-142
38. Caffrey, J.L., Gaugl, J.F. and Jones, C.E. (1985): Local endogenous opiate activity in dog myocardium. Receptor blockade with naloxone. *Am. J. Physiol.*, 248, H 382-H 388
39. Caffrey, J.L., Wooldrigde, C.B. and Gaugl, J.F. (1985): The interaction of endogenous opiates with autonomic circulatory control in the dog. *Circ. Shock*, 17, 233-242

40. Caffrey, J.L., Wooldridge, C.B. and Gaugl, J.F. (1986). Naloxone enhances myocardial responses to isoproterenol in dog isolated heartlung. *Am.J.Physiol.*, 250, H749-H754
41. Carlsson, E., Ablad, B., Brandstrom, A. and Carlsson, B. (1972): Differentiated blockade of the chronotropic effects of various adrenergic stimuli in the cat heart. *Life Sci.*, 11, 953-958
42. Cassel, D., Lefkowitz, H. and Selinger, Z. (1977): The regulatory GTP-ase cycle of turkey erythrocyte adenylate cyclase. *J. Cyclic Nucleotide Res.*, 3, 393-406
43. Chance, E., Paciorek, P.M., Todd, M.H. and Waterfall, J.F. (1985): Comparison of the cardiovascular effects of meptazinol and naloxone following haemorrhagic shock in rats and cats. *Br. J. Pharmacol.*, 86, 43-53
44. Chapnick, B.M., Feigen, L.P., Hyman, A.L. and Kadowitz, P.J. (1978): Differential effects of prostaglandins in the mesenteric vascular bed. *Am.J.Physiol.*, 235, H326-H332
45. Chien, S. (1967): Role of the sympathetic nervous system in hemorrhage. *Physiol. Rev.*, 47, 214-288
46. Chuang, D. and Costa, E. (1979): Evidence for internalization of the recognition site of beta-adrenergic receptors during receptor subsensitivity induced by (-) isoproterenol. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 3024-3028
47. Cloutier, C.T., Lowery, B.D. and Carey, C.L. (1969): Acid-base disturbances in hemorrhagic shock. *Arch.Surg.*, 98, 551-555
48. Cohen, M.R., Cohen, R.M., Pichar, D., Weingartner, H. and Murphy, D.L. (1983): High-dose naloxone infusions in normals: dose dependent behavioral hormonal and physiological responses. *Arch. Gen. Psychiatry*, 40, 613-619
49. Constantine, H.W., and Lebel, W. (1980): Complete blockade by phenoxybenzamine of  $\alpha_1$ - but not  $\alpha_2$ -vascular receptors in dogs and the effects of propranolol treatment. *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, 314, 149-156

50. Costa, E., Guidotti, A., Hanbauer, I. and Solomi, L. (1983): Modulation of nicotinic receptor function by opiate recognition sites highly selective for Met<sup>5</sup>-enkephalin (Arg<sup>6</sup>Phe<sup>7</sup>). *Federation Proc.*, 42, 2946-2952
51. Cox, B.M. (1982): Endogenous opioid peptides: A guide to structure and terminology. *Life Sci.*, 31, 1645-1658
52. Cuatrecasas, P. (1974): Membrane receptors. *Ann. Rev. Biochem.*, 43, 169-214
53. Curtis, M.T. and Lefer, A.M. (1980): Protective actions of naloxone in hemorrhagic shock. *Am. J. Physiol.*, 239, H416-H421
54. Curtis, M.T. and Lefer, A.M. (1982): Beneficial action of a new opiate antagonist (Win-44, 441-3) in hemorrhagic shock. *Eur. J. Pharmacol.*, 78, 307-313
55. Curtis, M.T. and Lefer, A.M. (1983a): Actions of opiate antagonists with selective receptor interactions in hemorrhagic shock. *Circ. Shock.*, 10, 131-145
56. Curtis, M.T. and Lefer, A.M. (1983b): Effectiveness of ethylketocyclasocine in hemorrhagic shock. *Adv. Shock. Res.*, 10, 101-109
57. Dalhöf, C. (1981): Studies on beta-adrenoceptor mediated facilitation of sympathetic neurotransmission. *Acta Physiol. Scand.*, Suppl. 4
58. Dalsgaard, C.J., Hökfelt, T., Elfvin, L.G. and Terenius, L. (1982): Enkephalin-containing sympathetic preganglionic neurons projecting to the inferior mesenteric ganglion: evidence from combined retrograde tracing and immunohistochemistry. *Neuroscience*, 7, 2039
59. DaLuz, P.I., Skubin, H. and Weil, M.H. (1973): Effectiveness of phentolamine for reversal of circulatory failure (shock). *Crit. Care Med.*, 1, 135-140
60. Deal, C.P. and Green, H.D. (1956): Comparison of changes in mesenteric resistance following splanchnic nerve with responses to epinephrine and norepinephrine. *Circulation Res.*, 4, 38-44

61. DiGuilio, A.M., Yong, H.Y., Fratta, W. and Costa, E. (1979): Decreased content of immunoreactive enkephalin-like paptides in peripheral tissues of spontaneously hypertensive rats. *Nature (London)*, 278, 646-647
62. DiGuilio, A.M., Yang, H.-Y.T., Lutold, B., Fratta, W., Hong, J. and Costa, E. (1978): Characterization of enkephalin-like matherial extracted from sympathetic ganglia. *Neuropharmacology*, 17, 989-992
63. Dirksen, R., Otten, M.H., Wood, G.J., Verboan, C.J., Haalebott, M.M.R., Verdouw, P.V. and Nejhuis, G.M.M. (1980): Naloxone in shock. *Lancet*, 2, 1360-1361
64. Doss, R.C., Perkins, J.P. and Harden, T.K. (1981): Recovery of beta adrenergic receptors following long-term exposure of astrocytoma cells to catecholamines: role of protein synthesis. *J. Biol. Chem.*, 256, 12281-12286
65. Duval, N., Langer, S.Z. and Shepperson, N.B. (1981): Dopamine stimulates post-synaptic alpha<sub>2</sub>-adrenoceptors in the mesenteric bed of the dog. *Br. J. Pharmacol.*, 75, 73P
66. Elde, R., Hökfelt, T., Johansson, O. and Terenius, L. (1976): Immunohistochemical studies using antibodies to leucine-enkephalin: initial observations on the nervous system of the rat. *Neuroscience*, 1, 349-351
67. Endo, T., Starke, K., Bangerter, A. and Taube, H.D. (1977): Presynaptic receptor system on the adrenergic neurones of the rabbit pulmonary artery. *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, 296, 229-247
68. Errington, M.L. and Rocha e Silva, M., Jr. (1972): Vasopressin clearance and secretion during haemorrhagic shock in normal dogs and in dogs with experimental diabetes insipidus. *J. Physiol.*, 227, 395-418
69. Faden, A.J. and Holaday, J.W. (1979). Opiate antagonists: A role in the treatment of hypovolemic shock. *Science*, 205, 317-318

70. Fagbemi, O., Lepran, I., Paratt, J.R. and Szekeresz, L. (1982): Naloxone inhibits early arrhythmias resulting from acute coronary ligation. *Br. J. Pharmacol.*, 76, 504-506
71. Fane, M.A. and Hedquist, P. (1975): Evidence for prostaglandin mediated prejunctional control of renal sympathetic transmitter release and vascular tone. *Br. J. Pharmacol.*, 54, 189-196
72. Farrel, L.D., Harrison, T.S. and Reners, L.M. (1983): Immunoreactive Met-enkephalin in the canine adrenal. Response to acute hypovolemic stress. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 173, 515-518
73. Feldberg, W. and Wei, E. (1978): Central cardiovascular effects of enkephalins and C-fragment of lipotropin. *J. Physiol.* 280, 18P
74. Fell, C. (1966). Changes in distribution of blood flow in irreversible hemorrhagic shock. *Am. J. Physiol.*, 210, 863-868
75. Feuerstein, G. (1985): The opioid system and central cardiovascular control: Analysis of controversis. *Peptides*, 6, 51-56
76. Feuerstein, G., Chuang, G.C. and Kopin, I.J. (1981): Effects of naloxone on the cardiovascular and sympathetic response to hypovolemic hypotension in the rat. *Eur. J. Pharmacol.*, 75, 65-69
77. Feuerstein, G., Dilan, R. and Bergman, F. (1980): Reversal by naloxone of hemorrhagic hypotension in anephric cats. *Eur. J. Pharmacol.*, 65, 93-96
78. Florez, J. and Mediavilla, A. (1977): Respiratory and cardiovascular effects of Met-enkephalin applied to the ventral surface of the brain stem. *Brain Res.*, 138, 585-590
79. Froggatt, J., Parkes, J. and Todd, M.H. (1984). A comparison of the cardiovascular effects of naloxone and ICI 154 129 following haemorrhagic shock in anaesthetized rats. *Br. J. Pharmacol.*, 78, 142P

80. Folkow, B., Lundgren, O. and Walentin, I. (1963): Studies on the relationship between flow resistance, capillary filtration coefficient and regional blood flow in the intestine of the cat. *Acta Physiol. Scand.*, 57, 270-283
81. Furchgott, R.F. (1954): Dibenamine blockade in strips of rabbit aorta and its use in differentiating receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 116, 237-244
82. Furchgott, R.F. (1960): Symposium discussion. In: *Adrenergic mechanisms*, Vane, J.R., Wolstenholme, G.E.W. and O'Connor, M. (eds.), Little Brown, New York, pp. 128-129
83. Gagnon, G., Regoli, D. and Rioux, F. (1980): Studies on the mechanism of action of various vasodilators. *Br. J. Pharmacol.*, 70, 219-227
84. Gautret, B. and Schmitt, H. (1984): Cardiac slowing induced by peripheral k-opiate receptor stimulation in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 102, 159-163
85. Gayton, R.J., Lambert, L.A. and Bradley, P.B. (1978): Failure of (+)-naloxone to antagonize responses to opioid peptides. *Neuropharmacol.*, 17, 549-551
86. Geffen, L.B. (1967): Non-adrenaline storage, release and in-activation in sympathetic nerves. *Circulation Res.*, 20/21 (Suppl. 3), 51-61
87. Gilbey, M.P., Coote, J.H., Macleod, V.H. and Peterson, D.F. (1981): Inhibition of sympathetic activity by stimulating in the raphe nuclei and the role of serotonin in this effect. *Brain Res.*, 226, 131
88. Gilman, A.G. (1984): Guanine-nucleotide-binding regulatory proteins and dual control of adenylate cyclase. *J. Clin. Invest.*, 73, 1-4
89. Grega, G.J., Maciejko, J.J., Raymond, R.M. and Sok, D.P. (1980): The interrelationship among histamine, various vasoactive substances and macromolecular permeability in the canine forelimb. *Circulation Res.*, 46, 264-270

90. Green, H.D. and Kepchar, J.H. (1959): Control of peripheral resistance in major systemic vascular bed. *Physiol. Rev.*, 39, 617-686
91. Green, J.T. (1977): Mechanism of action of isoproterenol on venous return. *Am. J. Physiol.*, 232, H152-H156
92. Gritz, E.R., Shiffman, S.M., Jarvik, M.E., Schlesinger, J. and Charavustra, V.C. (1976): Naltrexone: Physiological and psychological effect of single dose. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 19, 773-776
93. Goodman, R.R., Snyder, S.H., Kuhar, M.J. and Young, W.S. (1980): Differentiation of delta and mu opiate receptors localization by light microscopic autoradiography. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 6239-6243
94. Gosselin, R.E. (1968): Drug-receptor inactivation: A new model. *Pharmacologist*, 10, 215
95. Gourzis, T.J. and Nickerson, N. (1967): Intraorgan blood flow, distribution in shock. In: *Shock and hypotension*, Grune and Stratton, New York and London, pp. 289-294
96. Grohmann, M. and Trendelenburg, U. (1984). The substrate specificity of uptake<sub>2</sub> in the rat heart. *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, 329, 264-270
97. Guillemin, R., Varga, T., Rossier, J., Minick, S., Ling, N., Rivier, C., Vale, W. and Bloom, F. (1977). Beta-endorphin and adrenocorticotropin are secreted concomitantly by the pituitary gland. *Science*, 197, 1367-1369
98. Guimaraes, S. (1975): Further study of the adrenoceptors of the saphenous vein of the dog. Influence of factors which interfere with the concentrations of agonists at the receptor level. *Eur. J. Pharmacol.*, 34, 9-19
99. Guimaraes, S. and Oswald, W. (1969): Adrenergic receptors in the veins of the dog. *Eur. J. Pharmacol.*, 5, 133-140
100. Gurll, N.J., Reynolds, D.G., Vargish, T. and Ganes, E. (1982): Body temperature and acid-base balance determine cardiovascular response to naloxone in primate hemorrhagic shock. *Federation Proc.*, 41, 1135

101. Gustafsson, D., Hillman, J. and Lundvall, J. (1982): Influences on central hemodynamics in hemorrhage of beta<sub>2</sub>-adrenergic vascular control mechanisms. *Acta Physiol. Scand.*, 116, 181-188
102. Haddad, G.G., Jeng, H.J. and Lai, T.L. (1986): Effects of endorphins on heart rate and blood pressure in adult dogs. *Am. J. Physiol.*, 250, H796-H805
103. Haddad, G.G., Schaeffer, J. and Chang, K.J. (1984): Opposite effects of delta and mu-opioid receptor agonists on ventilation in conscious adult dogs. *Brain Res.*, 325, 73-82
104. Hahn, E.F. (1984): Opiate antagonists and agonists. *Drugs Of The Future*, 9, 444-459
105. Halmagyi, D.F.J., Irving, M.H. and Varga, D. (1968): Effects of adrenergic blockade on the metabolic response to hemorrhagic shock. *J. Appl. Physiol.*, 25, 384-389
106. Hamamdžić, M., Srkalović, G., Duzić, E. and Krnić, J. (1986): Phenylephrine and isoproterenol influences on mesenteric blood flow during prolonged haemorrhagic hypotension. *Acta Physiol. Hung.* (in press)
107. Hamilton, A.J., Carr, D.B., LaRovere, J.M. and Black, P. (1986): Endotoxic shock elicits greater endorphin secretion than hemorrhage. *Circ. Shock*, 19, 47-54
108. Hamilton, C., Dalrymple, H. and Reid, J. (1982): Recovery in vivo and in vitro of alpha-adrenoceptor responses and radio-ligand binding after phenoxybenzamine. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 4, S125-S128
109. Harden, K. (1983): Agonist-induced desensitization of the beta-adrenergic receptors-linked adenylate cyclase. *Pharmacol. Rev.*, 35, 5-32
110. Hassen, A.H., Feuerstein, G. and Faden, A.I. (1984). Kappa-opioid receptors modulate cardiorespiratory function in hindbrain nuclei of rat. *J. Neurosci.*, 4, 2213-2221

111. Hay, E.B. and Webb, J.K. (1951): The effect of increased arterial blood flow to the liver on the mortality rate following hemorrhagic shock. *Surgery*, 29, 826-828
112. Hillman, J., Gustafsson, D. and Lundvall, J. (1982): Beta<sub>2</sub>-adrenergic control of plasma volume in hemorrhage. *Acta Physiol. Scand.*, 116, 175-180
113. Hirsch, L.J. and Glick, G. (1973): Mesenteric circulation in cardiogenic shock with and without alpha-adrenoceptor blockade. *Am. J. Physiol.*, 225, 356-359
114. Holaday, J.W. (1983): Cardiovascular effects of endogenous opiate systems. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 23, 541-594
115. Holaday, J.W., Black, L.E. and Lang, J.D. (1985): Neuropeptides in shock and trauma. In: *Endocrine aspects of acute illness*. Geelhoed, G.W. and Cernow, B. (eds.), Churchill Livingstone, New York
116. Holaday, J.W., D'Amato, R.J., Ruvio, B.A., Feuerstein, G. and Faden, A. (1983a): Adrenalectomy blocks pressor responses to naloxone in endotoxic shock: Evidence for sympathomedullary involvement. *Circ. Shock*, 11, 201-210
117. Holaday, J.W. and Faden, A.I. (1978): Naloxone reversal of endotoxin hypotension suggests role of endorphins in shock. *Nature*, 275, 450-451
118. Holaday, J.W., Law, P.-Y., Loh, H.H. and Li, C.H. (1979). Adrenal steroids indirectly modulate morphine and beta-endorphine effects. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 208, 176-184
119. Holaday, J.W., O'Hara, M. and Faden, A. (1981): Hypophysectomy alters cardiorespiratory variables: central effects of pituitary endorphins in shock. *Am. J. Physiol.*, 241, H479-H485
120. Holaday, J.W., Pasternak, G.W., D'Amato, R.J., Ruvio, B.A. and Faden, A.I. (1983b): Naloxazone lacks therapeutic effects in endotoxic shock yet blocks the effects of naloxone. *Eur. J. Pharmacol.*, 89, 293-296

121. Hollenberg, N.K. and Nickerson, M. (1970): Changes in pre- and post- capillary resistance in pathogenesis of hemorrhagic shock. *Am. J. Physiol.*, 219, 1483-1489
122. Hökfelt, T., Elde, R., Johansson, O., Terenius, L. and Stein, L. (1977): The distribution of enkephalin-immunoreactive cell bodies in the rat central nervous system. *Neurosci. Lett.*, 5, 25-31
123. Hothorn, L.F., Caffrey, J.L., Kutsky, P. and Parker, J.L. (1985): In vitro effects of opiate peptides in guinea-pig myocardium. *Circ. Shock*, 16, 73
124. Hughes, J. (1981): Peripheral opiate receptor mechanisms. *Trends Pharmacol. Sci.*, January, 21-23
125. Hughes, J. (1983): Biogenesis, release and inactivation of enkephalins and dynorphins. *Br. Med. Bull.*, 39, 17-24
126. Hughes, J., Kosterlitz, H.W., Smith, T.W. (1977). The distribution of methionine-enkephalin and leucine-enkephalin in the brain and peripheral tissues. *Br. J. Pharmacol.*, 61, 639-648
127. Hughes, J. and Vane, J.R. (1970): Relaxation of the isolated portal vein of the rabbit induced by nicotine and electrical stimulation. *Br. J. Pharmacol. Chemother.*, 39, 476-489
128. Hughes, J., Smith, T.W., Kosterlitz, N.W., Fothergill, L.G., Morgan, B.A. and Morris, H.R. (1975). Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature*, (London), 258, 577-579
129. Hunt, L.B., Gurl, N.J. and Reynolds, D.G. (1984): Dose-dependent effects of nalbuphine in canine haemorrhagic shock. *Circ. Shock*, 13, 307-318
130. Hurle, M.A., Mediavilla, A. and Florez, J. (1982): Morphine, pentobarbital and naloxone in the ventral medullary chemosensitive areas. Differential respiratory and cardiovascular effects. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 220, 642-647

131. Illes, P. and Bettermann, R. (1986): Classification of pre-synaptic opioid receptors in the rabbit ear artery by competitive antagonists *Eur. J. Pharmacol.*, 122, 153-156
132. Irving, M.H. (1969): Sympathoadrenal hyperactivity - the key to irreversible shock? *Postgrad. Med. J.*, 45, 523-527
133. Isoyama, T., Tanaka, J., Sato, T. and Shatney, C.H. (1982): Effects of naloxone and morphine in hemorrhagic shock. *Circ. Shock*, 9, 375-382
134. Iversen, L.L. (1967): The uptake and storage of noradrenaline in sympathetic nerves. In: *Sympathetic nerves*, Cambridge Univ. Press, pp. 253
135. Jakobs, K.H., Alztorries, K. and Schultz, F. (1979): GTP-dependent inhibition of cardiac adenylate-cyclase by muscarinic cholinergic agonists. *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, 310, 113-119
136. Jasinski, D.R., Martin, W.R. and Haertren, C.A. (1967): The human pharmacology and abuse potential of N-allylnoroxymorphone (naloxone) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 157, 420-426
137. Johnson, H. and Majewski, H. (1986). Prejunctional beta-adrenoceptors in rabbit pulmonary artery and mouse atria: effect of alpha-adrenoceptor blockade and phosphodiesterase inhibition. *Br. J. Pharmacol.*, 87, 553-562
138. Johnson, P.C. (1964): Review of previous studies and current theories of autoregulation. *Am. Heart Assoc. Monogr.*, 8, 1-9
139. Keatinge, W.R. (1968): Sodium flux and electrical activity of arterial smooth muscle. *J. Physiol.*, 194, 183-200
140. Kenakin, T.P. (1984): The classification of drugs and drug receptors in isolated tissues. *Pharmacol. Rev.*, 36, 165-222
141. Klein, R.L., Day, R. and Lemoire, S. (1983): Leu-enkephalin, dynorphin and bombesin contents of purified noradrenergic vesicles. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 9, 575

142. Kock, N. (1959): An experimental analysis of mechanisms engaged in reflex inhibition of intestinal motility. *Acta Physiol. Scand., Suppl.*, 164
143. Kosterlitz, H.W. and Watt, A.J. (1968). Kinetic parameters of narcotic agonists and antagonists, with particular reference to N-allylnoroxymorphone (naloxone). *Br. J. Pharmacol.*, 33, 266
144. Kotada, T., Bokach, G.M., Northup, J.K. and Gilman, A.G. (1983): Guanine nucleotide and/or hormone induced inhibition of adenylate cyclase (abstr.). *Federation Proc.*, 42, 1850
145. Kovach, A.G.B. and Sandor, P. (1976). Cerebral blood flow and brain function during hypotension and shock. *Ann. Rev. Physiol.*, 39, 571-596
146. Koyama, S., Santiesteban, M.L., Ammons, W.S. and Manning, J.W. (1983): The effects of naloxone on the peripheral sympathetics in cat endotoxine shock. *Circ. Shock*, 10, 7-13
147. Koyama, S., Terada, N., Shioyima, Y. and Takeuchi, T. (1984a): No evidence of direct cardiac action of leucine-enkephalin in canine heart lung preparation. *Jpn. J. Physiol.*, 34, 351-355
148. Koyama, S., Terada, N., Shiojima, Y. and Takeuchi, T. (1984b): Pharmacological evidence that central alpha<sub>2</sub>-adrenoceptors are involved in cardiovascular responses to intravenously injected enkephalins in anesthetized dogs. *Jpn. J. Physiol.*, 34, 995-1002
149. Krnić, J. (1983): Prilog ispitivanju mehanizma protektivnog djelovanja fenoksibenzamina na evoluciju hemoragičnog šoka pasa. Disertacija, Sarajevo
150. Kügelgen, I., Illes, P., Wolf, D. and Starke, K. (1985). Pre-synaptic inhibitory opioid delta- and kappa-receptors in a branch of the rabbit ileocolic artery. *Eur. J. Pharmacol.*, 118, 97-105

151. Lands, A.M., Arnold, A., McAuliff, J.P., Cudueno, F.P. and Brown, T.G. (1967): Differentiation of receptor systems by sympathomimetic amines. *Nature (London)*, 214, 597-598
152. Land. R.E., Hermann, K., Dietz, R., Goida, W., Ganten, D., Kraft, K. and Unger, Th. (1983): Evidence for the presence of enkephalins in the heart. *Life Sci.*, 32, 399-406
153. Langer, S.Z. (1970): The metabolism of <sup>3</sup>H-noradrenaline released by electrical stimulation from the isolated nictitating membrane of the cat and from the vas deferens of the rat. *J. Physiol., London*, 208, 515-546
154. Langer, S.Z. (1977): Presynaptic receptors and their role in the regulation of transmitter release. *Br. J. Pharmacol.*, 60, 481-497
155. Langer, S.Z. (1981): Presynaptic regulation of the release of catecholamines. *Pharmacol. Rev.*, 32, 337-362
156. Langer, S.Z. and Shepperson, N.B. (1982): Recent developments in vascular smooth muscle pharmacology, the postsynaptic alpha<sub>2</sub>-adrenoceptor. *Trends Pharmacol. Sci.*, 3, 440-444
157. Larabee, M.G., Horowitz, P., Stekiel, W.J. and Dolivo, M. (1957): Metabolism in relation to function in mammalian sympathetic ganglia. In: *Metabolism of the nervous system*, Richeter (ed.), Pergamon Press, London, pp. 208-220
158. Laubie, M., Schmitt, H., Vincent, M. and Renaud, G. (1977): Central cardiovascular effects of morphinomimetic peptides in dogs. *Eur. J. Pharmacol.*, 46, 67-71
159. Lechner, R.B., Gurll, N.J. and Reynolds, D.G. (1985a): Effects of naloxone on regional blood flow distribution in canine hemorrhagic shock. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 178, 227-233
160. Lechner, R.B., Gurll, N.J. and Reynolds, D.G. (1985b): Intra-coronary naloxone in hemorrhagic shock: dose-dependent stereospecificity. *Am. J. Physiol.*, 249, H272-H277

161. Lechner, R.B., Gurll, N.J. and Reynolds, D.G. (1985c): Naloxone potentiates the cardiovascular effects of catecholamines in canine hemorrhagic shock. *Circ. Shock*, 16, 347-361
162. Lechner, R.B., Gurll, N.J., Reynolds, D.G. and Brody, M.J. (1983): Adrenergic mediation of the naloxone response in shock. *Circ. Shock*, 10, 235
163. Lee, C.-H. and Berkowitz, B.A. (1976): Stereoselective and calcium dependent contactile effects of narcotic antagonists analgesics in the vascular smooth muscle of the rat. *J. Pharmacol. Ecp. Ther.*, 198, 347-356
164. Lefer, A.M. (1970): Role of myocardial depressant factor in the pathogenesis of circulatory shock. *Federation Proc.*, 29, 1836-1847
165. Lefer, A.M. (1985): Eicosonoids as mediators of ischemia and shock. *Federation Proc.*, 44, 275-280
166. Lefkowitz, R.J., Sharp, G.W.G. and Haber, E. (1973): Specific binding of beta-adrenergic catesholamines to a subcellular fraction from cardiac muscle. *J. Biol. Chem.*, 248, 342-349
167. Lefkowitz, R.J., Stadel, J.M. and Caron, M.G. (1983): Adenylatecyclase coupled beta-adrenergic receptors: structure and mechanisms of activation and desensitization. *Ann. Rev. Biochem.*, 52, 159-186
168. Lemoire, I., Tseng, R. and Lemoire, S. (1978). Systemic administration of beta-endorphin: potent hypotensive effect involving a serotonergic pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75, 6240-6242
169. Lewis, R.V., Stern, A.S., Rossier, J., Stein, S. and Udenfriend, S. (1979), Putative enkephalin precursors in bovine adrenal medulla. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 89, 822-829
170. Lenz, K., Drumh, W., Gassner, A., Hruby, K., Kleinberger, G. and Laggner, A. (1981): Naloxone in shock. *Lancet*, 1, 834

171. Lillehei, R.C. (1957): The intestinal factor in irreversible hemorrhagic shock. *Surgery*, 42, 1043-1054
172. Lillehei, R.C., Longerbeam, J.K., Bloch, J.H. and Morax, W.G. (1964): The nature of irreversible shock. Experimental and clinical observations. *Ann. Surg.*, 160, 682-710
173. Lintermans, J.P., Appel, A.J., Bloom, P.S., Mullins, G.L. and Guntheroth, W.G. (1967). Mesenteric blood flow and vascular volume in hemorrhagic shock. *Am. J. Physiol.*, 212, 482-487
174. Liu, Z.-M., Abel, F.L. and Rodriguez, L.F. (1984): The effects of phentolamine and isoproterenol in experimental hemorrhagic shock in the dog. *Circ. Shock*, 14, 1-11
175. Lombard, J.H., Loegering, D.J. and Stekiel, W.J. (1977). Effects of prolonged hemorrhagic hypotensive stress on catecholamine concentration of mesenteric blood vessels. *Blood Vessels*, 14, 212-228
176. Londos, C., Cooper, D.M.F., Schlegel, W. and Rodbell, M. (1978): Adenosine analogs inhibits adipocyte adenylyl cyclase by a GTP dependent process: basis for actions of adenosine and methylxantines on cyclic AMP production and lipolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75, 5362-5366
177. Mackay, D. (1966): A flux-carrier hypothesis of drug action. *Nature (London)*, 197, 1171-1173
178. Martin, W.R. (1976): Naloxone. *Ann. Int. Med.*, 85, 765-768
179. Martin, W.R., Eades, C.G., Thompson, J.A., Huppler, R.E. and Gilbert, P.E. (1976): The effects of morphine- and Nalorphine-like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 197, 517-532
180. Majewski, H., McCulloch, M.W., Rand, M.J. and Story, D.F. (1980): Adrenaline activation of prejunctional beta-adrenoceptors in guinea-pig atria. *Br. J. Pharmacol.*, 71, 435-444
181. Majewski, H. and Rand, M.J. (1981): An interaction between prejunctional alpha-adrenoceptors and prejunctional beta-adrenoceptors. *Eur. J. Pharmacol.*, 69, 493-498

182. Marshall, Janice and Hebert, M.T. (1985): Direct observations of responses of mesenteric circulation of the rat to circulating noradrenaline. *Am. J. Physiol.*, 368, 393-409
183. McNay, J.L. and Goldberg, L.I. (1966): Comparison of the effects of dopamine, isoproterenol, norepinephrine and bradykinin on canine renal and femoral blood flow. *J. Pharmacol. Ecp. Ther.*, 151, 23-31
184. McPherson, G.A., Molenaar, P. and Malta, E. (1985): The affinity and efficacy of naturally occurring catecholamines at beta-adrenoceptor subtypes. *J. Pharm. Pharmacol.*, 37, 499-501
185. Mellander, S. and Lewis, D.H. (1963): Effect of hemorrhagic shock on the reactivity of resistance and capacitance vessels and on capillary filtration transfer in cat skeletal muscle. *Circulation Res.*, 13, 105-118
186. Mladinić, I. (1976): Acidobazni status u eksperimentalnom hemoragičnom šoku u eutermiji, hipotermiji i adrenergičkoj blokadi. *Disertacija*, Sarajevo.
187. Mladinić, I., Magazinović, V., Hamamdžić, M., Mladinić, Nada i Krnić, J. (1977): Uticaj propranolola na modifikaciju nekih hemodinsmskih i metaboličkih pokazatelja i na odlaganje ireverzibiliteta u hemoragičnom šoku. *Veterinaria (Sarajevo)*, 26, 456-476
188. Moore, R.H. and Dowling, D.A. (1980): Effects of intravenously administered leu- or met-enkephalin on arterial blood pressure. *Reg. Peptides*, 1, 77-87
189. Moore, R.H. and Dowling, D.A. (1982): Effects of enkephalins on perfusion pressure in isolated hindlimb preparations. *Life Sci.*, 31, 1559-1566
190. Mukherjee, C., Caron, M.G. and Lefkowitz, R.J. (1976): Regulation of adenylate cyclase coupled beta-adrenergic receptors by beta-adrenergic catecholamines. *Endocrinology*, 99, 347-357

191. Muraszko, K.M., Chen, R.Y.Z., Carlin, R.D., Antunes, J.L. and Chien, S. (1983): Effects of naloxone on regional blood flow in hypovolemia. *Federation Proc.*, 42, 981
192. Nakamura, M., Jackson, E.K. and Inogami, T. (1986): Beta-adrenoceptor-mediated release of angiotensin II from mesenteric arteries. *Am. J. Physiol.*, 250, H144-H149
193. Nickerson, M. and Collier, B. (1975): Drugs inhibiting adrenergic nerves and structures innervated by them. In: *The Pharmacological basis of Therapeutics*, Goodman, S. Z. and Gilman, A. (eds.), London, Toronto, pp. 533-564
194. Oparil, Suzanne and Haber, E. (1974): The renin-angiotensin system. *N. Engl. J. Med.*, 291, 389-401
195. Paratt, J.R. (1983): Neurohumoral agents and their release in shock. In: *Handbook of shock and trauma. Vol. 1: Basic science*, Altura, B.M. et al. (eds.)? Raven Press, New York, pp. 311-336
196. Pasternak, G.W. (1982): High and low affinity opioid binding sites: Relationship to mu- and delta-sites. *Life Sci.*, 31, 1303-1306
197. Paton, Mary-Lou, Gurl, N.J., Reynolds, D.G. and Vargish, T. (1983): Adrenalectomy abolishes and cortisol restores naloxone's beneficial effects on cardiovascular function and survival in canine hemorrhagic shock. *Circ. Shock*, 10, 317-327
198. Paton, W.D.M. (1961): A theory of drug action based on the rate of drug-receptor combination. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 154, 21-69
199. Pawlik, W., Walus, K.M. and Fondancaro, J.D. (1980): Effects of Met-Enkephalin on untestinal circulation and oxygen consumption. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 165, 26-31
200. Pegram, B.L., Bevan, B.D., Bevan, J.A. (1976). Facial vein of the rabbit: Neurogenic vasodilatation mediated by beta-adrenergic receptors. *Circulation Res.*, 39, 854-860

210. Ross, G. (1967): Effects of epinephrine and norepinephrine on the mesenteric circulation of the cat. *Am. J. Physiol.*, 212, 1037-1042
211. Rossier, J., French, E.D., Rivier, C., Ling, N., Guillemin, R. and Bloom, F.E. (1977): Foot shock induces stress increases beta-endorphin levels in blood, but not in brain. *Nature*, 270, 618-620
212. Rubanyi, G., Galvas, P., DiSalvo, J. and Paul, R. (1986): Eicosonoid metabolism and beta-adrenergic mechanism in coronary arterial smooth muscle: potential compartmentation of cAMP. *Am. J. Physiol.*, 250, C406-C412
213. Ruffolo, R.R. (1985): Distribution and function of peripheral alpha-adrenoceptors in the cardiovascular system. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 22, 827-833
214. Rutlen, D.L., Supple, E.N. and Powel, J.W., Jr. (1981). Beta-adrenergic regulation of total systemic intravascular volume in the dog. *Circulation Res.*, 48, 112-120
215. Sapru, H.N., Willette, R.N. and Krieger, A.J. (1981): Stimulation of pulmonary J-receptors by an enkephalin-analog. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 217, 228-234
216. Sasaki, T., Kassel, F.N., Turner, D.M. and Coester, H.C. (1984a): Comparison of the effect of naloxone on cerebral versus mesenteric arterial smooth muscle in feline and primate species. *Stroke*, 15, 1026-1028
217. Sasaki, T., Kassel, N.F., Turner, D.M., Maisner, W. and Torner, J.C. (1984b): The effects of naloxone on canine cerebral vascular smooth muscle. *J. Cereb. Blood Flow*
218. Sasaki, T., Kassel, N.F., Turner, D.M., Torner, J.C. and Coester, H.C. (1984c): The effects of naloxone on canine splanchnic arterial smooth muscle. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 177, 422-427
219. Saxon, M.E., Ironitsky, G.R., Beloyartsev, F.F., Safronova, V.G., Kokor, Y.M. and Freydin, A.A. (1982): Myocardial opiate receptors. *Gen. Physiol. Biophys.*, 1, 447-452

220. Schadt, J.C. and Gaddis, R.R. (1985): Endogenous opiate peptides may limit norepinephrine release during hemorrhage. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 232, 656-660
221. Schadt, J.C. and York, D.H. (1981): The reversal of hemorrhagic hypotension by naloxone in conscious rabbits. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 59, 1209-1213
222. Schaz, K., Stock, G., Simon, W., Schlöz, K.H., Unger, T., Rockhold, R. and Gaten, D. (1980): Enkephalin effects on blood pressure, heart rate and baroreceptor reflex. *Hypertension*, 2, 395-407
223. Schlulz, R., Wüster, M. and Herz, A. (1981): Pharmacological characterization of the epsilon-opiate receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 216, 604-606
224. Schultzberger, M., Kundberg, J.M., Hökfelt, T., Terenius, L., Brandt, J., Elde, R.P. and Godstein, M. (1978): Immunoreactivity in gland cells and nerve terminals of adrenal medulla. *Neuroscience*, 3, 1169-1186
225. Severne, Yvonne, Kanarek, L. and Vauquelin, G. (1986): Agonist-mediated conformational changes of beta-adrenoceptors could occur independent of functional coupling to  $N_s$ . *Nauyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, 332, 247-252
226. Sharma, S.K., Nirenberg, M. and Klee, W.A. (1975): Morphine receptors as regulators of adenylate-cyclase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72, 590-594
227. Shehadeh, Z., Price, W.E. and Jacobson, E.D. (1969): Effects of vasoactive agents on intestinal blood flow and motility in the dog. *Am. J. Physiol.*, 216, 386-392
228. Simantov, R., Baron, D., Levy, R. and Nadler, H. (1982): Enkephalin and alpha-adrenergic receptors. Evidence for both common and differentiable regulatory pathways and down regulation of the enkephalin receptor. *Life Sci.*, 31, 1323-1326

229. Simon, W., Schaz, K., Ganten, U., Stock, G., Schlöz, K.H. and Ganten, D. (1978): Effects of enkephalins on arterial blood pressure are reduced by propranolol. *Clin. Sci. Mol. Med.*, 55, 237-241
230. Skorecki, K.L., Verkman, A.S., Yung, C.Y. and Ausiella, D.A. (1986): Evidence for vasopressin activation of adenylate cyclase by subunit dissociation. *Am. J. Physiol.*, 250, C115-C123
231. Smith, T.W., Hughes, J., Kosterlitz, H.W. and Sosa, R.P. (1976): Enkephalins: Isolation, distribution and function. In: *Opiates and endogenous opioid peptides*, Kosterlitz, H. (ed.), Elsevier, Amsterdam, pp. 57-62
232. Srkalović, G. (1984): Ispitivanje promjena protoka kroz art. mezenteriku sup. poslije i.a. aplikacije alfa i beta stimulatora u hemoragičnoj hipotenziji pasa. Magistarski rad, Sarajevo
233. Srkalović, G., Hamamdžić, M., Duzić, E. and Krnić, J. (1985a): Influences of epinephrine and norepinephrine on mesenteric blood flow during the posthemorrhagic hypotension. *Iugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta*, 21, Suppl. 3, 361-363
234. Srkalović, G., Hamamdžić, M., Duzić, E. and Krnić, J. (1985b): Mesenteric blood flow and mesenteric vascular resistance during prolonged haemorrhagic hypotension in dogs. *Iugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta*, 21, 307-313
235. Srkalović, G., Hamamdžić, M., Duzić, E. and Krnić, J. (1985c): The effects of prolonged chloralose anesthesia on some haemodynamic and biochemical parameters in dogs. *Iugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta*, 21, Suppl. 4, 317-318
236. Stadel, J.M., Strulovici, B., Naubi, P., Lavin, T.N., Briggs, M.M., Caron, M.G. and Lefkowitz, R.J. (1983): Desensitization of the beta-adrenergic receptor of frog erythrocytes: recovery and characterisation of the down regulated receptors. *J. Biol. Chem.*, 256, 8718-8723

237. Starke, K. (1977): Regulation of noradrenaline release by presynaptic receptor systems. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 77, 1-124
238. Stjärne, L. and Brundin, J. (1975): Dual adrenoceptor-mediated control of noradrenaline secretion from human vasoconstrictor nerves: facilitation by beta-receptors and inhibition by alpha-receptors. *Acta Physiol. Scand.*, 94, 139-141
239. Stekiel, W.J. and Willems, W.J. (1970): Vessel diameters and vascular smooth muscle membrane potentials in normal and hypotensive rats. *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, 29, 787
240. Stekiel, W.J., Willems, W.J., Harder, D.R. and Lombard, J.H. (1980): Active vascular smooth muscle tone and venous membrane potentials during hemorrhage. *Am. J. Physiol.*, 238, H144-H152
241. Stiles, G.L., Caron, M.G. and Lefkowitz, R.J. (1984): Beta-adrenergic receptors: Biochemical mechanisms of physiological regulations. *Physiol. Rev.*, 64, 661-743
242. Su, Y.-F., Harden, T.K. and Perkins, J.P. (1980): Catecholamine-specific desensitisation of adenylate cyclase: evidence for a multistep process. *J. Biol. Chem.*, 255, 7410-7419
243. Taylor, D.B., Steinborn, J. and Tzu-Chian, Lu (1970): Ion exchange processes of the neuromuscular junction of voluntary muscle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 175, 213-227
244. Tiengo, M. (1980): Naloxone in irreversible shock. *Lancet*, 2, 690
245. Trendelenburg, U. (1986): The metabolizing systems involved in the activation of catecholamines. *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, 332, 201-206
246. Tuggle, D.W. and Horton, Jureta (1986): Cardiocirculatory effects of physiological doses of beta-endorphins. *Circ. Shock*, 18, 215-225

247. Uhlig, W., Friebeg, R. and Trendelenburg, U. (1976). The effects of corticosterone on the fluxes of  $^3\text{H}$ -normetanephrine into and out of the extraneuronal compartments of the perfused rat heart. *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, 295, 45-50
248. Unković-Čomara, Snježana, Hamamdžić, M., Dužić, E. and Krnić, J. (1985): Catecholamine-induced shock. Protective action of dihydroergotoxine. IX Congress of the Yugoslav Pharmacological Soc., Book of abstracts 154, Beograd
249. Unković-Čomara, Snježana, Krnić, J., Hamamdžić, M., Dužić, E. and Djordjević, N. (1986): Influence of dihydroergotoxine on the acid-base balance of the blood of dogs in hemorrhagic shock. IV Kongres Saveza Biohemijskih Društava Jugoslavije, Knjiga apstrakta P-11/3, Sarajevo
250. Vale, W., Spiess, J., Rivier, C. and Rivier, J. (1981): Characterisation of a 41-residue amine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin. *Science*, 213, 1394-1397
251. Vanhoutte, P. and Leusen, I. (eds.) (1978). Mechanism of vasodilatation, Karger, Basel
252. Vargish, T., Reynolds, D.G., Gurll, N.J., Lechner, R.B., Holaday, J.W. and Faden, A.I. (1980): Naloxone reversal of hypovolemic shock in dog. *Circ. Shock*, 7, 31-38
253. Viveros, O.H., Diliberto, E.J., Harum, E. and Chang, K.-J. (1979): Opiate-like materials in the adrenal medulla: evidence for storage and secretion with catecholamines. *Mol. Pharmacol.*, 16. 1101-1108
254. Viveros, O.H., Gorlic, D.G. and Renkin, E.M. (1968): Sympathetic beta-adrenergic vasodilatation in skeletal muscle of the dog. *Am. J. Physiol.*, 215, 1218-1225
255. Waldo, G.L., Northup, J.K., Perkins, J.P. and Harden, T.K. (1983): Characterisation of an altered membrane form of the beta-adrenergic receptor produced during agonist-induced desensitisation. *J. Biol. Chem.*, 258, 13900-13908

256. Walton, R.P., Richardson, J.A., Walton, R.P., Jr. and Thompson, W.L. (1959): Sympathetic influences during hemorrhagic hypotension. *Am. J. Physiol.*, 197, 223-230
257. Watson, S.J. and Akil, H. (1981): Anatomy of beta-endorphin containing structures in pituitary and brain. In: *Hormonal proteins and peptides*, Li, C.H. (ed.), Acad. Press, New York, pp. 171-201
258. Watson, S.J. and Bodos, J.D. (1979): Anatomy of the endogenous opioid peptides and related substances: the enkephalins, beta-endorphin, beta-lipotropin and ACTH. In: *Mechanisms of pain and analgesic compounds*, Beer, R.F. and Bassett, E.G. (eds.), Raven Press, New York, pp.227-238
259. West, R.E. and Miller, R.J. (1983): Opiates, second messengers, and cell response. *Br. Med. Bull.*, 39, 53-58
260. Webb-Peploe, M.M. and Shepherd, J.T. (1969): Beta receptor mechanism in the superficial limb veins of the dog. *J. Clin. Invest.*, 148, 1328-1335
261. Wei, E., Tseng, L.-F., Loh, H.H. and Li, C.H. (1977): Comparison of the behavioral effects of beta-endorphin and enkephalin analogs. *Life Sci.*, 21, 321-329
262. Wei, E.T., Lee, A. and Chang, J.K. (1980): Cardiovascular effects of peptides related to the enkephalins and beta-casomorphin. *Life Sci.*, 26, 1517-1522
263. Weinstock, M., Thos, N.B. and Kopin, I.J. (1978): Beta-adrenoseptors modulate noradrenaline release from axonal sptouts in cultured rat superior cervical ganglia. *Eur. J. Pharmacol.*, 47, 297-302
264. Westfall, T.C. (1977): Local regulation of adrenergic neurotransmission. *Physiol. Rev.*, 57, 659-729
265. Wiener, N. (1980): Drugs that inhibit adrenergic nerves and block adrenergic receptors. In: *The Pharmacological basis of therapeutics*, Goodman, L.S. and Gilman, A. (eds.), sixth edt., New York, Toronto, London, pp. 176-188

266. Wiggers, C. (1950): The heart in shock. In: Physiology of shock, Commonwealth Press., New York, pp. 287-315
267. Wiggers, C. and Ingraham, R.C. (1946): Hemorrhagic shock. Definition and criteria for its diagnosis. J. Clin. Invest., 15, 10-16
268. Wilkening, D., Mishra, R.K. and Makman, H.M. (1976): Effects of morphine on dopamine stimulated adenylate-cyclase and on cyclic GMP formation in primate brain amygdaloid nucleus. Life Sci., 19, 1129-1138
269. Wu, N. and Martin, W.R. (1983): Effects of naloxone and fentanyl in the acutely decerebrated dog. Life Sci., citirano prema: Mc Nicholas, L.F. and Martin, W.R. (1984). New and experimental therapeutic roles for naloxone and related opioid peptides. Drugs, 27, 81-95
270. Yamaguchi, I. and Kopin, I.J. (1980): Differential inhibition of  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ - adrenoceptor-mediated pressor responses in pithed rats. J. Pharmacol. Exp. Ther., 214, 275-281
271. Yong, H.Y., DiGuilio, A.M., Fratta, W., Hong, J.S., Mayame, E.A. and Costa, E. (1980a): Enkephalin in bovine adrenal gland. Multiple molecular forms of met-enkephalin immunoreactive peptides. Neuropharmacology, 19, 209-215
272. Yong, H.-Y.T., Hexum, T. and Costa, E. (1980b): Opioid peptides in adrenal gland. Life Sci., 27, 1119-1125
273. Young, W.S., Wamsley, J.K., Zorbin, M.A. and Kuhar, M.J. (1980): Opiate receptors undergo axonal flow. Science, 210, 76-77
274. Zweifach, B.W. and Fronek, A. (1975): Interplay of central and peripheral factors in irreversible hemorrhagic shock. Prog. Cardiovasc. Dis., 18, 147-180

## S A Ž E T A K

I adrenergički i opioidni sistem učestvuju u kardiovaskularnoj kontroli. Ova dva sistema su mnogostruko povezana i posjeduju visoki nivo paralelizma u gradnji i funkciji. Tako, na primjer, balans autonomnog nervnog sistema umnogome određuje odgovor organizma na uticaj opioidnih peptida. S druge strane, sami opioidni peptidi mogu antagonizirati i simpatički i parasimpatički sistem, što rezultira odgovorom ovisnim o predominaciji jednog ili drugog segmenta autonomnog nervnog sistema. Veze između opioidnog i adrenergičkog nervnog sistema su posebno važne za nastanak cirkulacionog sloma u toku hemoragične hipotenzije. Zadatak ovog rada je da donekle rasvijetli mehanizme koji stoje iza periferne vaskularne dekompenzacije poslije iskrvarenja. Posebno je stavljen naglasak na doprinos adrenergičkog i opioidnog sistema ovim pojavama.

U eksperiment je uključeno 68 pasa podijeljenih u 10 grupa. Protok kroz art. mezenteriku sup. je određivan upotrebom elektromagnetskog floumetra. Reaktivnost mezenteričkog vaskularnog stabla je ocjenjivana na osnovu promjena protoka poslije intraarterijalne aplikacije izoproterenola i adrenalina. Efekti ovih supstanci su ispitivani u kontrolnim i u uslovima kontinuirane i.v. infuzije fenoksibenzamina, naloksona i DADLE.

Naši rezultati ukazuju da antagonist opioidnih receptora nalokson stimuliše efekte izoproterenola, a naročito adrenalina na mezenterički protok u normovolemiji, ali ne i u hipovolemiji. Izgleda da stimulacija adrenalinskih efekata potiče od inhibicije "uklanjanja" adrenalina od strane tkiva art. mezenterike sup. Naši rezultati nisu potvrda učešću enkefalina u genezi hipotenzije poslije iskrvarenja. Najvjerovatnije je da enkefalini nisu supstance koje doprinose nastanku hipotenzije. Na osnovu naših rezultata može se zaključiti da u mezenteričkom vaskularnom stablu ne postoje aktivni postsinaptički alfa<sub>2</sub>-adrenoceptori, tako da su alfa<sub>1</sub>-adrenoceptori odgovorni za aktivnu mezenteričku vazokonstrikciju koja se dešava u toku hipotenzije.

Na kraju možemo reći da nalokson u velikoj mjeri svoje efekte dužuje potenciranju efekata kateholamina. Veze između adrenergičkog i opioidnog sistema su vrlo važne za perifernu kardiovaskularnu regulaciju. Nismo mogli ustanoviti direktne veze između opioidnog sistema i vaskularnog sloma u toku hemoragične hipotenzije ..

## S U M M A R Y

Both, adrenergic and opioid systems are involved in cardiovascular control. There is a number of interrelationships between those two systems. They display a high degree of physiological and anatomical parallelism. For instance, autonomic balance is important in determining the quality of responses to opioide peptides. On the other hand, the opioides may antagonize both sympathetic and parasympathetic systems with the effect observed depending upon which of the systems is currently dominant. These interrelationships between opioid and adrenergic systems are extremely important for the development of cardiovascular deterioration during hemorrhagic shock. The following study is conducted in an effort to clarify the failing vascular control mechanisms that might be responsible for the peripheral vascular decompensation following hemorrhage. The specific objectives include the physiological evaluation of importance of peripheral adrenergic and opioid systems and their connections for the onset of decompensatory hypotension and, ultimately, the terminal shock.

Experiments were done in a group of 68 dogs divided into 10 groups. Mesenteric blood flow was determined by using electromagnetic flowmeter. Reactivity of mesenteric vascular tree was tested by application of isoproterenol and adrenaline by means of intraarterial (art. mesenterica sup.) injections. The effects of these substances during control, conditions were compared to the effects during i.v. infusion of phenoxybenzamine, naloxone and DADLE.

Our results indicate that opioid antagonist naloxone enhances the effects of isoproterenol and adrenaline, especially, on mesenteric vascular tree in normovolemia, but not in hypovolemia. It seems that potentiation of adrenaline effects is due to inhibition of adrenaline uptake. Present study do not support a role for enkephalins in a hemorrhagic shock. Enkephalins are probably not responsible for the hypotension after hemorrhage. It is apparent from our results that in mesenteric vascular tree do not exist active postsynaptic  $\alpha_2$ -adrenoceptors, and that  $\alpha_1$ -adrenoceptors are responsible for active mesenteric vasoconstriction during hypotension.

On the end, we can say that naloxone exerts its effects mainly by potentiating the effects of catecholamines. Connections between adrenergic and opioid systems are very important for the regulation of the peripheral circulation. We did not find a direct connection between activity of opioid system and the onset of the vascular failure during hemorrhagic hypotension.

RADOVI IZ DOKTORATA:

1. Hamamdžić M., Srkalović G., Džić E., Knić J. Phenylephrine and isoproterenol influences on mesenteric blood flow in experimental posthemorrhagic hypotension. *Acta Physiol Hung* 1987;70(1):37-40
2. Srkalović G., Hamamdžić M., Knić J., Džić E., Mujić M., Milovanović S.R. Autoregulation in mesenteric vascular tree: influence of hemorrhage, naloxone and phenoxybenzamine. *Period Biol* 1988;90(2):280-284

# EFFECT OF PHENYLEPHRINE AND ISOPROTERENOL ON MESENTERIC BLOOD FLOW IN EXPERIMENTAL POSTHAEMORRHAGIC HYPOTENSION

M. HAMAMDŽIĆ, G. SRKALOVIĆ, E. DUZIĆ, J. KRNIČ

DEPARTMENT OF PHYSIOLOGY, VETERINARY FACULTY, SARAJEVO,  
DEPARTMENT OF PHYSIOLOGY, FACULTY OF MEDICINE, TUZLA, YUGOSLAVIA

Received July 23, 1985

Accepted January 13, 1986

In previous reports it was found that in mesenteric blood vessels exist profound alpha-adrenergic, and less profound beta-adrenergic receptors. Our experiments were done on 20 mongrel dogs, both sexes, weighing 6.5–22.5 kg, age from 1–2 years, which were divided into 2 groups: experimental (14 dogs) and control (6 dogs). Experimental group of animals passed through the posthemorrhagic hypotension (180 min. at 5.3 kPa). Aim of investigation was to clarify mesenteric vascular reactivity changes during posthemorrhagic hypotension. In order to reach this goal, phenylephrine and isoproterenol were injected alternatively in one hour intervals through cannulated superior mesenteric artery first proximal branch. Our results indicate that mesenteric blood flow responses to those drugs changed quantitatively, but never ceased. It is apparent from our experiments that those quantitative changes are due to beta<sub>2</sub> adrenoceptors changes during the posthemorrhagic hypotension.

**Keywords:** posthemorrhagic hypotension, mesenteric vascular reactivity, phenylephrine, isoproterenol, beta<sub>2</sub>-adrenoceptors

The mesenteric vascular bed is considered to be a major contributor to circulatory homeostasis. In mesenteric blood vessels alpha-adrenergic receptors are abundant, while beta receptors are less numerous [3]. It also seems that beta receptors are of great importance in the control of transcapillary fluid shift to blood during hypovolaemia [4]. It was therefore of interest to investigate mesenteric vascular reactivity during posthaemorrhagic hypotension. Previous reports [1] have shown for instance that reactivity of the blood vessels to epinephrine may completely disappear in the irreversible stage of posthaemorrhagic shock.

## Materials and methods

Experiments were done on 20 mongrel dogs of both sexes aged 1–2 years weighing 6.5–22.5 kg. They were divided into 2 groups experimental (14 dogs) and control (6 dogs).

The dogs were anaesthetized with 1% chloralose (0.1 g/kg i.v.). Blood pressure was measured via a blood pressure transducer (Statham P23D). Noncannulating electromagnetic

Correspondence should be addressed to  
M. HAMAMDŽIĆ  
Department of Physiology, Veterinary Faculty  
Sarajevo, Yugoslavia

blood flow probe (Nycotron Blood Flow Meter 376) was placed around the superior mesenteric artery for mesenteric blood flow measurements. Parameters were displayed on a recording multi-channel polygraph Grass 7D. The experimental group was subjected to posthaemorrhagic hypotension for 180 minutes (at 5.3 kPa) and then retransfused. Control dogs were not treated and remained normotensive during the experiment. Drugs (phenylephrine and isoproterenol 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) were given alternatively in 1 hour intervals during the whole experiment through a cannula placed into the first proximal branch of the superior mesenteric artery [2].

All values are presented as means  $\pm$  S.E.

## Results and discussion

From the experiments it was apparent that the reactivity of mesenteric blood vessels to alpha and beta agonists never completely disappeared during posthaemorrhagic hypotension. Reactivity changes were only quantitative. During normotension phenylephrine decreased and isoproterenol increased mesenteric blood flow in all experiments in both groups of animals. In the experimental group, phenylephrine generally decreased mesenteric blood flow during both hypotension and postretransfusion (Table I). The same happened

Table I

Response of superior mesenteric artery flow to L-phenylephrine (1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

Experimental time	Application time (min)	Blood flow change, per cent				Blood flow before application (ml/min/kg) $\pm$ SE	
		decrease	increase	biphasic	no change		
CP	-30	38.3 $\pm$ 6.2 (9)	—	—	—	12.55 $\pm$ 2.7 [9]	
	30	20.8 $\pm$ 2.9 (8)	—	—	0 (1)	3.2 $\pm$ 1.3 [9]	
HP	90	15.9 $\pm$ 2.5 (6)	—	+6.7 $\pm$ 1.4	—	2.8 $\pm$ 1.1 [9]	
				-8.6 $\pm$ 2.1 (3)			
	150	19.7 $\pm$ 4.3 (5)	20.51 (1)	+10 (1)	-30 (1)	0 (1)	2.46 $\pm$ 0.9 [8]
				—	+33.6 $\pm$ 6.4 -42.3 $\pm$ 12.2 (2)	—	—
RP	270	3.4 $\pm$ 5.6 (5)	—	+24 (1)	-24 (1)	0 (1)	3.4 $\pm$ 5.6 [7]

Experimental group

Blood flow changes are expressed as mean percent of increase (+) or decrease (-) of values measured before L-phenylephrine application  $\pm$  SE. Parentheses indicate number of cases in which the change had occurred, brackets indicate number of animals.

CP — control period; HP — hypotensive period; RP — period after retransfusion

without exception in the control group. On the other hand, the effect of isoproterenol during hypotension and retransfusion differed from that in normotension (Table II). During hypotensive and retransfusion periods, isoproterenol either increased or decreased mesenteric blood flow or had a biphasic effect. In the control group there were no changes in the effect of isoproterenol during the experiment.

Table II

Response of superior mesenteric artery flow to isoproterenol (1 µg/kg)

Experimental time	Application time (min)	Blood flow change, per cent				Blood flow before application (ml/min/kg) ± SE
		decrease	increase	biphasic	no change	
CP	-30	—	61.38 ± 11.29 (14)	—	—	10.54 ± 5.79 [14]
	30	9.38 ± 3.32 (4)	32.04 ± 9.98 (6)	-23.07 (1)	+7.69 (1)	0 [12]
HP	90	8.39 ± 0.8 (3)	39.01 ± 8.50 (3)	+11.36 ± 3.35 -11.46 ± 1.6 (3)	0 (2)	2.85 ± 1.07 [11]
	150	9.77 ± 4.51 (2)	17.85 ± 6.39 (5)	+18.53 ± 6.47 -10.92 ± 5.74 (2)	0 (1)	2.41 ± 0.85 [10]
RP	210	48.78 ± 26.7 (3)	32.19 ± 7.54 (6)	—	—	3.83 ± 1.26 [9]
	270	8.33 (1)	21.47 ± 6.23 (5)	—	0 (1)	2.90 ± 1.01 [7]

Experimental group

Blood flow changes are expressed as mean percent of increase (+) or decrease (-) of values measured before isoproterenol application ±SE. Parentheses indicate number of cases in which the change had occurred brackets indicate number of animals.

CP — control period; HP — hypotensive period; RP — period after retransfusion.

Mesenteric blood flow changes are believed to be the result of alpha (decrease) or beta (increase) adrenergic receptor stimulation. Our results indicated that beta-adrenergic receptors during posthaemorrhagic hypotension underwent changes while the reactivity of alpha-adrenergic receptors remained at the control level. This fact may be of importance when considering the role of beta receptors in the control of transcapillary fluid shifts to the blood.

The experiments did not point to any direct connection between mesenteric vascular reactivity and the onset of the "irreversible" stage of haemorrhagic shock.

## REFERENCES

1. Adamicza, A., Tarnoky, K., Nagy, S.: The effect of haemorrhagic shock on blood pressure and heart rate responses to adrenaline in the conscious dog. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* **57**, 233–247 (1981).
2. Chapnick, B. M.: Divergent influences of leukotrienes  $C_4$ ,  $D_4$  and  $E_4$  on mesenteric and renal blood flow. *Am. J. Physiol.* **246**, H518–H524 (1984).
3. Duval, N., Langer, S. Z., Shepperson, N. B.: Dopamine stimulates postsynaptic  $\alpha_2$ -adrenoceptors in the mesenteric bed of the dog. *Br. J. Pharmacol.* **75**, 73P (1981).
4. Hillman, J., Gustaffson, D., Lundvall, J.:  $\beta_2$ -adrenergic control of plasma volume in haemorrhage. *Acta Physiol. Scand.* **116**, 175–180 (1982).



Conference paper

## Autoregulation in the mesenteric vascular tree: influence of hemorrhage, naloxone and phenoxybenzamine

GORDAN SRKALOVIĆ<sup>1</sup>, MUHIDIN HAMAMDŽIĆ<sup>2</sup>, JOSIP KRNIĆ<sup>2</sup>, EMIR DUZIĆ<sup>2</sup>, MUZAFER MUJIĆ<sup>3</sup>  
and SLOBODAN MILOVANOVIC<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Department of Physiology, Medical Faculty, University of Tuzla  
P.O.Box 527, 75000 Tuzla, Yugoslavia*

<sup>2</sup>*Department of Physiology, Veterinary Faculty, University of Sarajevo, 71000 Sarajevo, Yugoslavia*

<sup>3</sup>*Department of Physiology, Medical Faculty, University of Sarajevo, 71000 Sarajevo, Yugoslavia*

<sup>4</sup>*Military Technical Institute, 11000 Belgrade, Yugoslavia*

Received March 3, 1988

The mesenteric vascular tree is considered to be the most crucial vascular circuit in maintaining cardiovascular homeostasis during different pathophysiological conditions. Autoregulation in the mesenteric vascular tree is an intense phenomenon and seems to be very important for the intestinal blood flow regulation (1). The term autoregulation denotes an intrinsic tendency of an organ to maintain constant blood flow despite changes in arterial perfusion pressure (5). It is thus a common empirical observation that autoregulation can be severely depressed under experimental conditions involving trauma, for instance such related to surgery, hemorrhage or even slight stress (3, 6). Therefore the aim of this study was to find out whether sympatho-adrenal and opioid systems, which are strongly involved in the pathophysiology of trauma, are related to the depression of mesenteric autoregulation.

Experiments were carried out on 67 dogs divided into 10 groups. The dogs were anesthetized with chloralose (1% sol., 0.1 g/kg i.v.). Mesenteric blood flow was measured by

Nycotron electromagnetic flow probe placed on the superior mesenteric artery near its origin. The flow probe was connected to a Nycotron 376 electromagnetic flowmeter. For measuring blood pressure, a Statham P23D pressure transducer was connected to a Grass model 7 polygraph. Hypovolemia was induced by withdrawing blood from the femoral artery until the mean blood pressure stabilized at 40 mm Hg. according to the standard Wigers-Lamson-De Turk procedure. This blood pressure was maintained for 180 min and then the remaining blood was retransfused. The whole experimental procedure lasted 5 hours. Phenoxybenzamine was given as a 30 min i.v. infusion (1 mg/kg in 30 ml. of saline) starting 60 min before bleeding. Naloxone was given i.v. 2 mg/kg as a bolus followed by infusion (2 mg/kg/hour) for 150 min, starting 30 min after bleeding stopped. Autoregulation has been viewed as an inversed proportional function of a correlation coefficient calculated by analysis of linear regression between mean blood pressure (MBP) and mesenteric blood flow (MBF).

Presented at the 18th Yugoslav Symposium on Biophysics, Kopaonik, Yugoslavia, September, 1987

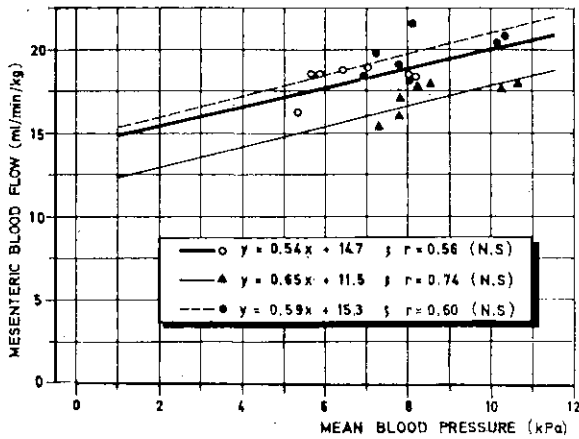


FIGURE 1. Correlation of blood pressure and mesenteric blood flow in normovolemic animals. The effects of saline infusion (30 min) (○), saline infusion (150 min) (△) and naloxone treatment (●).

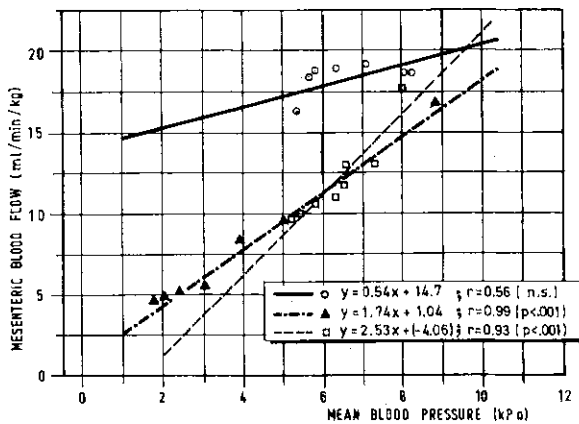


FIGURE 2. Correlation of blood pressure and mesenteric blood flow. The effects of saline infusion (30 min) (○), hemorrhage plus saline infusion (30 min) (△) and PBZ treatment (□).

Low and nonsignificant correlation coefficient between MBP and MBF in normovolemic groups indicate that in resting conditions mesenteric autoregulation is very strong (Figure 1). Treatment with naloxone did not influence mesenteric autoregulation. However, phenoxybenzamine (PBZ) by blocking alpha receptors completely changed autoregulatory properties of the mesenteric vascular tree (Figure 2). From a very large and highly significant ( $r = .93$ ) correlation coefficient it is obvious that after PBZ treatment mesenteric autoregulation disappeared. The same happened in both hypovolemic groups after hemorrhage (Figure 3). Naloxone also did not influence mesenteric autoregulation in hypovolemia (Figure 3).

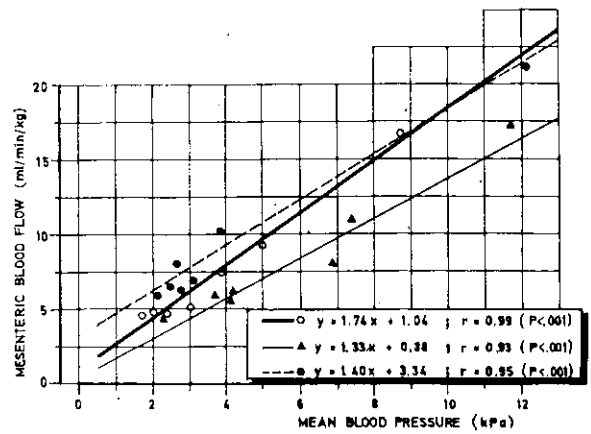


FIGURE 3. Correlation of blood pressure and mesenteric blood flow in hypovolemic animals. The effects of saline infusion (30 min) (○), saline infusion (150 min) (△) and naloxone treatment (●).

Some previous investigations (4) strongly suggested that the sympatho-adrenal control system via its beta-adrenergic link in an important respect can modulate autoregulation in some vascular trees (i.e. the muscle vascular tree). Our results, especially with PBZ strongly suggest that in the mesenteric vascular tree autoregulation can be influenced by the sympatho-adrenal system by its alpha adrenergic link. Disappearance of autoregulation during hypovolemia can be also linked to alpha-adrenergic activity. There are several papers which strongly suggest (1, 2, 7) a diminished number and activity of vascular alpha adrenoceptors during different types of shock. Perhaps, this fact is crucial for disappearance of mesenteric autoregulation during hypovolemia. In conclusion it seems that the opioid system is not involved in mesenteric autoregulation control.

## REFERENCES

1. BOND R F, BOND C H, JOHNSON G 1986 Intrinsic versus extrinsic regional vascular control during hemorrhagic hypotension and shock. *Circulatory Shock* 18: 115-129
2. CHERNOW B 1987 The influence of catecholamine subtypes on survival in sepsis and shock like states. The 6th International Catecholamine Symposium, Jerusalem, Book of abstracts, p. 55
3. GRANDE P-O, LUNDEVALL J, MELLANDER S 1977 Evidence for a rate-sensitive regulatory mechanism in myogenic microvas-

- cular control. *Acta Physiol Scand* 99: 432-447
4. GRANDE P-O, MELLANDER S 1979 Beta-adrenergic inhibitory interference with myogenic vascular reactivity during experimental intervention. *Acta Physiol Scand* 106: 87-89
  5. JOHNSON P C 1964 Origin, localization, and homeostatic significance of autoregulation in the intestine. *Circulation Res Suppl* 14 and 15: 1-225 - 1-233
  6. LUNDVALL J, MELLANDER S, SPARKS H 1967 Myogenic response of resistance vessels and precapillary sphincters in skeletal muscle during exercise. *Acta Physiol Scand* 70: 257-268
  7. SRKALOVIĆ G, HAMAMDŽIĆ M, DUZIC E, KRNIĆ J 1985 Influences of epinephrine and norepinephrine on mesenteric blood flow during the posthemorrhagic hypotension. *Jugoslav Physiol Pharmacol Acta* 21: Suppl 3: 361-363