Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

# RADOVI LXVII, knj. 21.

**Huković, Seid**

**1982**

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

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

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/

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

# RADOVI

KNJIGA LXVII

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 21.

# ZBORNIK RADOVA

## U SPOMEN AKADEMIKA

## JOSIPA JEŽIĆA

ANU BiH АНУ БиХ

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

Tehnički urednik
ENES EKIĆ

SARAJEVO
1982.

SILVA PETRONIJEVIĆ i S. HUKOVIĆ*

# ODREĐIVANJE PROSTAGLANDINA U TKIVU UPALJENE GINGIVE

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 27. V 1980, na osnovu recenzije prof. dra Dž. Rezakovića i prof. dra A. Nikulina.)

## UVOD

Prostaglandini u normalnoj i inflamatornoj gingivi bili su predmet istraživanja više autora (Goodson, 1974; Flatter, 1976; Harris, 1973; Eakins, 1973; Bennet, 1971; Wong, 1977). Iskustva sakupljena posljednjih godina ukazuju na učešće prostaglandina u patogenezi inflamatornog procesa parodontalnog oboljenja. Nađene su vrijednosti prostaglandina u normalnoj gingivi i one iznose između 23—50 ng/g tkiva (Goodson, 1974). Isto tako je utvrđeno da su prostaglandini u povećanoj koncentraciji u inflamiranom tkivu gingive, kao i u periodontalnom eksudatu. Goodson i saradnici (1974) utvrdili su vrijednost prostaglandina od 230 ng/g tkiva kod gingivitis necroticans, dok je u eksudatu iz periodontalnog apscesa ustanovljena vrijednost od 400 ng/g tkiva. Iz prakse je poznato da acetisal ordiniran u terapiji gingivitisa ima pozitivan učinak na inflamatornu komponentu gingivalnog tkiva. Zna se, također, da je inhibicija sinteze prostaglandina mehanizam putem koga ispoljavaju svoju antiinflamatorno djelovanje neki analgetici (acetisal). Prostaglandini ubrizgani supkutano izazivaju hiperalgeziju. Njihovo djelovanje potencira efekte histamina i bradikinina. Metabolizam prostaglandina je brz, a na sintezu prostaglandina djeluju brojni faktori (hemijski, fizički, hormonalni) te je zato određivanje koncentracije prostaglandina u tkivu prilično težak posao.

## IZOLIRANI INERVIRANI ORGANI

Izolirani inervirani organi daju dvije mogućnosti:

1. da se analizira djelovanje na neuromišićnu transmisiju i tonus, gdje se promjene neuromišićne transmisije manifestuju u promjeni visine kon-

* Institut za farmakologiju i toksikologiju Medicinskog fakulteta u Sarajevu

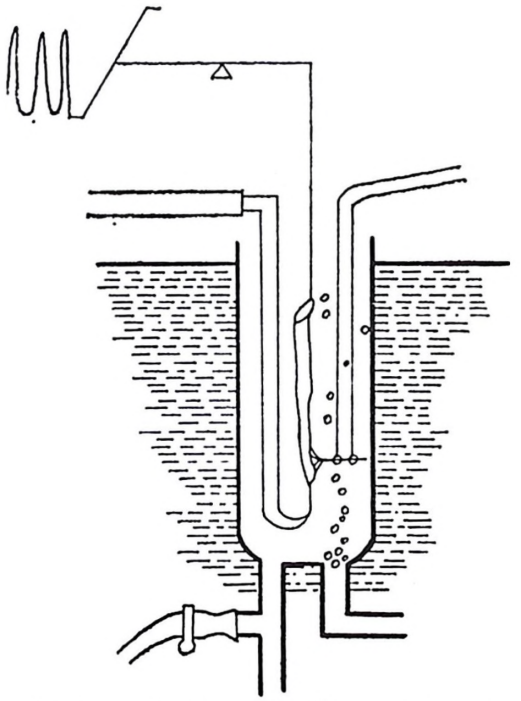
trakcije, dok promjene tonusa mogu biti nezavisne od neuromišićnih transmisija;

2. da se upotrijebi za esej prostaglandina, pri čemu davanje prostaglandina može modifikovati jednu ili drugu komponentu motiliteta pa se tako mogu iskoristiti za esej.

*Cilj ovog rada je bio da se unaprijedi bioesej i da se ustanovi količina prostaglandina u raznim zapaljenskim procesima u gingivi.*

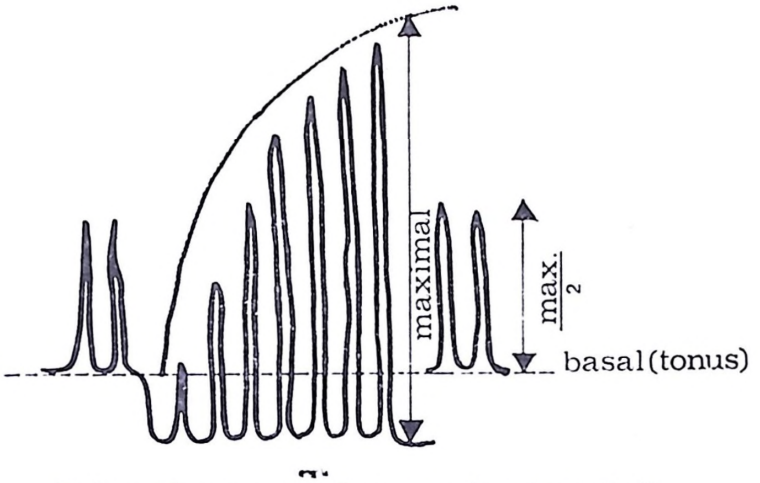
## METODE ISTRAŽIVANJA

1. Korišteni su izolirani organi sa pripadajućim nervima iz probavnog i urinarnog trakta, kao i iris govečeta. Želudac je izoliran sa rami gastrici anteriores nervi vagi, mokraćni mjehur sa holinergičnim pelvičnim nervom, dok je iris izoliran sa cilijarnim nervom.



Sl. 1. — Posuda za izolirane organe

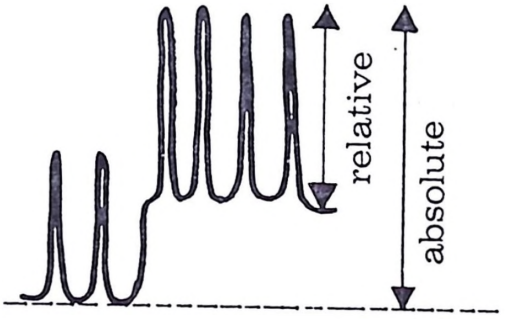
Izolirani inervirani organi adaptiraju se u Thyrodovoj otopini u posudici za izolirane organe (sl. 1), u kojoj je temperatura 32° ± 0,5°C, a aerizacija je obezbijeđena sa karbogenom (95% $0_2$ i 5% $CO_2$). Isprepарirani i zavezani nerv se provlači kroz platinske prstenove staklene elektrode (B u r n and R a n d, 1959). Stimulacija organa se vrši pojedinačnim kvadratičnim impulsima, koji se ritmički ponavljaju. Mijenjanje parametara impulsa obezbjeđuje aparat za stimulaciju Hugo Sash electronic. Kontrakcije se registruju pomoću izometričnog transducera sa mikrodinamometrom i bilježe na po-




Sl. 2. — Shema za procjenu promjene kontrakcija

kretnoj papirnoj traci pisača Ugo Basile. Nakon kontrolnih kontrakcija, koje su u pravilu polovina maksimalne (sl. 2), u posudu za izolirane organe aplikuju se ispitivane supstancije. Prate se nastupajuće stimulacije nerava, to jest efekti uvjetovani prisustvom aplikovane supstancije. Potom slijedi izapiranje, tj. zamjena Thyrodovog rastvora u posudici za izolirane organe. Stimulacija organa sa pripadajućim nervima izvodi se pojedinačnim kvadratičnim impulsima određenih karakteristika, a ponavljanje električnih impulsa se vrši u tačno određenim vremenskim intervalima, zavisno od organa koji se nalazi u posudici za izolirane organe.

U eksperimentima se mjeri visina koncentracije i promjena tonusa (sl. 3). Razlikujemo apsulutno i relativno povećanje, odnosno smanjenje,




Sl. 3. — Shema za procjenu promjene kontrakcija

kontrakcije. Apsolutno povećanje, odnosno smanjenje, mjeri se od bazne linije, a relativno povećanje ili smanjenje od nove bazne linije. Kontrakcije se numerički procjenjuju u odnosu na visinu kontrolnih.

2. Esej je rađen sa prostaglandinima koji su dobijeni od firme The Uphon Co, U.S.A., i to $PGA_1$, $PGB_1$, $PGF_1\alpha$, $PGF_2\alpha$, $PGE_1$, $PGE_2$. Upotrijeblje-

ne supstancije injicirane su u koncentraciji 0,5, 1, 1,5, 2 ng/ml. Efekat supstancije se procjenjuje tako što se posmatraju promjena tonusa, tj. bazalne linije, i promjene izazvanih kantrakcija.

Upotrijebljeni izolirani inervirani organi u eseju su želudac miša, mokraćni mjehur miša i iris govečeta. Da bi se izolirani organi ravnomjerno kontrahovali, njihovi nervi se stimuliraju konstantnim stimulansima u konstantnim intervalima. Stimulacija izoliranog inerviranog želuca ima sljedeće karakteristike: 2 mA, 1 mS, 10 Hz, a impuls je svake dvije minute u trajanju od dvije sekunde. Stimulacija izoliranog inerviranog mokraćnog mjehura ima sljedeće karakteristike: 5 mA, 1 mS, 20 Hz, a impuls je svake minute u trajanju od jedne sekunde. Stimulacija izoliranog inerviranog irisa ima parametre: 2 mA, 1 mS, 10 Hz, i minut u trajanju od jedne sekunde.

3. U eksperimentalnom radu korištena je inflamirana gingiva štakora i inflamirana humana gingiva. Upotrijebljeni su bijeli muški štakori težine od 250 do 300 mg. Model upale gingive kod štakora ostvaren je mehaničkom iritacijom gingive žicom debljine 1,5 mm koja je u obliku prstenova potisnuta 2—3 mm ispod gingive. Iritacija je trajala 5 dana, nakon čega su štakori žrtvovani a uzroci tkiva obrađivani.

Humano inflamirano tkivo diferencirano je na stepene upale po C o w e l u (1975), a uzimamo je pri operativnom zahvatu gingivektomije i operacije režanj.

4. U cilju ekstrakcije i identifikacije prostaglandina iz gingive korištene su sljedeće metode:

a) Uzimanje isječka tkiva i priprema ekstrakta po A m b a c h o v o j (1963), metodi. Uzeti uzroci potapaju se u dejonizovanu vodu (pH 8), homogeniziraju se i centrifugiraju 5 minuta na 3.000 obrta/min. Supernatantu se dodaje ista količina etera, nakon čega se eterska faza odbacuje. Slijedi zakiseljavanje 0,1 N rastvorom HCl. Zatim se dodaje eter i izdvojena eterska faza se isparava do suhog ostatka.

b) Tankoslojna hromatografija po H o r t o n o v o j i T h o m p s o n o v o j (1966) metodi. Iz suhog ostatka, pomoću tankoslojne hromatografije na staklenim pločama 20×20 cm koje su prevučene silicalgelom (Merck) debljine 250 μm, identifikuju se prostaglandini E i F grupe. Suhi ostatak se rastvara u rastvoru metanol i kloroform 1:1 i dodaje u koncentraciji 0,2 ml na ploču. Rastvori standardne otopine prostaglandina se nanose na istu ploču na određenim udaljenostima u koncentraciji 0,1 mg u 0,2 ml. Suhe ploče se potapaju u kupatilo sa razvijačem (dietil eter 50 ml, petroleum eter 40 ml, ledena sirćetna 5 ml i metanol 5 ml). Ploče ostaju u rastvaraču dok razvijač ne dosegne visinu 10 cm od donje ivice ploče. Da bi se utvrdile mrlje izdvojenih supstancija, osušena ploča se stavlja u kupatilo sa jodnim parama. Prostaglandini E grupe se odvajaju na visini od 3 cm, a F grupe na visini od 7 cm od mjesta njihovog nanošenja. Mrlje na pločama se skidaju sa silikagelom i dva puta centrifugiraju sa 0,4 ml metanola. Metanol se otpari do suhog ostatka. Suhi ekstrakti se rastvaraju u 4 ml destilovane vode i služe za biološko testiranje.

## REZULTATI

*Uticaj električne stimulacije nerava*

Izolirani inervirani organi se kontrahuju kada su njihovi nervi stimulirani konstantnim stimulusima u jednakim vremenskim intervalima. Kontrakcije želuca su ravnomjerne i efekat stimulacije u dvije susjedne kontrakcije opada manje od 1%. Ovo omogućava da se uoče promjene visine izazvanih kontrakcija ili tonusa pod uticajem prostaglandina.

Bioesej sa prostaglandinima je rađen sa koncentracijom prostaglandina $10^{-9}$ ng/ml, i to 0,5; 1; 1,5; i 2 ng/ml kupatila. Želudac miša pokazuje povećanu osjetljivost na ove koncentracije. Dolazi do povećanja visine kontrakcije, kao i tonusa. Želudac je izrazito osjetljiv na $PGE_1$, $PGE_2$ i $PGF_{2\alpha}$. Ove grupe prostaglandina u pomenutim koncentracijama dovode do porasta visine kontrakcije, dok $PGA_1$, $PGB_1$ izazivaju smanjenje visine kontrakcije želuca. Dalje smo našli da $PGE_1$, $PGE_2$ i $PGF_{2\alpha}$ u malim dozama (0,5 ng/ml i 1 ng/ml) potenciraju efekat stimulacije izoliranog inerviranog želuca miša (sl. 4).

Ekstrakcija prostaglandina iz inflamirane humane i animalne gingive ukazuje na veću koncentraciju prostaglandina u ovim strukturama u poređenju sa zdravim tkivom (tabela 1).

Inflamirano tkivo je diferencirano po utvrđenom indeksu inflamacije (Cowell, Saxton, 1975). U našim ispitivanjima određen je indeks inflamacije prvog stepena.

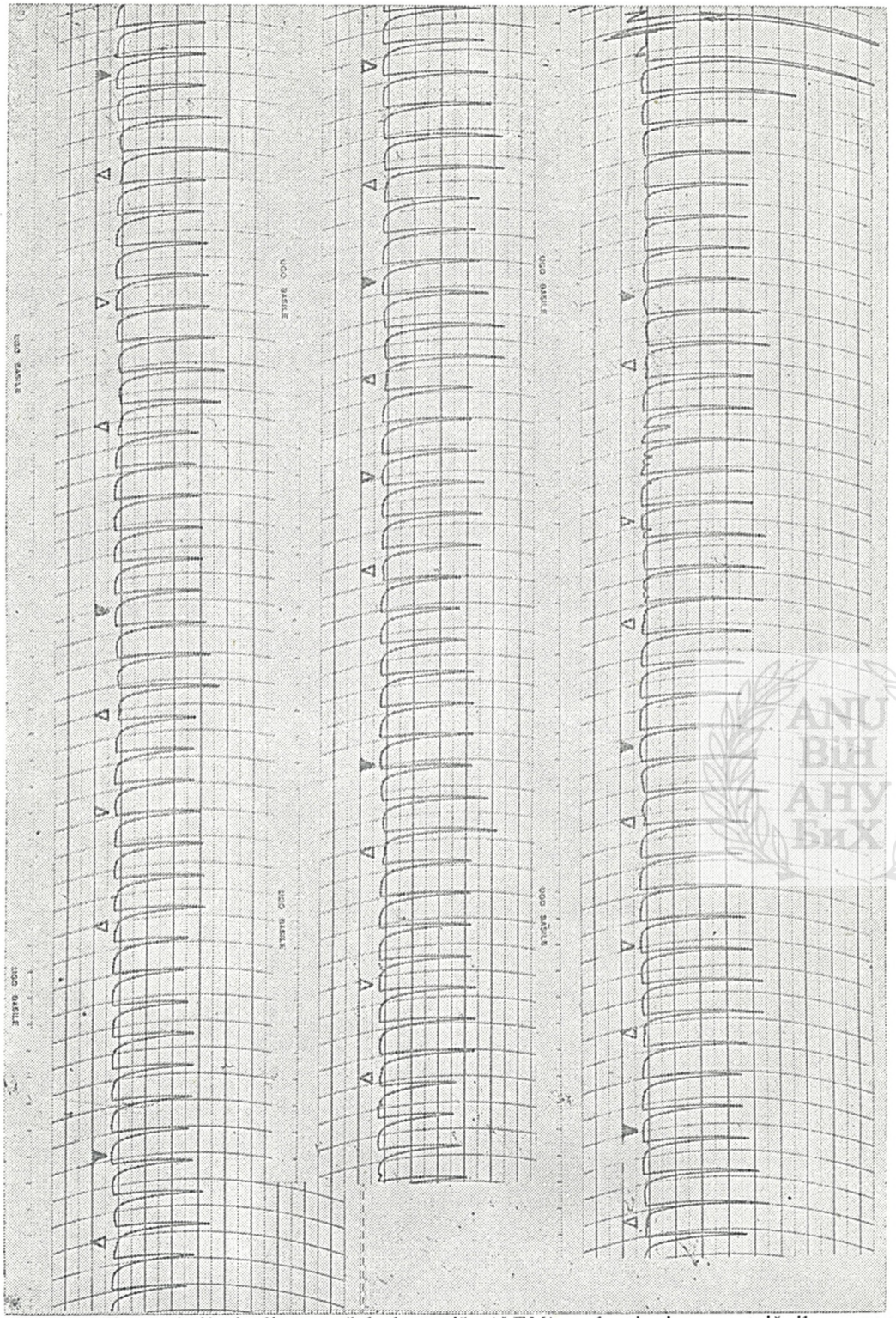
U tabeli 1. dat je prikaz dobivenih vrijednosti prostaglandina nakon ekstrakcije, izražen u ng/g tkiva.

Tabela 1.
KONCENTRACIJA PG-a U ng/ml U GINGIVI

| Prostaglandin | Humana gingiva zdrava | upalna | Animalna gingiva zdrava | upalna |
|---|---|---|---|---|
| $PGE_1$ | 51,54 (±1,172) | 110,20 (±1,022) | 20,40 (±0,712) | 65,50 (±0,680) |
| $PGE_2$ | 58,60 (±0,737) | 120,18 (±1,089) | 21,45 (±0,890) | 70,33 (±0,954) |
| $PGF_{2\alpha}$ | 46,08 (±0,953) | 98,63 (±0,648) | 20,33 (±0,622) | 60,40 (±0,636) |

Vrijednosti označavaju aritmetičku sredinu distribucije od 10 eksperimenata ± SE (n—1) $p<0,001$.

Izrazit je porast koncentracije $PGE_2$ u inflamiranoj humanoj gingivi. Vrijednost od 120,18 ng/g je relativno mala u odnosu na rezultate Goodsona i saradnika (1974), ali se dobivene niže vrijednosti mogu objasniti stepenom inflamacije tkiva. Opisane vrijednosti kod navedenih autora su nađene kod gingivitis necroticans.



*Sl. 4. — Kontrakcije izoliranog želudca miša (ŽEM) pod uticajem gastričnih nerava (2mA, 10 Hz, 1mS, 2 min., 2 sec.). Kod znaka ▼ dodana je standardna otopina $PGS_2$ 1 ng/ml. Kod znaka ▽ posuda je izaprana. Kod znaka △ dodan je ekstrakt $PGE_2$ 0,5 ml.*

## ZAKLJUČAK

Prostaglandini mogu stimulirati ili inhibirati efekte stimulacije nerava izoliranih organa.

Želudac miša sa pripadajućim holinergičnim nervima pokazuje veliku osjetljivost na prostaglandine.

Količina ekstrahovanih prostaglandina određena je biološki na izoliranom želucu miša.

Ekstrakcija prostaglandina iz inflamirane humane i animalne gingive ukazuje na povećanje koncentracije prostaglandina u upalnom tkivu.

PETRONIJEVIĆ, SILVA and HUKOVIĆ, S.

## ASSAY OF PROSTAGLANDINES IN A INFLAMED TISSUE OF THE GUMS


## SUMMARY

PG's can stimulate or inhibit effects of electrical stimulation of isolated innervated organs. Mice stomach showed a high sensitivity to PG's.

Extracted quantities of PG's were examined biologically on isolated innervated mice stomach.

Prostaglandines extraction from inflamed human and animal gums has pointed to a significant increase of their concentration in inflamed tissues.


## LITERATURA


Ambache, N. and al. (1963): *I Investigation of an active lipid in aquerous extracts of rabbit brain, and of some further hydroxy — acides.* Y. physiol., 1966, 251—283.

Bennet, A. and Gleshler, B. (1971): *Prostaglandins and the gastrointestinal tract.* Gastroenterology, 59, 790.

Burn, J. H. and Rand, M. J. (1959): *Sympathic adrenergic mechanism.* Nature, 184, 169.

Cowell, C. R. et al. (1975): *Testing therapeutic measures of controlling chronic gingivitis in man.* A suggested protocol. J. Clin. Periodont., 2, 231.

Eakins, K. E., Whitelocke, R. et al. (1973): *Prostaglandin-like Activity in Ocular Inflammation.* Brit. Med. J., 3, 452.

Ellatar, T. (1976): *Prostaglandins* 11, 331—341.

Harris, M. (1973): *PG production an bone resorbtion by dental cysts.* Nature, 245, 213.

Horton, E. W. (1966): *The indentification of prostaglandins in central nervueus system of the cat and the chick.* Y. physiol., 185, 36—37.

Goodson, J. M. and al. (1974): *Prostaglandin $E_2$ levels and human periodontal disease.* Prostiglandins., 6, 1, 81—85.

Wong, P., Ross, Y. R. and al. (1980): *Metabolish of arachidonic acid in inflamed human gingivae (I): Formation of 6-keto prostaglandin $F_1$ alfa.* Prostaglandins (in press).

ANU BiH АНУ БиХ