Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

RADOVI XXXI, knj. 12.

Grin, Ernest

1966

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/items/60a95f89-de4e-4373-a768-3d02caca85d9

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA XXXI

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

KNJIGA 12.

ANU BiH АНУ БиХ

Urednik
ERNEST GRIN,
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine

SARAJEVO
1966

SEID HUKOVIĆ

pB NOVA MJERA ZA OCJENU BLOKIRAJUĆIH SVOJSTAVA SUPSTANCI NA NERVNU TRANSMISIJU*

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka, održanoj 1. XI 1967. god.)

UVOD

Efekt iste količine acetilholina (Ach) koji se dodaje u posudu za izolirane organe (egzogeni, ekstrinzički Ach) moguće je inhibirati sa neuporedivo manjim dozama antagonista nego efekt Ach oslobođenog stimulacijom nerva (endogeni, intrinzički Ach). Postoje čak mogućnosti djelomične rezistencije efekta stimulacije nerva prema antagonistima kao, na primjer, na mokraćnom mjehuru kunića (Ursillo and Clark, 1956) i štakora (Huković i Bubić, 1963; Huković et al., 1965).

U namjeri da se bolje prouče pomenute razlike u jačini djelovanja antagonista na egzogeni i endogeni Ach, zatim u želji da se serija preparacija izoliranih inerviranih organa iskoristi za istraživanje novih blokatora receptora i nerava holinergičnog sistema, potrebno je naći mjeru, statističku konstantu, koja će omogućiti upoređivanja.

Schild (1947. a) je uveo pA novu ocjenu za mjeru antagonizma izvana dodatih agonista i antagonista. Ova mjera je omogućila diferenciranje specificiteta, pronalaženje i prosuđivanje novih antagonista.

Cilj ovog rada je da se nađe nova mjera pB koja će se moći upotrijebiti za mjerenje antagonizma prema endogenom Ach. Za ovu svrhu će se upotrijebiti tri specifična i jedan nespecifični antagonist na tri preparacije, gdje Ach ima muskarinsko, ganglionarno i antikurariformno djelovanje.

METODA

Upotrijebljene su tri preparacije izoliranih organa sa pripadajućim holinergičnim nervima: trahea goluba sa vagusnim nervom, najjače osjetljiva na ganglion blokatore (Igić and Huković, 1968), ezofagus zamorca sa ramii oesophagei n. vagi, najjače osjetljiv na tubokurarin

* Izrada rada je pomognuta od Republičkog fonda za naučni rad SRBiH.
Pri izradi ovog rada požrtvovno i nesebično pomagali su major Kamenko Brankov, dr Svetozar Miletić i dr Rajko Igić — na čemu im se najtoplije zahvaljujem.

(Huković und Stern, 1966), rektum zamorca sa pelvičkim nervom (Boyd et al., 1963), najjače osjetljiv na atropin. Upotrijebljene životinje bile su oba spola i netretirane.

Organi se suspendiraju u posudu za izolirane organe volumena 20 ml. U posudi je oksigenizirana Tyrodeova otopina pri konstantnoj temperaturi 32° C ± 0,5° C. Nerv se uvlači među dva platinska prstenčića potopljenih elektroda (Burn and Rand, 1960). Električni stimulus je submaksimalan, 10 V, 20/sek. frekvence, 1 m/sek. trajanja, daje se svake minute i traje jednu sekundu.

Jednim krajem se organ veže za frontalnu pisaljku pri opterećenju od 0,5 g koja piše po začađavljenom kimografu. Povećavanje na poluzi je 1 : 6. Prvo se registruje pet kontrolnih kontrakcija, a onda se u kumulativnim koncentracijama dodaje atropin sulfat, sukcinilholinhlorid, heksametonium bromid ili prokain hlorid. Počinje se sa najmanjim dozama 3.125×10^{-11}g/ml, a onda se doza podvostručuje. Supstance se dodaju nakon 5 kontrakcija, odnosno svakih 5 minuta.

Izračunava se procent smanjenja prosjeka svih 5 kontrakcija u odnosu na prosjek 5 kontrolnih kontrakcija izazvanih stimulacijom holinergičnog nerva. Poslije tabeliranja rezultata i izračunatog procenta smanjenja, vrijednosti se interpoliraju u koordinatni sistem. Na apscisu se nanosi transformirana vrijednost koncentracije, tj. negativni logaritam molarne koncentracije. Na ordinatu se nanosi transformirana vrijednost procenta smanjenja, tj. probit (Gaddum, 1953). Pomoću interpolirane linije grafički se očita negativni logaritam koncentracije koja blokira efekt stimulacije za 50% i 25%.

Izračunava se zatim srednja vrijednost od najmanje 4 mjerenja, standardna devijacija i standardna greška srednje vrijednosti (SE). Izvršeno je ukupno 104 eksperimenta.

REZULTAT

Negativni logaritam molarne koncentracije blokatora koji dovodi do 50% smanjenja izazvanih kontrakcija označen je sa pB_{50}. Za 25-postotno smanjenje označen je pB_{25}. Ustanovljen je linearan odnos između transformiranih vrijednosti doze i smanjenja izazvanih kontrakcija za atropin, heksametonium, sukcinilholin i novokain na ezofagusu i rektumu. Izuzetak je haksametonium i trahea goluba gdje se mogu razlikovati dvije linije: jedna sa malim, a druga sa većim koncentracijama. Prva je blokada specifičnog receptora, a druga vjerovatno lokal-anestetsko djelovanje na nerv (sl. 1).

Dobivene linije su veoma pogodne za grafičko dobivanje vrijednosti koncentracije blokatora, koja dovodi do 25% odnosno 50% smanjenja izazvanih kontrakcija (pB_{25} i pB_{50}). Sve upotrijebljene supstance blokiraju ovisno od koncentracije nervnu transmisiju na sve tri upotrijebljene preparacije, tj. na rektumu, ezofagusu i dušniku. Na tabeli 1. mogu se vidjeti srednje vrijednosti pB_{50}.

Tabela 1.

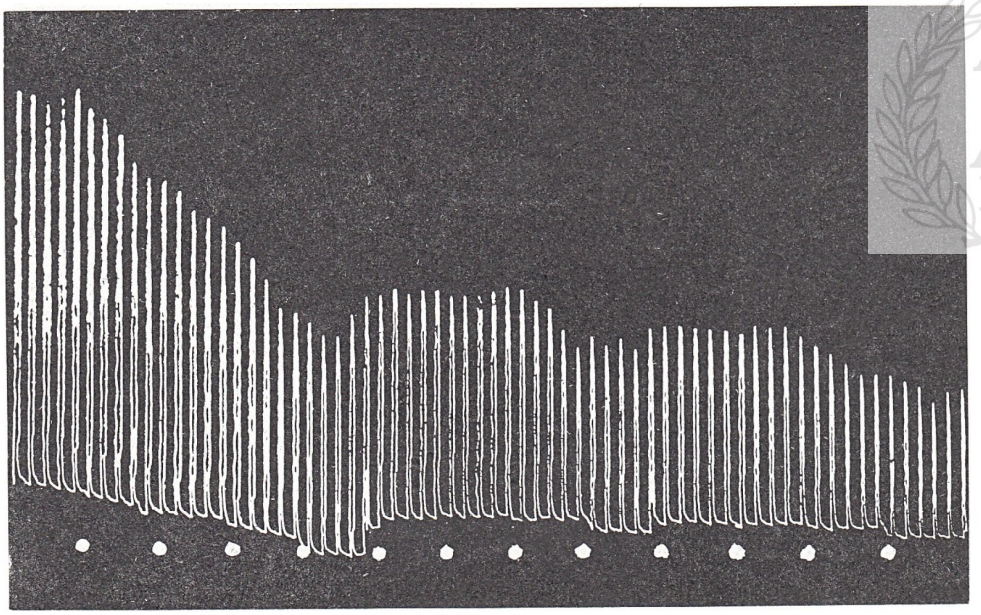
SREDNJA VRIJEDNOST pB_{50}* SPECIFIČNIH I NESPECIFIČNIH BLOKATORA KONTRAKCIJA IZAZVANIH STIMULACIJOM HOLINERGIČNOG NERVA

	Rektum + n. pelvicus	Trahea + n. vagus	Ezofagus n. vagus
Atropin	9,108 ± 0,278	4,001 ± 0,382	3,705 ± 0,231
Heksametonium	7,051 ± 0,057	6,870 ± 0,478	3,863 ± 0,146
Sukcinilholin	3,520 ± 0,365	5,943 ± 0,350	6,193 ± 0,067
Prokain	4,587 ± 0,393	5,267 ± 0,059	4,245 ± 0,332

* pB_{50} negativni logaritam molarne koncentracije blokatora, koji za 50% smanjuje izazvanu kontrakciju.

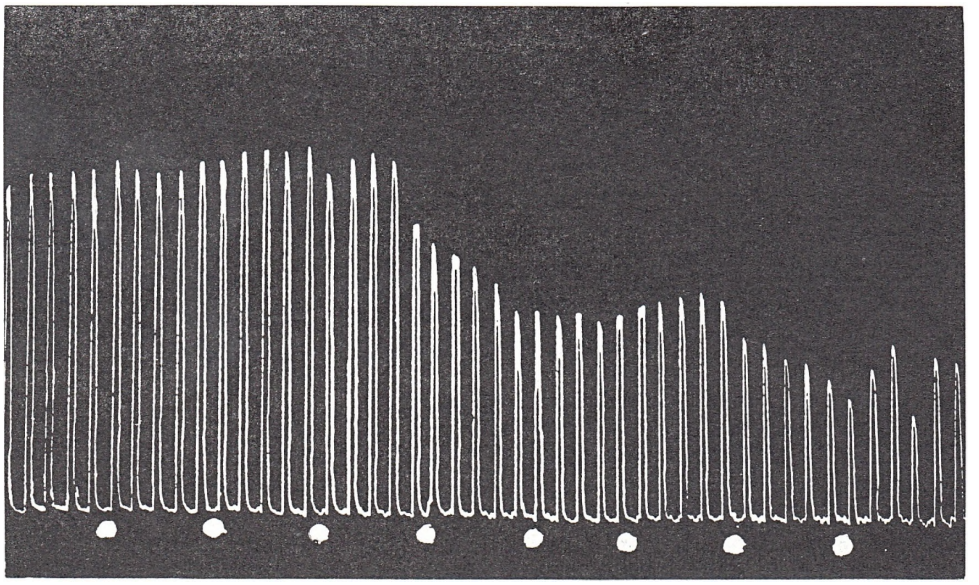
Podvučene su vrijednosti za specifični blokator.

Najveći broj pB_{50} za rektum ima atropin i iznosi 9,108 ± 0,278. Heksametonium treba dodati u preko sto puta većoj koncentraciji, a novokain ili sukcinilholin preko 50.000 puta višoj koncentraciji da se dobije isti efekt. Prema tome, specifični blokator na ovoj preparaciji je atropin. Ova preparacija je relevantna za ispitivanje muskarinskih djelovanja acetilholina (sl. 2), a u manjoj mjeri za ganglionarne efekte Ach.

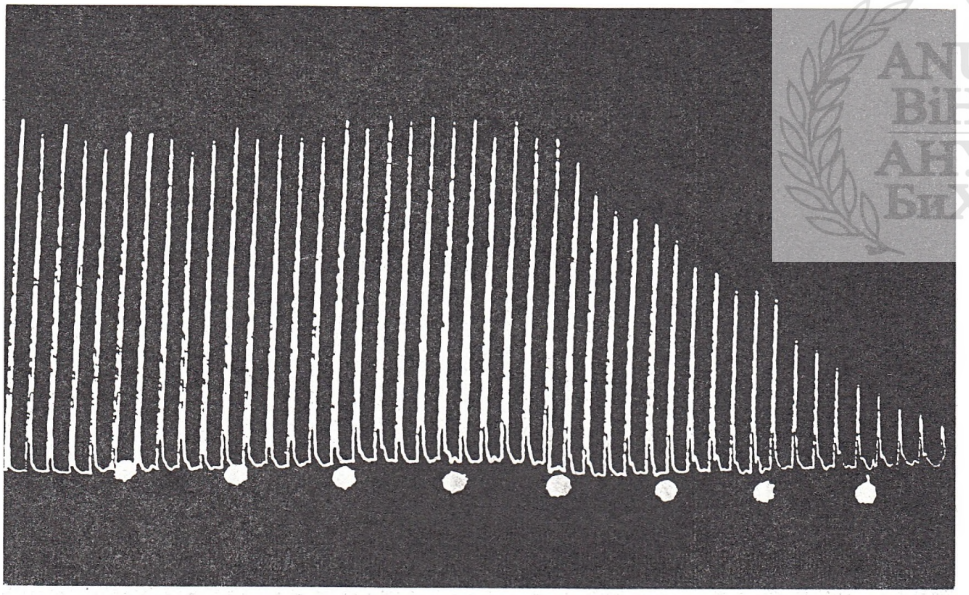


Sl. 1.

Najveći broj pB_{50} za ezofagus ima sukcinilholin i iznosi 6,193 ± 0,067. Potrebno je dodati oko 500 puta više atropina ili heksametoniuma da se dobije isti efekt. Prema tome, specifični blokator na ovoj preparaciji je sukcinilholin. Ezofagus sa nervom je relevantna preparacija za otkrivanje kurariformnih efekata raznih supstanci (sl. 3).



Sl. 2.



Sl. 3.

Najveći broj pB_{50} za traheu ima heksametonium ($6{,}870 \pm 0{,}478$), slijedi vrijednost za sukcinilholin ($5{,}942 \pm 0{,}350$). Specifičan blokator na ovoj preparaciji je ganglionblokator. Mada je specifični blokator heksametonium, ova je preparacija samo za nekoliko desetina puta manje osjetljiva na kurariformne supstance. Mora se, prema tome, uslovno

koristiti. Postaje, međutim, mnogo relevantnija za otkrivanje i prosuđivanje ganglionblokatora ako se uzme pB_{25} kao što je prikazano na tabeli 2.

Tabela 2.

SREDNJA VRIJEDNOST pB_{25} SPECIFIČNIH I NESPECIFIČNIH BLOKATORA KONTRAKCIJA IZAZVANIH STIMULACIJOM HOLINERGIČNOG NERVA

	Rektum + n. pelvicus	Trahea + n. vagus	Ezofagus n. vagus
Atropin	10,012 ± 0,395	4,250 ± 0,382	4,540 ± 0,526
Heksametonium	7,760 ± 0,062	7,872 ± 0,807	4,453 ± 0,176
Sukcinilholin	4,435 ± 0,561	6,195 ± 0,382	7,038 ± 0,555
Prokain	5,043 ± 0,433	5,903 ± 0,150	4,777 ± 0,194

* pB_{25} negativni logaritam molarne koncentracije blokatora, koji za 50% smanjuje izazvanu kontrakciju.

Podvučene su vrijednosti za specifični blokator.

Na tabeli 2. se može vidjeti da pB_{25} može poslužiti za bolje određivanje specifiteta blokatora nego pB_{50}. To je vrlo vjerovatno posljedica nekoliko vrsta receptora u svakom organu, mada prevladava samo jedan, koji je odgovoran za fiziološku reakciju.

Prokain je u svim eksperimentima imao slične vrijednosti: uvijek manji pB od specifičnih antagonista za pojedinu vrstu receptora. Vrlo je vjerovatno da djeluje izazivajući lokalnu anesteziju nerva, tj. nespecifično.

DISKUSIJA

Ranije je izrađen postupak za ustanovljavanje statističke konstante pA, koja je omogućila da se vrše efikasna upoređivanja aktiviteta raznih antagonista (Schild, 1947. a). Također je predložena procedura koja bi mogla poslužiti kao baza za klasifikaciju agonista pomoću njihovih antagonista (Schild, 1947. b). Sve pomenute procedure zasnivaju se na tome da se doda Ach ili druga aktivna supstanca izvana. Pomoću pomenute konstante mi smo istraživali i našli specifične antagoniste supstance P (Stern and Huković, 1961).

Efekt Ach oslobođen stimulacijom nerva je mnogo rezistentniji na antagoniste nego Ach dodan izvana (Ursillo and Clark, 1956; Huković i Bubić, 1963. b). Navode se mnogi uzroci pomenute rezistencije endogenog oslobođenog Ach: Ach oslobođen stimulacijom nerva ima veoma kratko vrijeme difuzije do receptora, dok je vrijeme difuzije izvana dodanog antagonista, odnosno agonista mnogo dulje. Moguća koncentracija oslobođenog endogenog Ach je daleko veća u blizini receptora nego njegovog konkurentskog antagonista. Postoji također mogućnost da se Ach oslobađa u zatvoren prostor do kojeg ne dolazi antagonista. Ovo može biti tumačenje za potpunu rezistenciju prema antagonistima. Konačno, reakciju organa možemo izazvati pomoću endo-

genog Ach na raznim receptorima koji se otkrivaju tek poslije farmakološke inhibicije primarnog receptora.

pB je statistička konstanta za ocjenjivanje blokirajućih svojstava antagonista na reakciju izazvanu stimulacijom pripadajućih nerava. Ona omogućava klasifikaciju raznih supstanci i mjesta njihovog djelovanja. Omogućava također bolje proučavanje djelovanja antagonista in situ, jer je suština djelovanja raznih lijekova i otrova promjena stvaranja, razgradnje, oslobađanja ili vezivanja farmakoloških transmitora.

U ovom radu korelirana je serija eksperimenata na raznim organima sa specifičnim (atropin, heksametonium i sukcinilholin) i nespecifičnim antagonistima (prokain). Utvrđivanjem pB bilo je moguće diferencirati također model sisteme i njihova svojstva za relevantne zaključke. U budućnosti pomoću pB biće moguće otkriti najoptimalnije inhibitore na kontrolnim i otrovanim organima.

ZAKLJUČAK

pB je negativni logaritam molarne koncentracije blokatora, tj. koncentracije koja smanjuje efekt stimulacije nerva za određeni procent.

Najveći pB na rektumu ima atropin, na ezofagusu sukcinilholin, a na trahei heksametonium.

Nema veće razlike između vrijednosti pB nespecifičnih blokatora i lokalnog anestetika.

pB je statistička konstanta koja kvantitativno omogućava klasifikaciju model-sistema, izoliranih inerviranih organa, pomoću poznatih antagonista. pB također omogućava klasifikaciju raznih supstanci na model-sistemima.

SEID HUKOVIĆ

pB EIN NEUES MASS ZUR BEURTEILUNG BLOKIERENDER EIGENSCHAFTEN DER SUBSTANZEN DER NERVENTRANSMISSION

ZUSAMMENFASSUNG

pB ist ein negatives Logaritmus der Molarkonzentration, das den Stimulationseffekt der Nerven um ein gewisses Prozent blokiert.

Das grösste pB am Rektum gibt Atropin, Succinylcholin am Oesophagus und Hexamethonium an Trachea.

pB ist eine statistische Konstante das eine Klassifikation der Modell-Systeme isolierter innervierter Organe mit bekannten Antagonisten ermöglicht. Es ermöglicht auch eine Klassifikation der Substanzen an einer Serie der isolierten innervierten Organe.

LITERATURA

Boyd, H., Burnstock, G., Campbell, G., Jowett, A., O'Shea, J., and Wood, M.: The cholinergic blocking action of adrenergic blocking agents in the pharmacological analysis of autonomic innervation. Brit. J. Pharmacol. *20*, 418—435 (1963).

Burn, J. H. and Rand, M. J.: The relation of circulating noradrenaline to the effect of sympathetic stimulation. J. Physiol. (Lond.), *150*, 295—305 (1960).

Gaddum, J. H.: Biassays and mathematics. Pharmacol. Rev. *5*, 87—134 (1953).

Huković, S., Rand, M. J. and Vanov, S.: Observations on an isolated, innervated preparation of rat urinary bladder. Brit. J. Pharmacol. *24*, 178—188 (1965).

Huković, S. i Bubić, I.: Prilog poznavanju fiziologije mokraćnog mjehura. Naučno društvo BiH. Radovi — XXI, *9*, 127—141 (1963 a).

Huković, S. i Bubić, I.: Uticaj holinesteraznih otrova i atropina na izoliranim atropin-rezistentnim organima štakora i miša. Acta Med. Jugoslav. *17*, 300—320 (1963 b).

Igić, R. and Huković, S.: An observation on an isolated, innervated preparation of trachea (In preparation for press) (1968).

Schild, H. O.: pA, a new scale for the measurement of drug antagonism. Brit. J. Pharmacol. *2*, 189—206 (1947).

Schild, H. O.: The use of drug antagonists for the identification and classification of drugs. Brit. J. Pharmacol. *2*, 251—258 (1947).

Stern, P. and Huković, S.: Specific antagonists of Substance P. Proc. Scient. Soc. BiH. *1*, 83—88 (Symposium on Subst. P, Sarajevo) (1961).

Ursillo, R. C. and Clark, B. B.: The action of atropine on the urinary bladder of the dog and on the isolated nerve-bladder strip preparation of the rabbit. J. Pharmacol. exp. Ther. *118*, 338—347 (1956).

ANU BiH АНУ БиХ