

ORIGINALNI NAUČNI RADOVI

RAZLIČITI EFEKTI ATROPINA NA PENDULARNE POKRETE
PROKSIMALNOG I DISTALNOG KOLONA KUNIĆA

Mirjana RADENKOVIĆ, Slavimir VELJKOVIĆ, Ranka SAMARDŽIĆ,
Milan ĆIRIĆ, Suzana BRANKOVIĆ i Dušan BELESLIN

*Institut za fiziologiju Medicinskog fakulteta Nišu i Institut za farmakologiju
Medicinskog fakulteta u Beogradu*

Proučavan je uticaj neselektivnog blokatora muskarinskih receptora, atropina ($1,7 \times 10^{-10}$ - 5×10^{-7}), na pendularne pokrete proksimalnog i distalnog kolona kunića. Atropin srazmerno upotrebnoj koncentraciji redukuje amplitudu i proksimalnog ($r=0,98$; $P < 0,001$) i distalnog kolona ($r=0,97$; $P < 0,001$). Na osnovu vrednosti ED50 koje iznose za proksimalni kolon $7,7 \pm 0,03 \times 10^{-7} M$ a za distalni $3,5 \pm 0,06 \times 10^{-8} M$, atropin dvadesetak puta jače smanjuje amplitudu pendularnih pokreta distalnog kolona kunića. Isto tako, desetak puta snažnije smanjuje frekvenciju pendularnih pokreta distalnog (ED50 = $5 \pm 0,02 \times 10^{-6} M$) nego proksimalnog (ED50 = $4,7 \pm 0,06 \times 10^{-5} M$) kolona kunića. Atropin ne menja tonus proksimalnog kolona (prosečna relaksacija je $5,47 \pm 2,32$ %), a izaziva koncentracijski zavisnu relaksaciju distalnog kolona (maksimalna relaksacija iznosi $38,03 \pm 8,34$ %). Vrednost ED50 za atropin pri delovanju na tonus distalnog kolona iznosi $1,7 \pm 0,03 \times 10^{-8} M$.

Ključne reči: atropin, različiti efekti, pendularni pokreti kolona kunića

Uvod

Motorna aktivnost kolona je važna za potiskivanje njegovog sadržaja iz viših u niže partije do anusa preko koga se feces izbacuje iz organizma. U kolonu se fekalne materije deponuju, mešaju (pri tome se apsorbuje voda) i na kraju izbacuju u vidu fecesa (*Phillips* i sar., 1984). Propulzivne kontrakcije, kojima se pomera fekalni sadržaj, javljaju se i u proksimalnom i u distalnom kolonu. U proksimalnom kolonu fekalna masa se pretežno deponuje, dok je distalni kolon važan za njeno izbacivanje (*Karaus* i *Sarna*, 1987). Zbog toga su kontrakcije distalnog kolona snažnije od kontrakcija proksimalnog kolona. Ove funkcionalne razlike između proksimalnog i distalnog kolona potkrepljene su i morfološkim studijama mienteričkog plexusa. Dokazano je da je broj nervnih vlakana mienteričkog plexusa veći u di-

stalnim delovima kolona u odnosu na proksimalne (*Christensen* i sar., 1984). Isto tako, miociti distalnog kolona imaju veći afinitet za muskarinske agense iako je broj muskarinskih receptora u miocitima proksimalnog i distalnog kolona isti (*Ringer* i sar., 1987; *Barocelli* i sar., 1995). Nasuprot tome, u različitim mišićnim slojevima kolona broj muskarinskih receptora je različit, više ih ima u longitudinalnim nego u cirkularnim mišićima (*Yamamura* i *Snyder*, 1974; *Hasler* i sar., 1990).

Cilj rada

Na osnovu napred izloženih podataka postavili smo kao cilj ovog rada proučavanje dejstva atropina na pendulame kontrakcije proksimalnog i distalnog kolona kunića. Posebno je ispitano u kojoj meri blokada muskarinskih receptora menja amplitudu, frekvenciju i tonus pendularnih pokreta.

Materijal i metode

Za eksperiment su korišćeni kunići oba pola, telesne mase od 2-3,5 kg. Žrtvovani su cervikalnom dislokacijom. Tseći proksimalnog ili distalnog dela kolona dužine 2-3 cm, postavljeni su u kupatilo za izolovane organe od 20 ml metodom po Magnus-u. Kupatilo je bilo ispunjeno Tyrod-ovim rastvorom za izolovano crevo (137 mmol NaCl, 2,68 mmol KCl, 1,8 mmol $CaCl_2$, 0,1 mmol $MgCl_2$, 0,417 mmol NaH_2PO_4 , 11,9 mmol NaHCO₃ i 5,5 mmol dekstroze), zagrejanim do 37°C, i aerisanim mešavinom 95 % O₂ i 5% CO₂. Kontrakcije longitudinalnih mišića registrovane su preko mehano-električnog transdusera F50 na fiziografu (Narco-Bio-System). Adaptacija preparata je iznosila 45 min. do uspostavljanja stabilnog tonusa kolona (uz bazalno opterećenje od 2 g). Nakon adaptacije, dodavan je atropin sulfat (u daljem tekstu atropin), neselektivni antagonist muskarinskih receptora, sa serozne strane creva. Da bi se izbegla mogućnost stvaranja tolerancije, najmanji period između dodavanja dve doze bio je 20 min. Pri ubrizgavanju visokih doza periodi adaptacije su produžavani i do 30 min.

Amplituda i frekvencija pendularnih pokreta pre dodavanja atropina predstavljale su kontrolne vrednosti (100%). Promena amplitude i frekvencije pendularnih pokreta izražavana je u procentima u odnosu na kontrolne vrednosti. Promena tonusa tokom eksperimenata prikazivana je u gramima, odnosno, u procentima kontrolnih vrednosti.

Dobijeni rezultati su statistički obrađeni, određen je koeficijent korelacije, linija regresije, vrednost ED50 i t-test.

Rezultati

Proksimalni kolon

Atropin ($1,7 \times 10^{-10}$ - 5×10^{-7}) srazmerno upotrebljenoj koncentraciji redukcije amplitudu ($r= 0,98$; $P < 0,001$) i frekvenciju ($r= 0,95$; $P < 0,01$) spontanih pokreta proksimalnog kolona kunića. Vrednosti ED50 iznose za amplitudu $7,7 \times 10^{-7}M$ i za frekvenciju $4,7 \pm 0,06 \times 10^{-5} M$. Atropin vrlo malo menja tonus proksimalnog kolona izazivajući prosečnu relaksaciju od $5,47 \pm 2,32$ %. Ne postoji koncentracijski zavisani odnos. Linije regresije koje prikazuju ove odnose date su na grafikonu 1.

Tabela 1. Vrednosti ED50 atropina pri delovanju na pendularne pokrete proksimalnog i distalnog kolona kunića

	Amplituda	Tonus	Frekvencija
Proksimalni kolon	$7,7 \pm 0,03 \times 10^{-7}M$		$4,7 \pm 0,06 \times 10^{-5}M$
Distalni kolon	$3,5 \pm 0,06 \times 10^{-8}M$	$1,7 \pm 0,03 \times 10^{-6}M$	$5 \pm 0,02 \times 10^{-6}M$

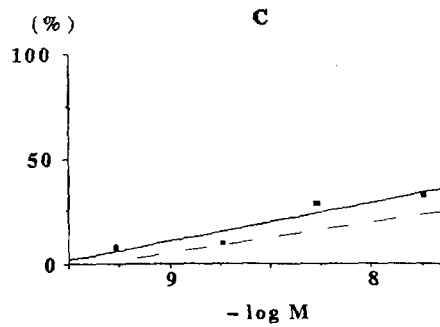
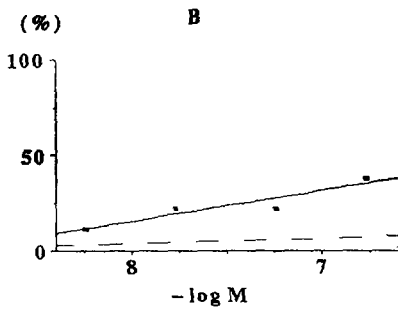
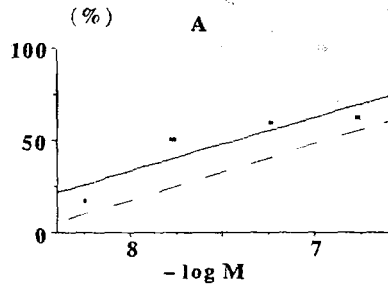
Distalni kolon

Atropin ($1,7 \times 10^{-10}$ - 5×10^{-7}) izaziva koncentracijski zavisnu redukciju amplitude ($r= 0,97$; $P < 0,001$) i frekvencije ($r = 0,95$; $P < 0,05$) pendularnih pokreta distalnog kolona kunića. Vrednost ED50 za atropin pri delovanju na amplitudu iznosi $3,5 \pm 0,06 \times 10^{-8}M$, a na frekvenciju $5 \pm 0,02 \times 10^{-6}M$. Atropin menja tonus distalnog kolona. Maksimalna relaksacija izazvana atropinom iznosi $38,03 \pm 8,34$ %. Efekat na tonus je koncentracijski zavisani ($r = 0,96$; $P < 0,01$), a vrednost ED50 iznosi $1,7 \pm 0,03 \times 10^{-6}M$. Linije regresije su date na grafikonu 1.

Diskusija

Motilitet kolona određen je interakcijom nervnih i humoralnih faktora na toničnu aktivnost samih glatkih mišića. Najvažniju ulogu u njegovoj kontroli ima holinergički nervni sistem preko nikotinskih i muskarinskih receptora. U poslednje vreme, posebna pažnja se poklanja različitim podtipovima muskarinskih receptora (*Grider*, 1989; *Ruoffi* sar., 1991; *Radenković i sar.*, 1995). Njihov broj je mnogo veći u longitudinalnom u odnosu na cirkularni mišićni sloj. Verovatno je holinergički sistem važniji za regulaciju kontraktilnosti longitudinalnog nego cirkularnog sloja digestivnog kanala (*Blanquet i Gonnella*, 1992; *Barocelli i sar.*, 1995).

Na osnovu naših eksperimenata, blokada muskarinskih receptora menja kontraktilnost longitudinalnih mišića, odnosno, pendularne pokrete proksimalnog i distalnog kolona kunića. Atropin smanjuje amplitudu, frekvenciju i tonus pendularnih pokreta proksimalnog i distalnog kolona. Intenzitet



Grafikon 1. Dejstvo atropina na amplitudu (A), tonus (B) i frekvenciju (C) pendularnih pokreta proksimalnog (....) i distalnog (____) kolona kunića

dobijenih efekata se mnogo razlikuje između proksimalnih i distalnih delova. Redukcija amplitude pendularnih pokreta je oko 20 puta veća u distalnom u odnosu na proksimalni kolon. Efekti sa još većim razlikama se uočavaju pri delovanju na tonus. Atropin u nanomolarnim koncentracijama ne menja tonus debelog creva. Milimolarne koncentracije atropina relaksiraju distalni, a neznatno (prosečno $5,47 \pm 2,32$ %) i proksimalni kolon. Može se reći da atropin ne deluje na tonus proksimalnog kolona. Atropin menja i frekvenciju pendularnih pokreta i to u distalnom kolonu desetak puta snažnije nego u proksimalnom. Ovakvi nalazi ukazuju da su muskarinski receptori uključeni u regulaciju pendularnih pokreta debelog creva. Međutim, njihova blokada ne izaziva iste efekte u gornjim i donjim delovima debelog creva. To je verovatno uslovljeno time što su različiti podtipovi muskarinskih receptora različito raspoređeni u kolonu i što isti podtip muskarinskih receptora ne utiče na sve parametre pendularnih pokreta.

Iz literature je poznato da je funkcija proksimalnog i distalnog kolona različita. Ove razlike su potkrepljene morfološkim studijama (*Christensen*, 1984). Isto tako je dokazano da je bazična fazična kontraktilna aktivnost distalnog kolona kunića mnogo veća nego proksimalnog (*Shape* i sar., 1983, 1991). Slične razlike zapažene su u kolonu zamorčeta gde su spontane fazične kontrakcije intenzivnije i u cirkularnom i u longitudinalnom mišiću distalnog nego proksimalnog kolona (*Shape* i sar., 1989). Takođe, i acetilholin izaziva snažnije kontrakcije (i cirkularnog i longitudinalnog sloja) u distalnom nego u proksimalnom kolonu (*Misiewicz* i sar., 1966; *Hasler* i sar., 1990). Pri električnoj stimulaciji dobijaju se snažniji efekti u distalnom kolonu i veća količina acetilholina se oslobađa iz distalnih u poređenju sa proksimalnim delovima. Zbog toga su i glatkomišićne ćelije distalnog kolona osetljivije na egzogeni acetilholin od onih u proksimalnom kolonu (*Hasler* i sar., 1990). Na osnovu svega može se pretpostaviti da su i gustina i tipovi muskarinskih receptora u različitim delovima kolona različiti što potvrđuju i naši rezultati. Neki autori smatraju da je broj receptora na miocitima kolona kunića isti ali da je njihov afinitet prema muskarinskim agensima veći u distalnim u odnosu na proksimalne delove kolona (*Ringer* i sar., 1987). Nasuprot njima, drugi ukazuju da se afinitet muskarinskih receptora ne menja tokom rasta nego da se menja njihov broj (*Zhang*, 1995). Našim eksperimentima nije moguće utvrditi da li su različiti efekti atropina izazvani nejednakim brojem ili različitim afinitetom ovih receptora. Međutim, slabija efektivnost atropina u proksimalnom kolonu koja je dokazana u našim eksperimentima nije samo zbog manjeg broja holinergičkih neurona u njima, nego se radi i o manjoj populaciji muskarinskih receptora. Kako se feces u proksimalnom kolonu deponije sve dok se ne resorbuje suvišna voda to su i njegove kontrakcije slabije a samim tim i holinergička kontrola. Ali proksimalni kolon zato ima veći broj nervnih vlakana koja sadrže azot oksid koji je najsnažniji neholinergički neadrenergički relaksirajući faktor u digestivnom kanalu (*Takahashi* i *Owyang*, 1998). Smanjena osetljivost proksimalnog kolona na muskarinske agense zbog manjeg broja muskarinskih receptora, a povećana osetljivost

glatkomišićnih ćelija na azot oksid olakšavaju deponovanje, mešanje fecesa i apsorpciju vode. Našim daljim eksperimentima pokušaćemo da razjasnimo koji se podtipovi muskarinskih receptora nalaze u različitim delovima kolona i koji tip reguliše svaki pojedini parametar pendularnih pokreta debelog creva.

Zaključak

Na osnovu svega izloženog možemo reći da su pendularni pokreti distalnog kolona kunića osetljiviji na dejstvo atropina nego proksimalnog kolona. To ukazuje da je i broj muskarinskih receptora u longitudinalnom sloju distalnog kolona veći. Posebno velika razlika ogleda se u broju onog podtipa muskarinskih receptora koji regulišu tonus kolona kunića.

Literatura

Barocelli, E., Ballabeni, V., Chiavarini, M., Caretta, A., Molina, E. and Impicciatore, M. (1995). Regional differences in motor responsiveness to antimuscarinic drugs in rabbit isolated small and large intestine. *Pharmacological Research*, 57, 43-47.

Blanquet, F. and Gonella, J. (1992). Role of MI muscarinic receptors in the parasympathetic control of colonic motility in cats and rabbits. *J. Physiol. Lond.*, 458, 655-666.

Christensen, J. M., Stiles, J., Rick, G. A. and Sutherland, J. (1984). Comparative anatomy of the myenteric plexus of the distal colon in eight mammals. *Gastroenterol.*, 86, 706-713.

Grider, J. R. (1989). Identification of neurotransmitters regulating intestinal peristaltic reflex in humans. *Gastroenterol.*, 97, 1414-1419.

Hasler, W., Kurosawa, S. and Owyang, Ch. (1990). Regional cholinergic differences between distal and proximal colonic myenteric plexus. *A. J. Physiol.* 258 (Gastrointest. Liver Physiol, 21), G404-G410.

Karaus, M. i Sarna, S. K. (1987). Giant migrating contractions during defecation in the dog colon. *Gastroenterology*, 92, 925-933.

Phillips, S. (1984). Functions of the large bowel: an overview. *Scand. J. Gastroenterol.*, Suppl. 93, 1-12.

Ringer, M.J., Hyman, P. E., Kao, H. W., Hsu, C. T., Tomomasa, T. and Snape, W.J. (1987). JR. (³H-QNB binding and contraction of rabbit colonic smooth muscle cells. *Am J. Physiol.* 253 (Gastrointest. Liver Physiol. 16), G656-G661.

Misiewicz, J., Connell, A. and Pontes, F. (1966). Comparison of the effect of a meal and prostigmine on the proximal and distal colon in patients with and without diarrhea. *Gut*, 7, 468-473.

Radenković, M., Jovanović, D., Samardžić, R., Veljković, S. and Bcleslin, D. B. (1995). The effect of atropine on pendular movements of the isolated rabbit duodenum, ileum and colon. *Iugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta*, 31, 208-213.

Rueff, J., Fladung, B., Demol, P. and Weihrauch, T.R. (1991). Gastrointestinal receptors and drugs in motility disorders. *Digestion*, 48, 1-17.

Snape, W.J. and Shiff, S. (1983). Neurohumoral control of colonic motility in rabbit. A. J. Physiol. 245. (Gastrointest. Liver Physiol. 8), G582-G588.

Snape, W., Kim, B. H., Willenbacher, R., Koelbel, C. B., Mayer, E. A. and Walsh, J. H. (1989). Differences in the Response of Proximal and Distal Rabbit Colonic Muscle After Electrical Field Stimulation. Gastroenterol., 96, 321-326.

Snape, W. J., Crawford, Jr. B., Hyman, P. E. and Lechago, J. (1991). Anatomic Contribution to differences in Rabbit Colonic Muscle Contraction. Gastroenterol., 100, 75-81.

Takahashi, T. and Owyang, Ch. (1998). Regional Differences in the Nitroergic Innervation Between the Proximal and the Distal Colon in Rats. Gastroenterology, 115, 1504-1512.

Yamanmra, H. I. and Snyder, S. H. (1974). Muscarinic cholinergic receptor binding in the longitudinal muscle of the guinea pig ileum with (H)quinuclidiny! benzilate. Mol. pharmacol., 10, 861-867.

Zhang, L. (1996). Muscarinic receptors in developing rat colon. Eur. J. Pharmacol. 3104, 211-219.

DIFFÉRENTS EFFETS D'ATROPINE SUR LES MOUVEMENTS PENDULAIRES DE LA COLONNE PROXIMALE ET DISTALE DU LAPIN

Mirjana RADENKOVIĆ, Slavimir VELJKOVIĆ, Ranka SAMARDŽIĆ,
Milan ĆIRIĆ, Suzana BRANKOVIĆ et Dušan BELESLIN

*Institut de physiologie de la Faculté de Médecine de Niš et Institut de
pharmacologie de la Faculté de Médecine de Belgrade*

Les auteurs ont étudié l'influence du bloqueur nonselectif des récepteurs musculaires d'atropine ($1,7 \times 10^{-10}$ - 5×10^{-7}) sur les mouvements pendulaires de la colonne proximale et distale du lapin. Atropine proportionnellement à la concentration employée réduit l'amplitude de la colonne proximale ($r= 0,98$; $P < 0,001$) et distale ($r= 0,97$; $P < 0,001$). A la base des valeurs ED50 qui font pour la colonne proximale $7,7 \pm 0,03 \times 10^{-7}$ M et pour distale $3,5 \pm 0,06 \times 10^{-7}$ M, atropine réduit plus fort c'est-à-dire une vingtaine de fois l'amplitude des mouvements pendulaires de la colonne distale du lapin. Aussi il réduit une dizaine de fois plus fort la fréquence des mouvements pendulaires (ED50= $5 \pm 0,02 \times 10^{-6}$ M) que la fréquence de la colonne proximale (ED50 = $4,7 \pm 0,06 \times 10^{-6}$ M) du lapin. Atropine ne change pas le tonus de la colonne proximale (relaxation moyenne fait $5,47 \pm 2,32$ pour cent) et provoque la relaxation concentriquement dépendante de la colonne distale (la relaxation maxi-

male fait $38,03 \pm 8,34$ pour cent). La valeur ED50 pour l'atropine lors de l'activité sur le tonus de la colonne distale fait $1,7 \pm 0,03 \times 10^{-6}$ M.

Les mots cle's: Atropine, effets différents, mouvements pendulaires, colonne du lapin

**DIFFERENT EFFECTS OF THE ATROPINE UPON THE PENDULOUS
MOVEMENTS OF THE PROXIMAL AND OF THE DISTAL
COLON OF THE RABBIT**

Mirjana RADENKOVIĆ, Slavimir VELJKOVIĆ, Ranka SAMARDŽIĆ,
Milan ĆIRIĆ, Suzana BRANKOVIĆ and Dušan BELESLIN

*Institute for Physiology of the Faculty of Medicine, Niš, and the Institute for
Pharmacology of the Faculty of Medicine, Belgrade*

The **influence** of the non-selective blocker of the muscarinic receptors, namely of the atropine ($1,7 \times 10^{-10}$ – 5×10^{-7}). upon the pendulous movements of the proximal and of the distal colon of the rabbit was studied. In the correct proportion to the concentration the atropine reduces the amplitude of both the proximal ($r = 0,98$; $P < 0,001$) and of the distal colon ($r = 0,97$; $P < 0,001$). On the basis of the ED50 values - that amount to $7,7 + 0,03 \times 10^{-7}$ M for the proximal colon and $3,5 + 0,06 \times 10^{-5}$ M for the distal colon, the atropine reduces for twenty times the amplitude of the pendulous movements of the rabbit's distal colon. Likewise, it reduces for dozen times the frequency of the pendulous movements of the distal colon ($ED_{50} = 5 \pm 0,02 \times 10^{-6}$ M) with respect to the proximal one ($ED_{50} = 4,7 \pm 0,06 \times 10^{-5}$ M). The atropine does not change the tone of the proximal colon (average relaxation is $5,47 \pm 2,32$ %) while it induces the concentrically-dependent relaxation of the distal colon (maximal relaxation amounts to $38,03 \pm 8,34$). The ED50 values for the atropine while affecting the distal colon tone is $1,7 + 0,03 \times 10^{-6}$ M.

Key words: Atropine, different effects, pendulous movements, rabbit's colon

Autor: Doc. dr sci Mirjana Radenković, specijalista za internu medicinu, **Institut** za fiziologiju Medicinskog fakulteta u Nišu; kućna adresa: Niš, Maksima Gorkog 2/20.

(Rad je Uredništvo primilo 9. februara 2000. godine)