

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXVIII, 24

SECTIO D

1973

Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Wydział Lekarski, Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr med. Zdzisław Kleinrok

Zdzisław KLEINROK, Ryszard CZAJKA,
Jan OLESZCZUK

**Wpływ chlorku litu na wrażliwość wyosobnionego jelita cienkiego
i serca szczura na acetylocholinę, 5-hydroksytryptaminę i noradrenalinę**

Влияние хлористого лития на чувствительность изолированной тонкой кишки
и сердца крысы на ацетилхолин, 5-гидрокситриптамин и норадреналин

Influence of Lithium Chloride on the Isolated Rat Jejunum and Heart Sensitivity
to Acetylcholine, 5-hydroxytryptamine and Noradrenaline

Sole litu zostały wprowadzone do lecznictwa w 1859 r. przez Garrod'e'a. Stosowano je bez większego efektu w leczeniu mocznicy, kamicy nerkowej, dny oraz choroby reumatycznej, ponieważ ilości litu potrzebne do powstania rozpuszczalnego moczanu litu w obecności jonów ustrojowych Na^+ i K^+ muszą kilkakrotnie przekraczać dawki lecznicze (4, 14, 16). Chlorek litu stosowany był również jako namiastka soli kuchennej. Jednakże kilku czy kilkunastodniowe przyjmowanie chlorku litu w stosunkowo dużych ilościach prowadziło z reguły do ciężkich zatrueń kończących się nawet śmiercią (6, 12, 13). W 1949 r. australijski psychiatra Cade (5) wykazał korzystny wpływ soli litu w leczeniu stanów maniakalnych. Działanie to potwierdzili inni badacze (10, 15). Pomimo wieloletniego stosowania leczniczego soli litu na temat jego mechanizmu działania istnieją rozbieżne teorie. Według jednych związki litu zwiększają obrót noradrenaliny w OUN (11, 17), zdaniem innych badaczy sole litu poprzez wyparcie sodu i potasu z komórki, zmieniają stan fizykochemiczny błony komórkowej, prowadząc bezpośrednio lub pośrednio do zaburzeń czynności komórki (7, 8, 20). Ta zmiana stanu fizykochemicznego błony komórkowej może zdaniem Bunney'a i wsp. (4) prowadzić do zmiany wrażliwości na różne endo- i egzogenne czynniki.

Celem naszej pracy jest zbadanie wpływu różnych stężeń chlorku litu na wrażliwość wyosobnionego jelita oraz serca szczura na acetylocholinę (Ach), 5-hydroksytryptaminę (5-HT) i noradrenalinę (NA).

METODYKA

Doświadczenia dotyczące wpływu Ach i 5-HT przeprowadzono na wyosobnionych odcinkach jelita czczego szczura. Odcinki jelita długości 10 mm umieszczano w zestawie do badania narządów izolowanych, w naczyniu reakcyjnym o pojem-

ności 50 ml, zawierającym perfundowany tlenem płyn Tyrode'a o temp. 38°C. Po dwudziestominutowym okresie adaptacji dodawano do naczynka reakcyjnego kolejno wzrastające dawki Ach (B.D.H. Ltd) lub 5-HT (Koch-Light Ltd). Czasokres bezpośredniego kontaktu wymienionych związków z preparatem wynosił 3 min., po czym preparat 3—4 krotnie przepłukiwano. Po dwuminutowej przerwie rejestrowano skurcze preparatu w ciągu 3 min. i stosowano kolejną dawkę jednego z wymienionych związków. Roztwory tych związków przyrządzano każdorazowo *ex tempore*. Po zastosowaniu kolejnych pięciu stężeń Ach ($1,25 \times 10^{-8}$; $2,5 \times 10^{-8}$; 5×10^{-8} ; 1×10^{-7} ; 2×10^{-7}) lub siedmiu 5-HT (1×10^{-10} ; 1×10^{-9} ; 2×10^{-9} ; 5×10^{-9} ; 1×10^{-8} ; 5×10^{-8} ; 1×10^{-7}) wprowadzono do naczynka reakcyjnego płyn Tyrode'a, w którym 12,5% (grupa D₁), 25% (grupa D₂) lub 50% (grupa D₃) chlorku sodowego zastąpiono ekwimolarnymi ilościami chlorku litu i ponownie badano wrażliwość jelita na takie same stężenia Ach lub 5-HT. Wielkość amplitudy skurczów rejestrowano na okopconym walcu kimografu, posługując się izotonicznym pisakiem o przekładni 1:12,5. Mierzono wielkość skurczu po podaniu kolejnych dawek Ach lub 5-HT, a uzyskane wyniki zestawiono w postaci średnich i opracowano statystycznie, posługując się t-testem Studenta oraz wyznaczono współczynnik korelacji między wielkością skurczu i stężeniem stosowanego związku.

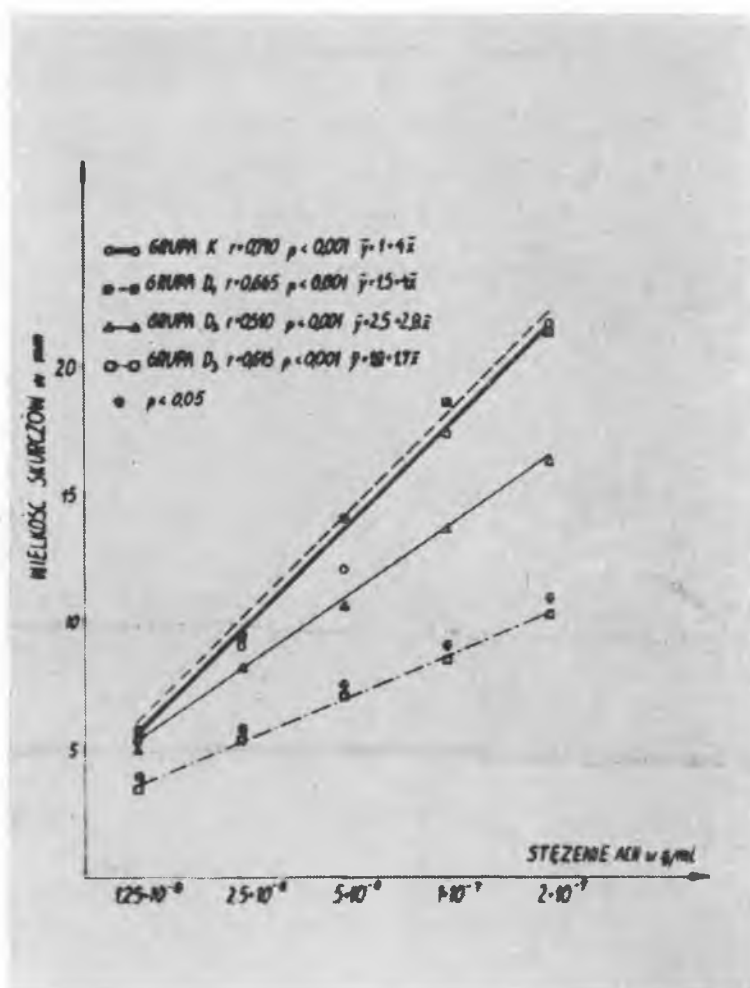
Badania dotyczące wpływu NA przeprowadzono na izolowanym sercu szczura metodą Langendorffa w modyfikacji Wiegnerhausera (19). W lekkiej narkozie eterowej otwierano zwierzętom klatkę piersiową, wyizolowane serce umieszczano w aparacie Langendorffa i perfundowano natlenionym płynem Ringer-Krebsa ogrzanym do temperatury 37°C. Po 10 min. okresie adaptacji wprowadzono do kaniuli aortalnej wzrastające dawki w g (1×10^{-12} ; 1×10^{-10} ; 1×10^{-8} ; 1×10^{-6} ; 1×10^{-4}) NA (B.D.H. Ltd). Zwierzęta podzielono na grupę kontrolną i 5 grup doświadczalnych, liczących od 5—10 zwierząt. W grupach doświadczalnych perfundowano serce płynem Ringer-Krebsa, w którym zamieniano 12,5% (grupa D₁), 25% (grupa D₂) lub 50% (grupa D₃) chlorku sodu ekwimolarnymi ilościami chlorku litu, względnie 25% (grupa D₄) lub 50% (grupa D₅) TRIS (Fluka AG. Buchs SG) doprowadzonego do pH 7,2 roztworem kwasu solnego. Mierzono wielkość przepływu przez tętnice wieńcowe oraz amplitudę i liczbę skurczów w ciągu 1 min. przed podaniem i po podaniu NA. Wyniki zestawiono w postaci średnich i opracowano statystycznie posługując się t-testem Studenta.

WYNIKI

Wrażliwość na Ach wyosobnionego jelita cienkiego szczura nie ulega zmianie w grupie D₁. Natomiast w grupie D₂ występuje wyraźne zmniejszenie zarówno amplitudy skurczów, jak i ich wielkości. Jednakże statystycznie istotne różnice występują dopiero w grupie D₃ (ryc. 1).

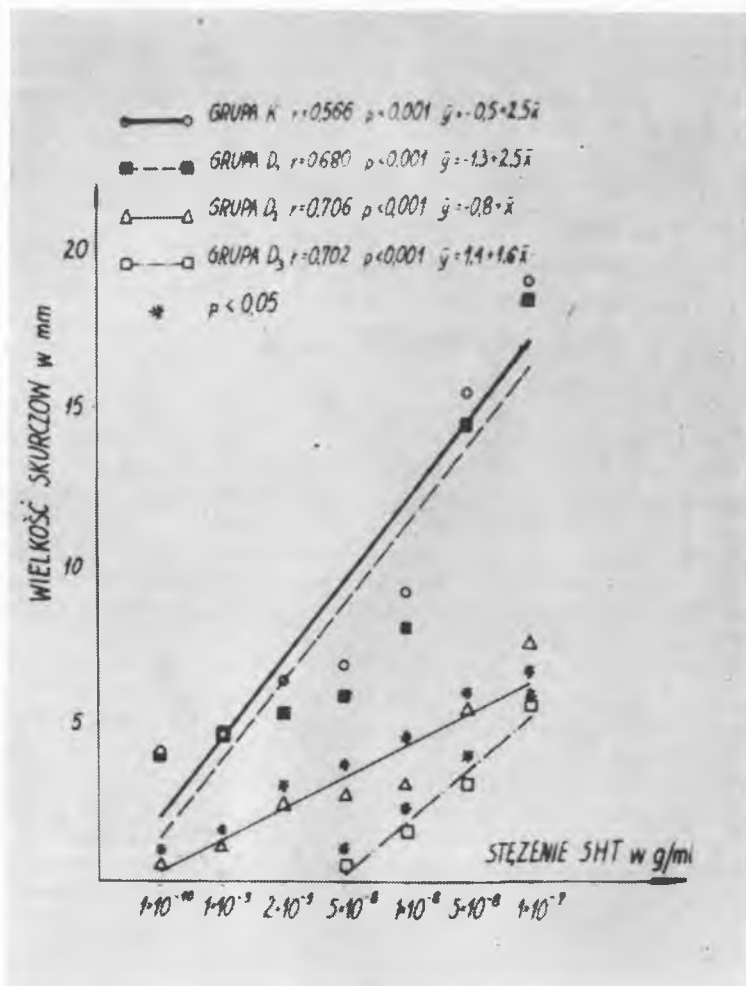
Wrażliwość wyosobnionego jelita cienkiego na 5-HT nie ulega zmianie w grupie D₁. Natomiast w grupach D₂ i D₃ po zastosowaniu 5-HT stwierdzono istotne zmniejszenie wielkości skurczów (ryc. 2).

Chlorek litu stosowany w trzech różnych stężeniach zmniejsza istotnie liczbę skurczów wyosobnionego serca szczura zarówno przed, jak i po podaniu NA (ryc. 3). Chlorek litu nie wpływa na przepływ wieńcowy w grupie D₁, natomiast w grupach D₂ i D₃ zmniejsza go. Jednocześnie chlorek litu nieznacznie zmniejsza działanie NA na przepływ wieńcowy



Ryc. 1. Wpływ chlorku litu na wrażliwość wyisobnionego jelita cienkiego szczura na acetylocholinę
Influence of lithium chloride on the sensitivity of isolated rat jejunum to acetylcholine

w grupach D₂ i D₃ (ryc. 4). W przeciwieństwie do tego chlorek litu powoduje istotne zmniejszenie amplitudy skurczów we wszystkich grupach doświadczalnych (ryc. 5). Zamiana 25% chlorku sodu przez TRIS (grupa D₄) nie wywołuje zmian w liczbie skurczów serca, ale, podobnie jak chlorek litu, zmniejsza istotną wrażliwość na NA (ryc. 6). Jak wynika z ryc. 7, TRIS (grupa D₄) powoduje w części doświadczeń istotne zmniejszenie przepływu wieńcowego oraz zmniejszenie wrażliwości na NA. W przeciwieństwie do tego w grupie D₂ nie stwierdzono zmian w przepływie po

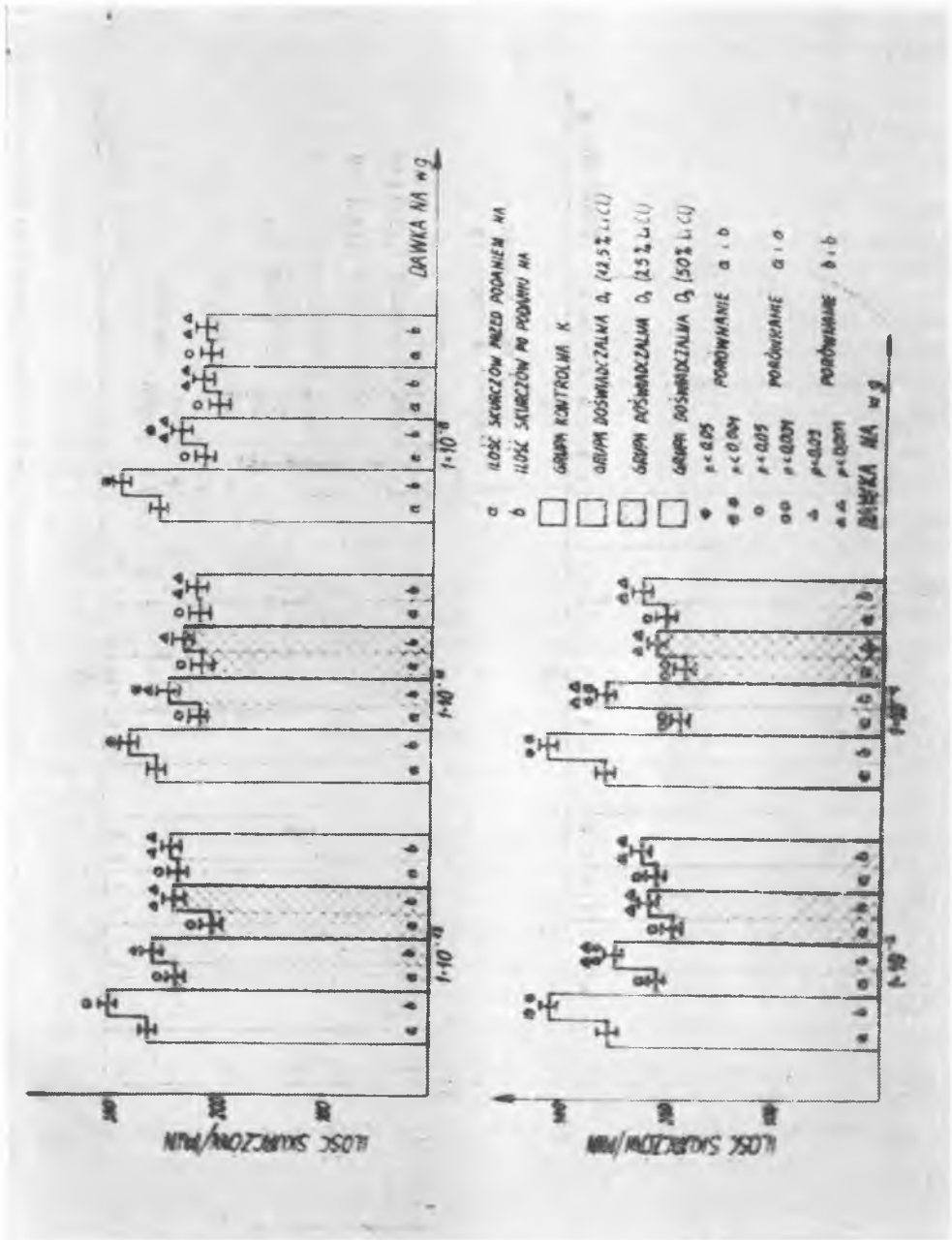


Ryc. 2. Wpływ chlorku litu na wrażliwość wyosobnionego jelita cienkiego szczura na 5-hydroksytryptaminę
 Influence of lithium chloride on the sensitivity of isolated rat jejunum to 5-hydroxytryptamine

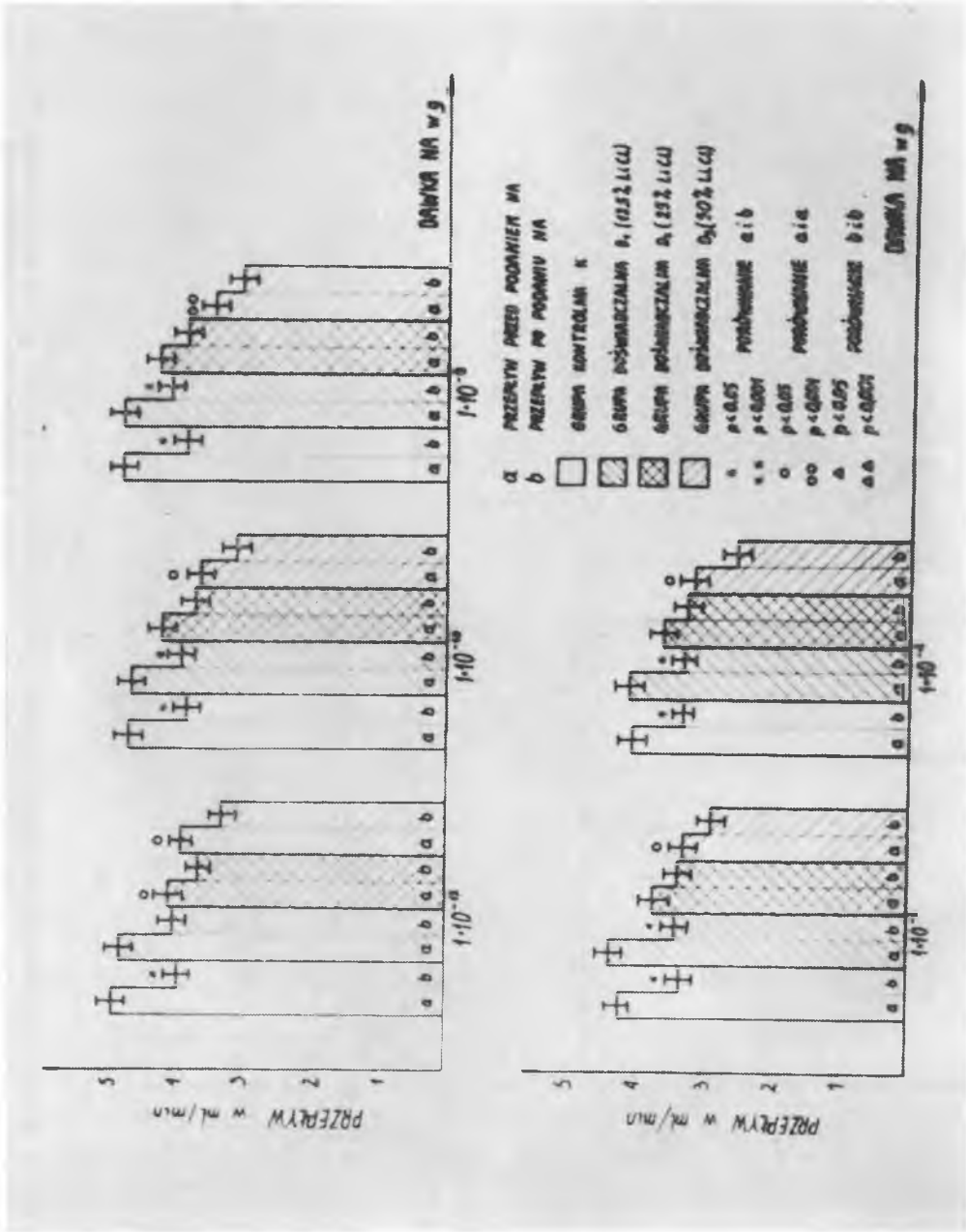
zastosowaniu NA. Odnośnie wielkości amplitudy skurczów działanie chlorku litu (grupa D₂) jest nieco silniejsze od działania TRIS-u (grupa D₄) (ryc. 8). Zastosowanie TRIS-u w stężeniu wynoszącym 50% chlorku sodowego powoduje zatrzymanie akcji serca.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

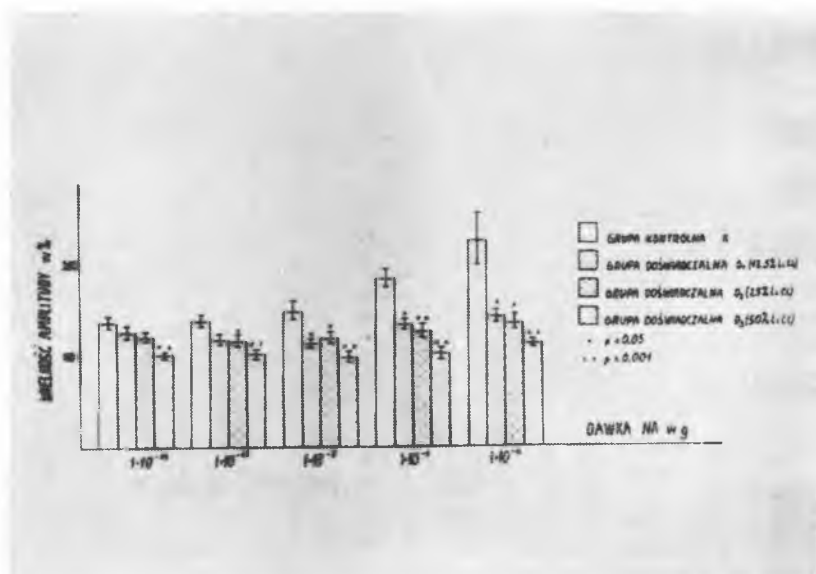
Z przedstawionych badań wynika, że zmiana wrażliwości na Ach i 5-HT wyosobnionego jelita cienkiego szczura oraz na NA wyosobnionego



Ryc. 3. Wpływ noradrenaliny na ilość skurczów wyosobnionego serca szczura pod danego działaniu chlorku litu
Influence of noradrenaline on the rate of isolated rat heart after lithium chloride

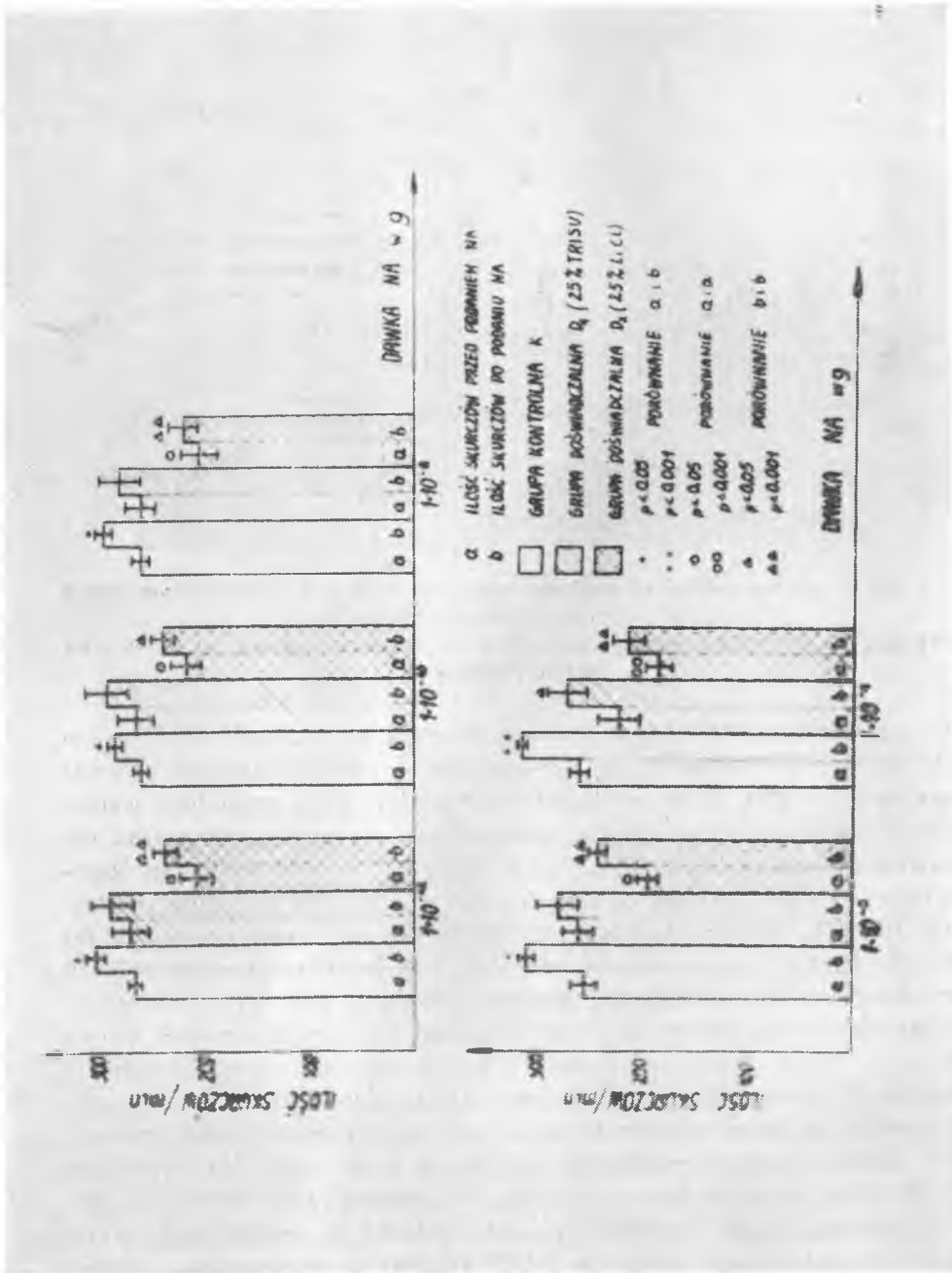


Ryc. 4. Wpływ noradrenaliny na przepływ wieńcowy wysohnionego serca szczura poddanego działaniu chlorku litu
 Influence of noradrenaline on the coronary flow of isolated rat heart after lithium chloride

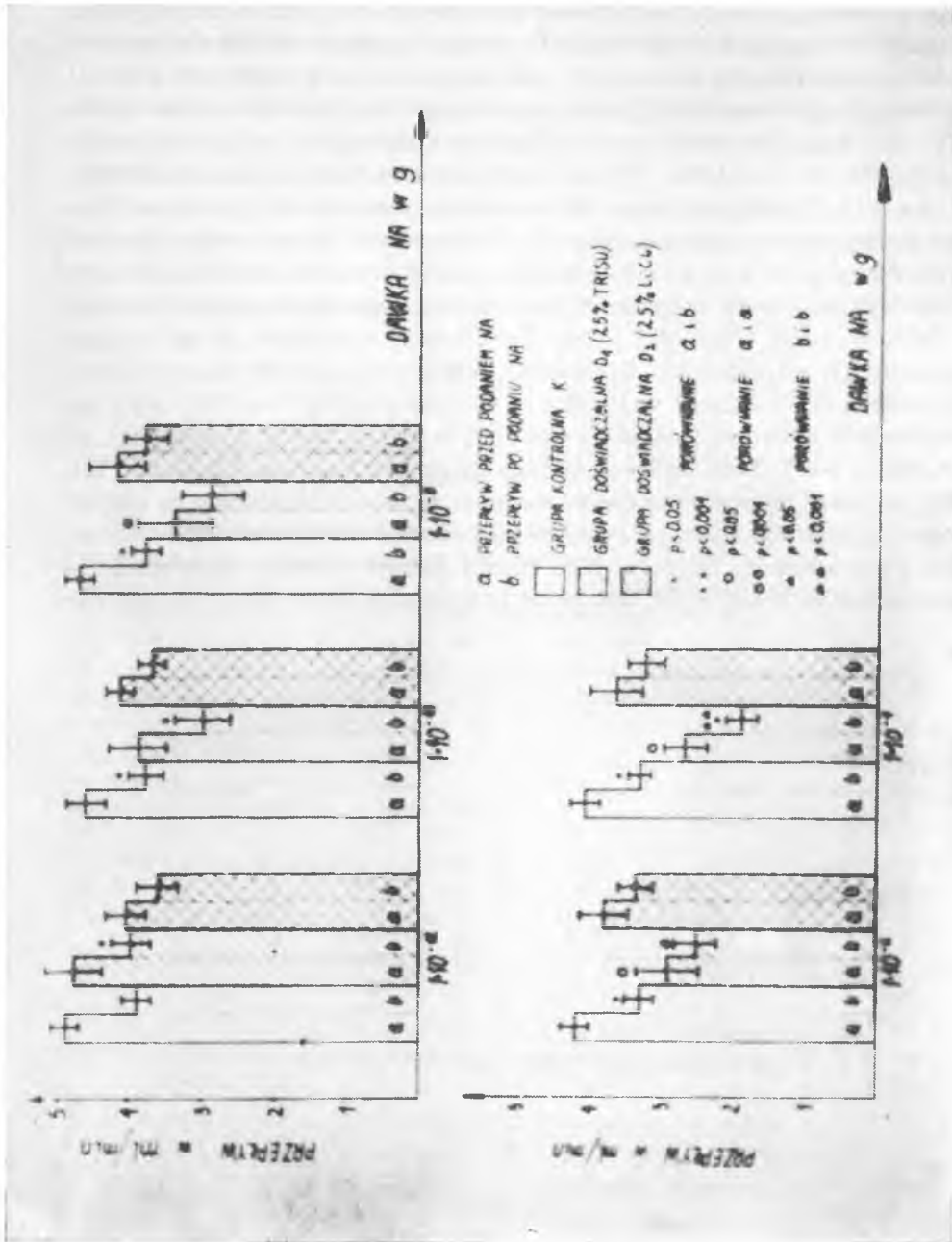


Ryc. 5. Wpływ noradrenaliny na wielkość amplitudy skurczów wyosobnionego serca szczura poddanego działaniu chlorku litu
Influence of noradrenaline on the contraction amplitude of isolated rat heart after lithium chloride

serca szczura może być spowodowana obecnością litu bądź częściowym niedoborem jonów sodu. Za tą pierwszą koncepcją przemawiają badania Z a s z t o w t a (20), który wykazał, że niedobór sodu powoduje wzrost napięcia mięśni gładkich macicy, podczas gdy w naszej pracy albo nie obserwowano zmian napięcia, albo też następowało jego obniżenie. Również badania A x e l l s o n a (2, 3) wykazały, że jony litu powodują zmniejszenie napięcia mięśni gładkich jelit. Uzyskane w naszej pracy wyniki wykazują istotne różnice między grupami, w których zamieniono chlorek sodu chlorkiem litu i TRIS-em. Wynika z tego, że taki sam procentowy niedobór jonów sodowych przy zastosowaniu obu wymienionych związków daje różne efekty w czynności wyosobnionego serca. Wyniki te wskazują na niewątpliwe działanie jonów litu, jakkolwiek nie wykluczają one zupełnie wpływu niedoboru jonów sodu na czynności wyosobnionego serca. Istnieje również możliwość wypierania przez jony litu jonów potasu. Wstępne nasze badania wykazują, że zamiana jonów potasu w płynie odżywczym przez jony litu również prowadzi do zmniejszenia wrażliwości wyosobnionego jelita na 5-HT. Wyniki te potwierdzają istotne działanie jonów litu. To działanie jonów litu dotyczy wszystkich stosowanych mediatorów. Mechanizm działania jonów litu niewątpliwie jest ściśle związany z jego podobieństwem chemicznym do pozostałych potasowców.

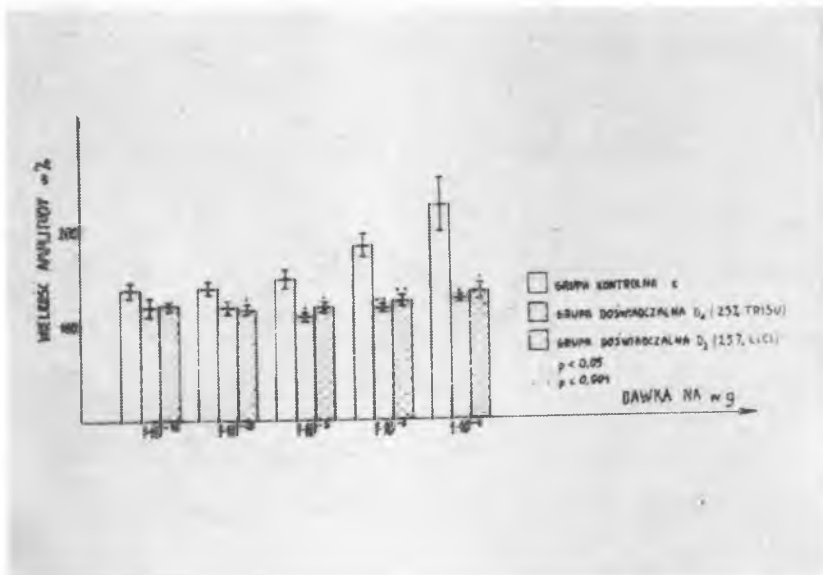


Ryc. 6. Wpływ noradrenaliny na ilość skurczów wyosobnionego serca szczura pod danego działania chlorku litu lub Trisu
 Influence of noradrenaline on the rate of the isolated rat heart after lithium chloride or Tris



Ryc. 7. Wpływ noradrenaliny na przepływ wieńcowy wyosobnionego serca szczura poddanego działaniu chlorku litu lub Trisu
 Influence of noradrenaline on the coronary flow of isolated rat heart after lithium chloride or Tris

Szczególnie istotne w mechanizmie jego działania jest zaburzenie równowagi jonowej, zmiana potencjałów błonowych, względnie zmniejszenie wrażliwości receptorów: acetylocholinowego, katecholaminowego i serotoninowego. Zaburzenie równowagi jonowej prowadzi do zaburzeń szeregu procesów enzymatycznych, a między innymi do zahamowania rozpadu ATP, co z kolei prowadzi do niedoboru wystarczającej energii dla pracy poszczególnych narządów. Przemawiają za tym badania Czekanowskiego (7, 8), który wykazał zahamowanie przez sole litu zużycia tlenu oraz podwyższenie poziomu związków fosforowych w tkankach, oraz badania Fornai i Valdecasa (9), którzy wykazali hamowanie adenylcyklazy w mózgu szczura. Niezależnie od tego warto zwrócić uwagę na fakt, że wiele własności fizykochemicznych upodabnia lit do wapnia i pozostałych wapniowców. Prowadzić to może również do zmiany poziomu wapnia czy magnezu w tkankach, co niewątpliwie może się odbić na kurczliwości, a zatem i na obserwowanej w naszej pracy wrażliwości na Ach, NA i 5-HT. Potwierdzeniem tego mogą być badania Absawy (1), który wykazał, że zmiany stężenia dwuwartościowych kationów są wprost proporcjonalne do rozwoju ruchowego pobudzenia wywołanego amfetaminą i pipradrolem. Zdaniem tego autora zmiana stężenia dwuwartościowych kationów może mieć wpływ na przenikanie przez błony biologiczne



Ryc. 8. Wpływ noradrenaliny na wielkość amplitudy skurczów wyosobnionego serca szczura poddanego działaniu chlorku litu lub Trisu

Influence of noradrenaline on the contraction amplitude of isolated rat heart after lithium chloride or Tris

jonów sodu i potasu. Wreszcie jako ostatni wariant działania jonów litu należy wymienić zaburzenie metabolizmu mediatorów. I tak odnośnie NA Szanberg (18) wykazał, że jony litu powodują przesunięcie metabolizmu NA z O-metylacji do dezaminacji, a tym samym zmniejszenie ilości NA w okolicy receptora. Najprawdopodobniej w końcowym efekcie działania jonów litu biorą udział wszystkie wymienione mechanizmy, które przecież mogą wzajemnie oddziaływać.

Reasumując, należy stwierdzić, że sole litu obdarzone są swoistym farmakologicznym działaniem prowadzącym do zmniejszenia wrażliwości na Ach, 5-HT i NA i częściowo wykluczają przypuszczenie, że działanie to może być spowodowane niedoborem jonów sodu.

PIŚMIENNICTWO

1. Absawa W. A.: *Farmakol. i Toksykol.* **36**, 176—179, 1973.
2. Axellson J., Bülbiring E.: *J. Physiol.* **149**, 50 p, 1959.
3. Axellson J.: *J. Physiol.* **158**, 381—398, 1961.
4. Bunney W. E., Goodwin F. R., Davis J. M., Fawcett J. A.: *Amer. J. Psychiat.* **125**, 499—512, 1968.
5. Cade J. F. J.: *Med. J. Aust.* **36**, 349—352, 1949.
6. Corcoran A. C., Taylor E. D., Page I.: *J.A.M.A.* **139**, 685—688, 1949.
7. Czekanowski R.: *Gin. Pol.* **38**, 1353—1360, 1967.
8. Czekanowski R.: *Gin. Pol.* **38**, 1361—1367, 1967
9. Forn J., Valdecasas F. G.: *Bioch. Pharmacol.* **20**, 2773—2779, 1971.
10. Gershon S., Yuwiler A.: *J. Neuropsychiat.* **1**, 229—241, 1960.
11. Greenspan K., Aranoff M. S., Bogdański B. F.: *Pharmacology* **3**, 129—136, 1970.
12. Lange C.: *Hospitalstidende* **5**, 69—83, 1897.
13. Lauter H.: *Med. Welt* **24**, 90—94, 1973.
14. Lipovitz A.: *Am. Chem. Pharm.* **38**, 348—355, 1841.
15. Maggs R.: *Brit. J. Psychiat.* **109**, 56—65, 1963.
16. Rockwood E. W., Van Epps C.: *Amer. J. Physiol.* **19**, 97—107, 1907.
17. Schildkraut J. J., Schanberg S. M., Kopin I. J.: *Life Sci.* **5**, 1479—1484, 1966.
18. Schanberg S. M., Schildkraut J. J., Kopin I. J.: *Biochem. Pharmacol.* **16**, 393—399, 1967.
19. Wiegnerhausen B.: *Acta Biol. Med. Germ.* **9**, 517—533, 1962.
20. Zasztowt O.: *Gin. Pol.* **35**, 189—196, 1964.

Otrzymano 10 IV 1973.

РЕЗЮМЕ

В аппарате для исследования изолированных органов изучалось влияние разных концентраций ацетилхолина и 5-гидрокситриптамина изолированные отрезки тощей кишки крысы. Отрезки кишки помещали в

питательном растворе, в котором 12,5, 25 или 50% хлористого натрия заменяли эквимолярными количествами хлористого лития. Аналогические эксперименты были проведены на изолированном по методу Лангендорфа сердце крысы.

Доказано, что в случае кишки применение питательного раствора, содержащего 25 или 50% хлористого лития, вызывает уменьшение чувствительности исследованного органа на ацетилхолин и 5-гидрокситриптамин, а в случае сердца — на норадреналин. Кроме того, доказано, что частичная замена в питательном растворе хлористого натрия хлористым литием или TRIS вызывает разные изменения в чувствительности изолированного сердца на норадреналин.

S U M M A R Y

In an isolated organ bath the influence of various concentrations of acetylcholine (Ach) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) on the isolated jejunum of a rat was investigated. The jejunum was placed in a nutritional solution, in which 12.5%, 25% or 50% of NaCl was replaced by the equimolar quantities of LiCl. Similar investigations were carried out after various doses of noradrenaline (Na) were administered on the isolated rat heart using Langendorff's method. It was observed that in the case of the isolated jejunum, the application of a nutritional solution containing 25% or 50% LiCl brought about a decrease in the sensitivity of the examined organ to Ach and 5-HT and in the case of the heart to NA. Moreover it was found that partial replacement of NaCl or Tris in the nutritional solution caused different changes in the sensitivity of the isolated rat heart to Na.