

Katedra i Zakład Fizjologii Człowieka. Wydział Lekarski. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr Wiesław Hołubut

Stanisław Zbigniew ŁOZOWSKI

**Działanie rozkurczowe katecholamin na jelito cienkie królika pod wpływem uprzednio
podanych aminokwasów**

Расслабляющее действие катехоламинов на тонкую кишку кролика под влиянием предва-
рительно введенных аминокислот

Relaxing Action of Catecholamines on the Small Intestine of the Rabbit under the Influence of the
Previously Applied Aminoacids

Obecne badania nad wpływem aminokwasów na rozkurczowe reakcje jelita cienkiego królika wywołane następczym podaniem adrenaliny i noradrenaliny są dalszym etapem badań nad potęgowaniem hamującego działania katecholamin na mięśnie gładkie i mają na celu stwierdzenie czy sposób podania aminokwasów ma wpływ na potęgowanie efektu katecholaminowego. W poprzednich badaniach (6) podawano katecholaminy i aminokwasy jednocześnie i stwierdzono przedłużenie hamującego działania katecholamin na czynność skurczową jelita.

Nieliczne są dotychczas prace, w których opisano potęgowanie rozkurczowego działania katecholamin na mięśnie gładkie. Efekt taki obserwowano po kokainie na jelicie psa (3), po progesteronie na macicy świnki morskiej (2), po histaminie (5) oraz po kwasie askorbinowym i glutationie na jelicie cienkim królika (6), po witaminie C na macicy myszy i szczura (8) oraz po takich aminokwasach, jak cysteina na macicy myszy (8) i alanina, glicyna, metionina i cysteina, na jelicie królika (6). W badaniach na jelicie królika (6) aminokwasy podawane jednocześnie z katecholaminami wykazały silniejsze działanie potęgujące na efekty rozkurczowe adrenaliny niż noradrenaliny oraz ujawniły pewne zróżnicowanie ich siły działania; najaktywniejszą okazała się cysteina, a następnie coraz słabszymi glicyna, metionina i alanina. Same aminokwasy nie wywierały żadnego wpływu na czynność motoryczną jelita.

Przeprowadzenie obecnych badań jest uzasadnione ze względu na to, że niejednoczesne podanie współdziałających substancji może mieć istotny wpływ nie tylko na reakcję narządu, ale i sposób działania badanych substancji. Przekonano się o tym w badaniach, w których jednoczesne działanie histaminy i noradrenaliny na jelito królika miało zupełnie odwrotny efekt niż opóźnione podanie histaminy w stosunku do noradrenaliny (5).

METODY

Badania przeprowadzono metodą dla narządów wyosobnionych na odcinkach jelita krętego królika utrzymywanego przy życiu w natlenionym płynie Tyroda. W doświadczeniach rejestrowano

kimograficznie spontaniczną czynność skurczową jelita w warunkach izotonicznych i obserwowano reakcję po samych katecholaminach oraz podanych 60 sekund po aminokwasach. Postępując w ten sposób przebadano każdy aminokwas w toku 10 doświadczeń.

Doświadczenia przeprowadzono osobno dla adrenaliny (Polfa) i osobno dla noradrenaliny (Levonor, Polfa), które podawano zawsze w dawce 10 μg , natomiast stosowane aminokwasy — alaninę (Hemapol), glicynę (Labor), metioninę (Mann Res. Lab.) i cysteinę (Schuchard) — podawano w dawce 500 μg . Katecholaminy i aminokwasy podawano w roztworze fizjologicznym w objętości 0,5 ml.

Wielkość reakcji określano na podstawie czasu trwania pokatecholaminowego rozkurczu jelita. Czas liczono od momentu podania katecholamin do chwili powrotu wydłużonego jelita do początkowej długości. Na kimogramach za wartość wyjściową brano dolny poziom zapisu kimograficznego skurczów spontanicznych jelita przed podaniem hormonów katecholowych. Uzyskane wyniki liczbowe poddano analizie statystycznej, oznaczając istotność różnic między średnimi za pomocą odpowiednich funkcji testowych t — Studenta.

WYNIKI

Dane doświadczalne odnośnie wpływu badanych aminokwasów na rozkurczowe wydłużenie jelita cienkiego królika, wywołane zarówno adrenaliną jak i noradrenaliną, zebrane są w załączonej tabeli, natomiast zachowanie się czynności skurczowej jelita pod wpływem katecholamin samych i podanych 60 sekund po aminokwasach pokazują przykładowo na ryc. 1 miogramy z doświadczenia przeprowadzonego z cysteiną.

Co się tyczy wpływu samych katecholamin, to okazało się, że siła hamującego działania noradrenaliny jest większa niż adrenaliny. Siła ta mierzona czasem rozkurczowego wydłużenia jelita wynosiła średnio 35 sek. w wypadku noradrenaliny, podczas gdy w wypadku adrenaliny tylko 20 sekund. Powyższe ilościowe różnice zachodzące między adrenaliną i noradrenaliną okazały się statystycznie istotne ($P < 0,01$).

Z materiału wyników doświadczalnych zebranych w tab. 1 wynika, że wszystkie aminokwasy w dawce 500 μg przedłużają bardzo wyraźnie ($P < 0,001$) okres pokatecholaminowego rozkurczu jelita. Pod wpływem uprzedniego podania aminokwasów następował duży przyrost czasu trwania hamującego działania hormonów katecholowych na czynność ruchową jelita względem czasu trwania efektu po samych katecholaminach. W doświadczeniach z adrenaliną, pod wpływem alaniny przyrost ten wynosił 110 sek., co stanowi 5,5-krotny wzrost czasu rozkurczu jelita, glicyna i metionina powodowały ponad 6-krotny wzrost wartości badanego parametru, a pod wpływem cysteiny następował aż 13-krotny wzrost czasu adrenergicznego rozkurczu jelita. W doświadczeniach z noradrenaliną pod wpływem alaniny przyrost czasu trwania wydłużenia jelita wynosił 115 sek., co stanowi ponad 3-krotny wzrost wartości średniej po samej noradrenalinie. Glicyna i metionina przedłużały noradrenalinowy rozkurcz około 4-krotnie, natomiast cysteina powodowała 8-krotny wzrost rozkurczowego działania noradrenaliny na jelito królika.

Porównanie wykazanych powyżej wielokrotności wzrostu czasu trwania efektu rozkurczowego obu katecholamin wykazuje, że aminokwasy silniej potęgowały rozkurczowe działanie adrenaliny niż noradrenaliny.

Tab. 1. Porównanie wpływu samej adrenaliny (A) i noradrenaliny (NA) oraz tych katecholamin działających w obecności uprzednio (60 sek.) podanych aminokwasów na rozkurczowe wydłużenie jelita cienkiego królika. Katecholaminy podawano w dawce 10 μ g, a aminokwasy w dawce 500 μ g; x — średnia arytmetyczna, o — odchylenie standardowe, n — liczebność, P — prawdopodobieństwo

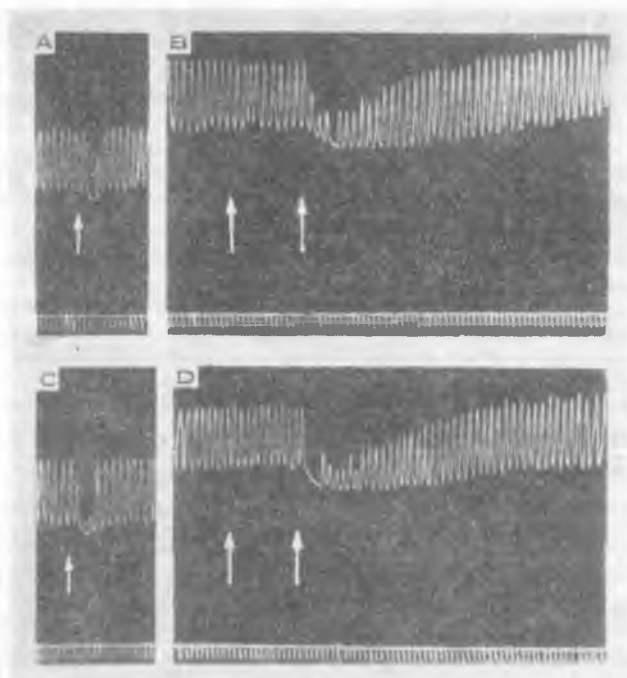
Comparison between the relaxing effect of adrenaline (A) and noradrenaline (NA), and the effect of both catecholamines acting together with the previously applied aminoacids on the small intestine of the rabbit. Catecholamines were applied in a dose of 10 μ g, aminoacids in a dose of 500 μ g; x — arithmetic mean, o — standard deviation, n — number of experiments, P — probability

Katecholaminy	Czas rozkurczowego wydłużenia jelita w sek.		Wskaźnik istotności różnicy między A i NA
	A	NA	
x \pm σ n = 20	20 \pm 7,4	35 \pm 9,8	P < 0,01
Średnie przyrosty czasu rozkurczowego wydłużenia jelita w sek.			
Katecholaminy + alanina n = 10	110	115	P > 0,2
Katecholaminy + glicyna n = 10	125	130	P > 0,4
Katecholaminy + metionina n = 10	130	145	P > 0,5
Katecholaminy + cysteina n = 10	265	275	P > 0,9

Z porównania średnich wartości przyrostów czasu działania rozkurczowego obu katecholamin (patrz tabela) wynika, że ilościowa przewaga noradrenaliny nad adrenaliną, występująca w doświadczeniach kontrolnych, utrzymuje się również na korzyść noradrenaliny w działaniu katecholamin potęgowanym przez wszystkie aminokwasy, ale wartość różnicy zachodząca między oboma katecholaminami w warunkach potęgowania ich działania nie jest statystycznie znamienne.

Badania wykazały, że poszczególne aminokwasy różnią się między sobą siłą potęgującego działania. Jak wynika z danych doświadczalnych (tab. 1), najsilniejsze działanie agonistyczne w stosunku do obu katecholamin wykazała cysteina, a następnie coraz słabsze metionina, glicyna i alanina.

Same aminokwasy, podane bez amin katecholowych, nie wywierały żadnego wpływu na motorykę jelita. Przykładem tego są miogramy przedstawiające zachowanie się czynności skurczowej jelita po podaniu cysteiny (ryc. 1).



Ryc. 1. Działanie samych katecholamin na motorykę wyosobnionego jelita cienkiego królika (A, C) oraz pod wpływem uprzednio podanej cysteiny (B, D). Miogram A: strzałka oznacza moment podania 10 µg adrenaliny; miogram B: strzałka lewa — 500 µg cysteiny, strzałka prawa — 10 µg adrenaliny; miogram C: 10 µg noradrenaliny; miogram D: strzałka lewa 500 µg cysteiny, strzałka prawa — 10 µg noradrenaliny; zapis czasu co 5 sekund

Effect of catecholamines on the motility of the isolated small intestine of the rabbit (A, C) and their effect modified by the previously applied cysteine (B, D). Miogram A: arrow points to the moment of the application of adrenaline in a dose of 10 µg; miogram B: left arrow — 500 µg of cysteine, right arrow — 10 µg of adrenaline; miogram C: 10 µg of noradrenaline; miogram D: left arrow — 500 µg of cysteine, right arrow — 10 µg of noradrenaline; time marker—every 5 sec.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Potęgujące działanie aminokwasów na wywołane następczo podanymi katecholaminami reakcje rozkurczowe jelita cienkiego królika jest podobne do efektów wywołanych jednoczesnym podaniem tych samych środków (6, 8). Przy uprzednim i jednoczesnym podaniu aminokwasy potęgowały hamujący efekt katecholamin na mięśnie gładkie jelita, wykazując silniejsze działanie agonistyczne w kierunku adrenaliny niż noradrenaliny. Najaktywniejszym aminokwasem okazała się cysteina, a najsłabszym alanina, natomiast metionina i glicyna różniły się pod względem

aktywności bardzo nieznacznie. Nie stwierdzono więc zasadniczej różnicy jakościowej w działaniu aminokwasów na rozkurczowy efekt katecholaminowy w zależności od tego czy są one podawane jednocześnie czy uprzednio względem katecholamin. Obecne badania potwierdziły jeszcze raz, że aminokwasy potęgują rozkurczowe działanie hormonów katecholowych na mięśnie gładkie przewodu pokarmowego.

Przewaga noradrenaliny nad adrenaliną w obecności aminokwasów jest prawdopodobnie związana z silniejszym działaniem tej katecholaminy na mięśnie jelita. Brak istotności w różnicy działania adrenaliny i noradrenaliny w warunkach potęgowania w porównaniu ze znamioną różnicą obserwowaną w badaniach kontrolnych, można by wiązać z silniejszym potęgowaniem przez aminokwasy efektu adrenaliny niż noradrenaliny.

Mechanizm agonistycznego działania aminokwasów względem katecholamin jest trudny do wyjaśnienia. Potęgowanie efektu rozkurczowego katecholamin przez cysteinę polega prawdopodobnie na przedłużeniu ich aktywności dzięki blokowaniu utleniającego działania żelaza obecnego w białkowym kompleksie receptorowym (4) przez grupę tiolową cysteiny, posiadającą właściwości redukujące (7). Jeśli chodzi o sposób działania alaniny, glicyny i metioniny to przypuszcza się, że aminokwasy te chronią pierścień fenolowy katecholamin przed utlenieniem katalizowanym przez jony takich metali jak miedź, żelazo i in. Inaktywacja tych jonów zachodzi przypuszczalnie przez tworzenie powiązań chelatowych z aminokwasami (4).

Wspólną cechą wszystkich aminokwasów w mechanizmie działania potęgującego jest ochronny wpływ na katecholaminy przed ich utlenieniem i unieczynnieniem przez jony metali wchodzące w skład receptora adrenergicznego lub też, co nie jest wykluczone, przez enzymy istotne dla metabolizmu i inaktywacji katecholamin, katechoło-O-metylotransferazę (COMT) i monoaminooksydazę (MAO) (1).

WNIOSKI

1. Czas trwania rozkurczowego wydłużenia jelita cienkiego królika wywołanego noradrenaliną jest w istotny sposób dłuższy od czasu rozkurczu wywołanego adrenaliną.

2. Alanina, glicyna, metionina i cysteina przedłużały w istotny sposób następcze efekty rozkurczowe adrenaliny i noradrenaliny. Najsilniejsze potęgujące działanie wykazała cysteina, a następnie coraz słabsze metionina, glicyna i alanina.

3. Ilościowa przewaga noradrenaliny nad adrenaliną jest zachowana przy wszystkich aminokwasach, ale jej poziom nie leży w granicach znamienności.

4. Przypuszcza się, że głównym mechanizmem potęgowania rozkurczowego działania adrenaliny i noradrenaliny jest ochronne działanie aminokwasów przed utlenieniem i unieczynnieniem katecholamin.

PIŚMIENNICTWO

1. Axelrod J., Tomchick R.: *J. Biol. Chem.* **233**, 702–705, 1958.
2. Cieciorowska A.: *Acta Med. Polon.* **3**, 361–375, 1962.
3. Gruber C. M., Mathews R. J.: *Arch. Exp. Path. u. Pharmacol.* **219**, 110–112, 1953.

4. Imaizumi R., Hashimoto I., Oka M.: *Nature* **191**, 186–187, 1961.
5. Łozowski S. Z.: *Annales Univ. M. Curie Skłodowska. Lublin, Polonia. Sec. D.* **23**, 121–130, 1968.
6. Łozowski S. Z.: *Acta Physiol. Polon.* (w druku).
7. Roston S.: *Arch. Biochem.* **85**, 74–81, 1951.
8. Shen T. C. R.: *Scientia Sinica* **12**, 1683–1688, 1962.

Otrzymano 10.VI.1970

РЕЗЮМЕ

Влияние аминокислот на последующее расслабляющее действие катехоламинов изучалось на изолированной подвздошной кишке кролика. Спонтанные сокращения кишки, погруженной в постоянно аэрированный кислородом раствор Тирода (емкость 60 мл, температура — 37°C), регистрировались в изотонических условиях.

Проведенные исследования показали, что аланин, глицин, метионин и цистеин в дозе 500 мкг существенно увеличивали время расслабления тонкой кишки, вызванного адреналином или норадреналином в дозе 10 мкг, которые применялись через 60 сек. после введения аминокислоты.

Тормозящее действие норадреналина на моторную функцию кишечника всегда сильнее, чем адреналина. Однако количественная разница между их действием, усиленным аминокислотами, была статистически несущественная по сравнению с контрольными экспериментами.

Допускается, что механизм усиливающего действия аминокислот заключается в защите катехоламинов перед окислительно-энзиматической инактивацией.

SUMMARY

The effect of the previously applied aminoacids on the subsequent relaxing action of catecholamines in the isolated ileum of the rabbit was examined. The pendular movements of the intestine suspended in 60 ml of Tyrode's solution at 37°C and gassed with O₂ were recorded under isotonic conditions.

It was found that alanine, glycine, methionine and cysteine in a dose of 500 μg markedly prolonged the duration of the intestine relaxation induced by noradrenaline and adrenaline, which were applied in a dose of 10 μg 60 sec. later. Noradrenaline always inhibited the intestine motility more strongly than adrenaline but the quantitative difference between their relaxing action potentiated by aminoacids was not significant in comparison with the results of control experiments.

It is suggested that the mechanism of the potentiating action of aminoacids consists in the protection of catecholamines against the oxidative and enzymatic inactivation.