

Ośrodkowe hamowanie werapamilem bólu jelitowego u owcy

BOGDAN FELIKS KANIA, DOROTA TOMASZEWSKA*,
MARIUSZ NIEMIEC**, KATARZYNA TATARSKA

Pracownia Fizjo-Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej Katedry Nauk Fizjologicznych
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

*Zakład Neurofizjologii Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN, ul. Instytucka 3, 05-110 Jabłonna k. Warszawy

**Grodziskie Zakłady Farmaceutyczne POLFA Sp. z o.o., Oddział w Żyrardowie, ul. Mickiewicza 21/25, 96-300 Żyrardów

Kania B. F., Tomaszewska D., Niemiec M., Tatarska K.

Verapamil central inhibition of jejunal pain in sheep

Summary

The influence of disadvantageous effects of duodenal distension (performed with a rubber balloon filled with 40 ml water - DD40) was investigated in this study. The effect in sheep was the atony of the forestomach at the first performance of DD40. While under general anaesthesia the animals had intracerebroventricularly cannula inserted into the lateral ventricle and duodenal fistula, as well as the ruminal fistula. A five-minute-long duodenal distension (DD40) caused an immediate and complete inhibition of reticulo-ruminal contractions, as well as nociceptive symptoms behavior, hyperventilation and tachycardia. Verapamil as such did not change the reticulo-ruminal motility, general behavior and clinical symptoms, but i.c.v. infused 10 min before DD40 at doses of 1 and/or 2 mg in toto prevented all signs of reticulo-ruminal disorders, as well as nociceptive general behaviors and clinical symptoms.

Keywords: verapamil, duodenal distension, reticulo-ruminal motility, sheep

Werapamil (fenyletylalkilamina), bloker napięciowozależnych kanałów wapniowych typu L (podobnie jak diltiazem czy nifedypina) należy do IV grupy leków przeciwaritmicznych, które hamują selektywnie wejście jonów Ca^{2+} do światła wolnych kanałów wapniowych bramkowanych napięciem i rozszerzają kapilary (4). Są środkami z wyboru do leczenia ciężkich postaci ostrych tachykardii nadkomorowych, działając silnie hamująco na przewodzenie węzła przedsionkowo-komorowego w sercu. Poza tym silnie rozszerzają tętnice wieńcowe, powodując hipotensję w hipertensji układowej. Werapamil może też znosić migotanie przedsionków u psów, stanowiąc alternatywę dla chinidyny (5).

Oprócz działań kardiologicznych werapamil oraz przedstawiciele innych grup chemicznych antagonistów napięciowozależnych kanałów wapniowych typu L, jak nifedypina (pochodna dihydropirydyny) czy diltiazem (pochodna 1,5-benzotiazepiny), zwiększają przeciwbólne działania morfiny (15). Zapobiegają też rozwojowi zależności morfinowej oraz wystąpieniu zespołu abstynencyjnego (1, 18) zarówno u ludzi, jak i u zwierząt (20, 22). Leki te same *per se* wykazywały działania przeciwbólne na modelu bólu przewlekłego typu neuropatycznego u gryzoni. Jednakże działały słabo analgetycznie lub wcale na modelu bólu fazowego (20). Werapamil oraz flunaryzyna działały prze-

ciwbólowo w teście gorącej płytki u myszy (27) zarówno po zastosowaniu obwodowym, jak i ośrodkowym (15, 16). Zatem działanie przeciwbólne antagonistów napięciowozależnych kanałów Ca^{2+} może nie być działaniem bezpośrednim na receptory opioidowe, lecz wynikać z ośrodkowych roli Ca^{2+} w transmisji czucia bólu (20).

Duże zgęszczenie napięciowozależnych kanałów Ca^{2+} , regulowanych potencjałem błonowym i o dużej selektywności, stwierdzono w błonach komórek mięśniowych somatycznych, serca, mięśni gładkich (w tym przewodu pokarmowego), komórek gruczołowych oraz neuronów. Zjawisko depolaryzacji błony *via* prąd wapniowy przetwarzane jest w reakcje komórkowe (6). Werapamil i inne środki hamujące kanały wapniowe typu L, np. z grupy dihydropirydyny (nifedypina, nimodypina, lerkadipina) silnie blokują uwalnianie epinefryny (E; dawniej nazywanej adrenaliną) z komórek chromafinowych rdzenia nadnerczy oraz substancji P (SP) z komórek zwojowych rdzenia kręgowego (14), co może mieć ważne znaczenie w działaniu czynnika nocyceptywnego. Sugeruje to, że w tych przypadkach uwalnianie epinefryny jest wyzwalane przez jony Ca^{2+} napływające kanałami wapniowymi (23).

Ostry ból jelitowy powodowany rozciąganiem ściany dwunastnicy bardzo silnie pobudza oś podwzgórzowo-przysadkowo-korowo-nadnerczową (uwalnianie

kortyzolu; 9) oraz współczulny układ rdzeniowo-nadnerczowy (uwalnianie katecholamin; 12). Mając to na względzie, zdecydowano sprawdzić ośrodkową komponentę analgetycznego działania werapamilu u owcy w teście mechanicznego rozciągania ściany dwunastnicy imitującego kolkę jelitową, tym bardziej, że nie napotkano w piśmiennictwie pracy traktującej o takim działaniu leku u przeżuwaczy. Dostępność tego blokeru do leczenia kardiologicznego sprawia, że zastosowanie go w zwalczaniu bólu wisceralnego wydaje się jak najbardziej zasadne, tym bardziej, że związki tego typu u zwierząt normotensyjnych powodują nieznaczną, jeśli w ogóle, hipotensję (24).

Material i metody

Przygotowanie zwierząt. Doświadczenia przeprowadzono na 6 dorosłych owcach, mieszańcach, samicach (o masie ciała 32-38 kg). Zwierzęta przygotowywane do zabiegu implantacji kaniuli oraz do rejestracji mechanograficznych były pozbawione dostępu do pokarmu przez 24 h, pojone *ad libitum*, wprowadzane w stan pentobarbitalowej anestezji (Vetbutal-Biowet, 20 mg.kg⁻¹ m.c.), w czasie której implantowano dożwaczową kaniulę silikonową. Silikonową kaniulę w kształcie litery T (średnica zewnętrzna 21 mm), umieszczano w tym samym znieczuleniu ogólnym w dwunastnicy (12 cm od odźwiernika). Następnie implantowano stalową nierdzewną kaniulę o długości 29 mm i średnicy 2 mm (kaniula prowadząca) do komory bocznej mózgu (i.c.v.) wg uprzednio opisaną szczegółowo metody (3). Po powrocie zwierząt do stanu sprzed znieczulenia ogólnego, umieszczano je w pojedynczych boksach (lub klatkach metabolicznych) o stałej temperaturze (18-20°C) na 10 dni przed planowanym eksperymentem. Zwierzęta miały stały dostęp do siana i wody oraz paszy treściwej (1 × dz., 200 g) z wyjątkiem 2 h przed i w czasie trwania eksperymentu.

Rejestracja mechanograficzna skurczów pierwotnych żwacza. Zmiany ciśnienia wewnątrz dogrzbietowego worka żwacza, zachodzące w czasie skurczów żwacza rejestrowano na papierze (ruminogram) metodą balonikową przy zastoso-

waniu elektrycznego rejestratora tensometrycznego (COMT o/Białystok, PIT 212). Częstość skurczów żwacza określano na ruminogramach w przedziałach 5-10-15 min., przed, w trakcie (5 min.) oraz 120 min. po rozszerzeniu dwunastnicy 40 ml wody (DD 40) o temp. ciała umieszczonej w gumowym baloniku o długości 10 cm.

Sposób prowadzenia doświadczeń. Doświadczenia wykonano w 4 etapach na nienakarmionych zwierzętach. Eksperymenty prowadzono w 6 powtórzeniach (n = 6). W I etapie eksperymentów, po umieszczeniu zwierzęcia w klatce i trwającej 60 min. kontrolnej rejestracji aktywności ruchowej żwacza, zwierzętom infundowano i.c.v. w ciągu 1 min. 100 µl 0,9% roztworu NaCl, po czym rozpoczynano pobieranie próbek krwi w trakcie ciągłej rejestracji aktywności motorycznej narządu wg schematu: -30, 0, 5, 10, 15, 20, 30, 60 i 120 min. (do analiz biochemicznych). W II etapie badań, po 60 min. kontrolnej rejestracji aktywności ruchowej żwacza, zwierzętom infundowano i.c.v. 1 mg werapamilu w 100 µl 0,9% NaCl. W III etapie badań, po 60 min. rejestracji aktywności skurczowej żwacza balonik napełniano wodą o temp. 38°C w objętości 40 ml (DD 40), w czasie 20 sekund, i to rozszerzenie ściany dwunastnicy utrzymywano przez 5 min., pobierając próbki krwi do analiz wg schematu podanego w I etapie pracy. Rozszerzanie ściany dwunastnicy prowadzono zawsze w 30 min. po rozpoczęciu 3. fazy mioelektrycznego zespołu migującego (MMC), który rozpoczynał się około godziny 9.30 rano (8). W IV etapie powtórzono schemat postępowania, rejestracji oraz pobierania krwi z etapu II, z tym wyjątkiem, że na 10 min. przed epizodem 5 min. DD, 6 zwierzętom infundowano w ciągu 1 min. i.c.v. werapamil w dawce 1 mg w pierwszej opcji a w drugiej serii zwierzęta otrzymały dawkę 2 mg *in toto*. Eksperymenty prowadzono w oparciu o przepisy międzynarodowe (1) oraz krajowe dotyczące ochrony zwierząt (26) na podstawie zgody III Lokalnej Komisji Etycznej (Nr 9/2001 z dnia 11.01.2001). Po zakończeniu doświadczeń zwierzęta wykorzystywano do testowania przeciwstresowego działania leków.

Obserwacje kliniczne i behawioralne dotyczyły określania zmian w liczbie oddechów, skurczów serca oraz objawów zachowania, takich jak: beczenie, moczenia, defekacje, pokładanie się, wspinanie itp. (tab. 1).

Tab. 1. Objawy towarzyszące rozszerzaniu dwunastnicy przed i po i.c.v. infuzji werapamilu w dawce 1 mg *in toto* (tj. ± 25 µg.kg⁻¹ m.c.; n = 6)

Objawy towarzyszące	-5-0		0-5		5-10		10-15		15-20		20-25		25-30 min.	
	DD	Werap + DD	DD	Werap + DD	DD	Werap + DD	DD	Werap + DD	DD	Werap + DD	DD	Werap + DD	DD	Werap + DD
Hamowanie motoryki czepco-żwacza	-	-	4+	-	4+	-	4+	2+	3+	-	±	±	-	-
Oglądanie się dookoła	-	-	3+	±	2+	±	+	+	-	+	-	-	-	-
Oddawanie kału i/lub moczu	-	-	3+	-	+	-	-	±	-	+	-	-	-	-
Ruchy głową	-	-	3+	-	+	±	-	-	-	+	-	-	-	-
Przeciąganie się	-	-	2+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Zgrzytanie zębami	-	-	2+	±	-	+	-	±	-	-	-	-	-	-
Pokładanie się	-	-	2+	-	+	-	-	±	-	-	-	-	-	-
Beczenie	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tachykardia	-	-	±	±	4+	±	4+	±	4+	±	4+	±	4+	-
Hiperwentylacja	-	-	-	-	3+	-	3+	-	3+	±	3+	-	3+	-

Objaśnienia: - brak reakcji; + sporadyczne; 2+ dość częste; 3+ częste; 4+ bardzo częste

Tab. 2. Porównanie działania infundowanego i.c.v. werapamilu w dawce 1 i 2 mg *in toto* na liczbę skurczów czepco-żwacza /5 min. w czasie i po 5 min. DD40 w porównaniu z kontrolą (n = 6)

Traktowanie	-5-0	0-5	5-10	10-15	15-30	30-60	60-120 min.
Kontrola	5,6 ± 0,2	5,8 ± 0,3	5,3 ± 0,2	6,0 ± 0,1	5,5 ± 0,2	5,8 ± 0,1	6,0 ± 0,2
Werapamil 1 mg	5,7 ± 0,3	5,7 ± 0,4	5,6 ± 0,4	6,0 ± 0,3	5,6 ± 0,4	5,9 ± 0,2	6,0 ± 0,1
DD40	6,3 ± 0,4	1,0 ± 0,2***	1,6 ± 0,6***	3,1 ± 0,6**	6,0 ± 0,4	6,1 ± 0,3	6,0 ± 0,3
Werapamil 2 mg + DD40	5,8 ± 0,3	5,8 ± 0,3	5,6 ± 0,3	3,8 ± 0,1	5,5 ± 0,2	5,5 ± 0,2	5,8 ± 0,3

Objaśnienia: kontrola – 100 µl 0,9% NaCl ($\bar{x} \pm SEM$, * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$, *** – $p \leq 0,001$)

Odczynniki. Werapamil (Verapamil hydrochloride – (50[N-(3,4-Dimethoxyphenylethyl)metylamino]-2-(3,4-dimetoxyphenyl)-2-isopropylvalerooonitrile hydrochloride – V 4629, SIGMA-RBI), USP grade – N 114, SIGMA-RBI); heparyna (Heparinum – POLFA); prokaina (2% Sol. Polocainum hydrochloricum – POLFA). Werapamil rozpuszczano w 0,9% roztworze NaCl i wstrzykiwano i.c.v. w objętości 100 µl. Brak działania samego rozpuszczalnika dla werapamilu określono też w poprzednich eksperymentach (10).

Analizę statystyczną wyników wykonano przez porównanie wartości kontrolnych z tymi, które otrzymano po zadziałaniu czynnika mechanicznego (DD) oraz uprzedniej premedykacji werapamilem, przy zastosowaniu analizy wariancji (ANOVA), a istotność statystyczną wyników oceniono testem *post hoc* Tukeya-Kramera.

Pomiar częstości skurczów serca oraz liczby oddechów. Przed rozpoczęciem eksperymentu albo manipulacji określano liczbę uderzeń serca oraz oddechów u zwierząt przy użyciu stetoskopu. Pomiaru te prowadzono po każdorazowym pobraniu materiału do analiz biochemicznych, zgodnie z procedurą opisaną w części metodycznej doświadczeń.

Wyniki i omówienie

Dokomorowa 1 min. infuzja 100 µl 0,9% roztworu NaCl (rozpuszczalnik dla werapamilu) nie wpływała istotnie na aktywność mechanograficzną czepco-żwacza określaną liczbą skurczów/5 min. Średnia liczba skurczów czepco-żwacza przed infuzją rozpuszczalnika dla werapamilu wynosiła $6,1 \pm 0,3$ c/5 min., a w 30 min. po wprowadzeniu pustego balonika do dwunastnicy wynosiła $5,9 \pm 0,7$ c/5 min. (tab. 2). Dane te nie odbiegały od średnich różnic w motoryce czepco-żwacza, określonych wcześniej dla wpływu 1 min. infuzji i.c.v. roztworu fizjologicznego (12) lub samego pobierania krwi z wcześniej zaimplantowanej kaniuli dożylniej (13). Dokomorowa 1 min. infuzja 100 µl 0,9% NaCl nie wpływała istotnie na liczbę skurczów czepco-żwacza określanych w odstępach 5 min. (tab. 2), co potwierdza też wcześniej uzyskane dane na temat wpływu tego roztworu na aktywność mioelektryczną żołądka owcy (10). Sam werapamil infundowany w ciągu 1 min i.c.v. w dawkach 1 lub 2 mg *in toto* nie zmieniał istotnie liczby cykli skurczów czepco-żwacza określanych w odstępach 5 min. (maksymalne wahania częstotliwości skurczów sięgały 5,2% (tab. 2). Trwające 5 min. mechaniczne rozciąganie ściany dwunastnicy przez wprowadzony *via* przetoka dwunastnicza 10 cm balonik wypełniany następnie 40 ml wody (DD40) powodowało natychmiastowe hamowanie

motoryki czepco-żwacza z $6,3 \pm 0,4$ w kontroli do $1,0 \pm 0,2$ c/5 min. na końcu rozciągania na czas około 15 min., średnio o 70% ($p \leq 0,001$) (tab. 2). Działanie to utrzymywało się jako znamienne hamowanie jeszcze w 15 min. od momentu zakończenia epizodu DD40 i było istotne statystycznie w porównaniu z wartościami kontrolnymi (tab. 2). Po zakończonym epizodzie DD40 pojedyncze skurcze prawie natychmiast się pojawiały, ale ich liczba nie przekraczała liczby skurczów kontrolnych. Wcześniej stwierdzono, że rozciąganie ściany dwunastnicy 40 i/lub 80 ml wody powodowało wysoce statystycznie znamienne zwiększenie stężenia kortyzolu osocznego oraz epinefryny i norepinefryny (dawniej zwanej noradrenaliną) osoczonej owiec (12). Przedstawione wyniki wskazują, że DD40 powoduje ostry ból trzewny, aktywujący oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczową oraz układ współczulno-rdzeniowo-nadnerczowy w sposób analogiczny, jak to ma miejsce w czasie stresu psychicznego bądź fizycznego u zwierząt (17). Poprzednio stwierdzono bowiem natychmiastowe, istotne statystycznie zwiększenie katecholamin nadnerczowych osocza krwi w następstwie DD, powodujące prężenie motoryki czepco-żwacza (12). W stanie DD dochodzi też do nasilenia aferencji bólowej, prowadzącej do uwalniania endogennych opioidów oraz cholecystokininy, hamujących również motorykę czepco-żwacza, tak ośrodkowo, jak i obwodowo (10). Mniej prawdopodobne jest odruchowe nasilenie hamującego motorykę działania sekretyny, uwalnianej w następstwie zmiany pH dwunastnicy w trakcie DD. Wątpliwe jest, że w trakcie DD uwalniany jest w zdrowym jelicie czynnik wzrostu nerwów (NGF) zapewniający plastyczność neuronów i tłumiący genezę wyładowań w zakończeniach nocycyptywnych wzbudzanych np. rozciąganiem ściany jelita cienkiego, gdyż to raczej cytokiny uwalniane się w mózgu w trakcie DD pełnią ważne role w nadwrażliwości trzewnej (8).

Zarówno podczas wykonywania rozciągania ściany dwunastnicy, jak też po jego zakończeniu – oprócz omówionego wcześniej hamowania motoryki czepco-żwacza – stwierdzano u zwierząt silne objawy odruchów nocycyptywnych, takie jak: oglądanie się na miejsce, w którym prowadzono DD, oddawanie kału i/lub moczu, potrząsanie głową, zgrzytanie zębami, beczenie, pokładanie się lub przeciąganie oraz stękanie (tab. 1).

Tab. 3. Wpływ 10 min. i.c.v. premedykacji werapamillem w dawce 1 i 2 mg *in toto* na tachykardię powodowaną DD40 (n = 6)

Traktowanie	-5-0	0-5	5-10	10-15	15-30	30-60	60-120 min.
Kontrola	73,0 ± 2,0	70,0 ± 2,6	70,0 ± 6,4	70,0 ± 4,2	65,0 ± 4,0	72,0 ± 3,0	73,0 ± 1,4
Werapamil 2 mg	68,6 ± 3,8	72,0 ± 2,8	71,6 ± 2,6	68,0 ± 2,0	61,0 ± 4,0	65,0 ± 3,0	66,0 ± 4,0
DD40	70,0 ± 2,0	72,0 ± 2,0	98,0 ± 5,0***	95,0 ± 3,0***	98,0 ± 6,0***	80,0 ± 2,0*	70,0 ± 3,0
Werapamil 1 mg + DD40	76,0 ± 2,0	82,0 ± 3,0	80,0 ± 2,0	78,0 ± 3,0	70,0 ± 4,0	72,0 ± 3,0	70,0 ± 2,0
Werapamil 2 mg + DD40	70,0 ± 3,0	73,0 ± 2,0	75,0 ± 3,0	73,0 ± 4	70,0 ± 3,0	75,0 ± 6,0	72,0 ± 3,0

Objaśnienia: jak w tab. 2.

Tab. 4. Wpływ 10 min. i.c.v. premedykacji werapamillem w dawce 1 i 2 mg *in toto* na czynność oddechową powodowaną DD40 (n = 6)

Traktowanie	-5-0	0-5	5-10	10-15	15-30	30-60	60-120 min.
Kontrola	26 ± 3	28 ± 4	26 ± 3	21 ± 5	25 ± 3	20 ± 4	23 ± 5
Werapamil 2 mg	27 ± 3	24 ± 2	28 ± 2	26 ± 4	25 ± 2	27 ± 2	20 ± 3
DD40	32 ± 2	42 ± 2*	42 ± 3*	45 ± 2***	43 ± 2**	40 ± 2*	36 ± 4
Werapamil 1 mg + DD40	26 ± 2	24 ± 2	26 ± 2	27 ± 3	30 ± 3	28 ± 2	26 ± 2
Werapamil 2 mg + DD40	24 ± 3	28 ± 3	28 ± 3	27 ± 4	26 ± 2	27 ± 3	22 ± 2

Objaśnienia: jak w tab. 2.

Samo wprowadzenie do dwunastnicy 10 cm długości balonika gumowego na 30 min. przed planowanym epizodem DD40, jak też i.c.v. infuzja samego werapamilu w dawce 1 i/lub 2 mg *in toto* nie wpływały w sposób istotny na częstość skurczów serca ani na czynność akcji oddechowej mierzonych w liczbach/min. Średnia ilość uderzeń serca wynosiła kolejno 73 ± 2 i 68 ± 4 (tab. 3), a liczba oddechów 26 ± 3 i 26 ± 2/min. (tab. 4). Rozciąganie ściany dwunastnicy balonikiem napelnionym 40 i/lub 80 ml wody powodowało istotne zwiększenie liczby uderzeń serca (średnio z 70 ± 2 do 92 ± 4/min.; $p \leq 0,001$) oraz liczby oddechów (średnio z 32 ± 2 do 42,4 ± 2,2/min.; $p \leq 0,001$). Działania te utrzymywały się jako istotne do 60 min. od zakończenia epizodu DD w przypadku akcji serca (tab. 3) i w przypadku oddychania (tab. 4).

Rozciąganie ściany dwunastnicy balonikiem wypełnionym wodą (DD40) w 10 min. po uprzedniej 1 min. i.c.v. infuzji werapamilu w dawce 1 i/lub 2 mg *in toto*, zmniejszało nieistotnie motorykę czepco-żwacza w stosunku do samego werapamilu; z 5,8 ± 0,3 do 5,6 ± 0,3 w 10 min. i 3,8 ± 0,1 c/5 min. w 15 min. po zakończeniu DD40, a nie z 6,3 ± 0,4 w kontroli do 1,0 ± 0,2, 1,6 ± 0,6 i 3,1 ± 0,6 c/5 min., jak to czyniło samo DD40 odpowiednio w 5, 10 i 15 min. po zakończonym epizodzie rozciągania ściany. Po premedykacji 2 mg werapamilu średnie hamowanie motoryki przedżołądka podczas prowadzonej obserwacji wynosiło -8,6% i nie miało znamion istotności statystycznej ($p \geq 0,05$) (tab. 2). Tak więc werapamil infundowany i.c.v. w ww. dawce zmniejszał istotnie statystycznie hamowanie motoryki czepco-żwacza przez 120 min. od chwili zakończenia DD w porównaniu z hamowaniem motoryki powodowanym przez samo DD40 ($p \leq 0,05$) (tab. 2). Premedykacja werapamillem w sposób zna-

mienny zapobiegała hamującemu działaniu rozciągania ściany dwunastnicy na motorykę czepco-żwacza (hamujący odruch trzewno-trzewny). Antagonista napięciowo-zależnych kanałów wapniowych typu L zniósł też nocycyptywne objawy manifestujące się pobudzeniem psychomotorycznym, jakie uwidoczniły się w czasie 5 min. epizodu DD40 (tab. 1), takie jak: chęć ucieczki z klatki, oglądanie się na miejsce działania DD, beczenie, zgrzytanie zębami, moczenia czy defekacje. Premedykacje werapamillem stosowanym i.c.v. w dawce 1 i/lub 2 mg *in toto* powodowały, że DD40 zwiększało średnią liczbę uderzeń serca z 73 ± 2,5 w kontroli do 75 ± 3,6/min., tj. o 13% ($p \geq 0,05$). Samo DD40 powodowało silne zwiększenie średniej częstości skurczów serca z 70 ± 2 w kontroli do 92 ± 4/min., tj. o 32% ($p \leq 0,01$) (tab. 3). Te same premedykacje werapamillem w dawkach 1 i/lub 2 mg *in toto* powodowały, że DD40 zwiększała średnią liczbę oddechów z 24 ± 2,5 do 24,8 ± 2,6 (tj. o 3,3%; $p \geq 0,05$). Średnia liczba oddechów spowodowanych samym DD40 zwiększała się z 32 ± 2 w kontroli do 42,4 ± 2,2/min. (tj. o 32,5%; $p \leq 0,001$). Premedykacja werapamillem zmniejszała hiperwentylację spowodowaną przez DD40 o około 30% w ciągu 120 min. obserwacji. Premedykacja natomiast zapobiegała całkowicie hiperwentylacji pojawiającej się podczas samego epizodu DD40 (tab. 4). Dowodzić to może faktu, że działanie sercowo-naczyniowe wyższych dawek werapamilu powoduje hamowanie napływu jonów Ca^{2+} do kanałów wapniowych, a to z kolei powoduje zmniejszenia napięcia układu współczulnego nadnerczy, w którego wyniku pod wpływem DD40 nie dochodzi do uwalniania katecholamin nadnerczowych do krwi oraz ich działań klinicznych w postaci tachykardii i hiperwentylacji, jak to wcześniej sugerowano (5).

Uzyskane w pracy wyniki potwierdzają wcześniejsze obserwacje świadczące o tym, że mechaniczne rozciąganie ściany dwunastnicy wyzwała ból trzewny, prowadzący do natychmiastowego hamowania motoryki żołądka oraz jelita grubego (9-11, 13). Dane te wskazują, że czynnik mechaniczny powodujący ból trzewny pobudza oś podwzgórzowo-przysadkowo-korowo-nadnerczową (uwalnianie glikokortykosteroidów), podobnie jak w stresie odosobnienia (17) oraz układ współczulno-rdzeniowo-nadnerczowy (uwalnianie katecholamin do krwi), jak to ma miejsce w stresach różnego tła (7, 25). Wyniki przedstawione w tej pracy dowiodły ośrodkowego działania przeciwbólowego werapamilu jako czołowego przedstawiciela leku kardiologicznego z grupy fenyletylalkilaminy. Biomolekularny mechanizm jego działania polega na hamowaniu wejścia jonów Ca^{2+} do światła transbłonowych kanałów bramkowanych napięciem i ich depolaryzacji, a przez to na znoszeniu kaskady wewnątrzkomórkowych procesów wapniowozależnych prowadzących do uwalniania przekazników czucia bólu (KA, kininy, SP) lub odczuwania bólu w okolicach korowych mózgu (14).

Werapamil jako specyficzny antagonistą napięciowozależnych kanałów Ca^{2+} typu L, zastosowany dokomorowo w premedykacji, na 10 min. przed zadziałaniem czynnika nocycyptywnego, zapobiegał następstwom silnej depolaryzacji neuronów i jej konsekwencjom neuroendokrynnio-biochemicznym wapniowozależnym. Wiadomo już, że diltiazem (inny typowy antagonistą kanałów napięciowozależnych Ca^{2+} , z grupy 1,5-benzotiazepin) oraz nifedypina (pochodna dihydropirydydy) zapobiegały zmasowanemu uwalnianiu KA do krwi w następstwie rozciągania ściany dwunastnicy u owcy (Kania, 2004 – dane niepublikowane). Potwierdza to pośrednio tezę, że do uwalniania KA nadnerczowych przyczyniają się jony Ca^{2+} . Dostępność tego typu leków jak werapamil sprawia, że ich stosowanie w łagodzeniu lub modulacji bólu jelitowego – w tej pracy eksperymentalnego – jest jak najbardziej zasadne i nie wymaga równoczesnego stosowania opioidu o działaniu podstawowym.

Wnioski

1. Pięciominutowe, ostre, mechaniczne rozciąganie ściany dwunastnicy hamuje motorykę czepco-żwacza (hamujący odruch trzewno-trzewny), któremu towarzyszą objawy nocycyptywne zachowania ogólnego wskazujące na pobudzenie osi współczulno-rdzeniowo-nadnerczowej, tachykardia i hiperwentylacja.

2. Werapamil infundowany dokomorowo w ciągu 1 min. w dawkach 1 i/lub 2 mg *in toto* na 10 min. przed mechanicznym rozciąganiem ściany dwunastnicy zapobiega niekorzystnym wpływom tego rozciągania na motorykę czepco-żwacza, objawom działania nocycyptywnego oraz w znacznej mierze takim z objawów klinicznych, jak tachykardia i hiperwentylacja.

3. Werapamil jako kompetycyjny antagonistą kanałów wapniowych bramkowanych napięciem może się okazać *per se* skutecznym lekiem do znoszenia bólu wisceralnego powodowanego rozciągnięciem ściany jelita.

Piśmiennictwo

1. Anon.: Principles of Laboratory Animal Care, NIH publication Nr 86-23, revised 1985.
2. Antkiewicz-Michaluk L., Michaluk J., Romańska I., Vetulani J.: Reduction of morphine dependence and potentiation of analgesia by chronic co-administration of nifedipine. *Psychopharmacol.* 1993, 111, 457-464.
3. Brikas P., Kania B. F., Fioramonti J., Buéno L.: Central and peripheral serotonergic influences on viscerovisceral inhibitory reflex during duodenal distension in sheep. *Dig. Dis. Sci.* 1993, 38, 1079-1086.
4. Catterall W. A.: Functional subunit structure of voltage-gated calcium channels. *Science* 1991, 252, 1499-1500.
5. Darke P. G. G.: Drugs used in the treatment of disorders of the cardiovascular system, [w:] Bishop Y.: The Veterinary Formulary. Pharmaceutical Press, Great Britain 2001, 343-344.
6. Diaz A., Ruiz F., Florez J., Pazos A., Hurlé M. A.: Regulation of dihydropyridine-sensitive Ca^{2+} channels during opioid tolerance and supersensitivity in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1995, 27, 1538-1544.
7. Domański E., Przekop F., Wolińska-Witort E., Mateusiak K., Chomicka L., Garwacki S.: Differential behavioural and hormonal responses to two stressors (footschocking and immobilisation) in sheep. *Exp. Clin. Endocrinol.* 1986, 88, 165-172.
8. Fioramonti J., Bueno L.: Centrally acting agents and visceral sensitivity. *Gut* 2002, 51, 191-195.
9. Kania B. F., Zaremba-Rutkowska M.: Duodenal distension as an animal model of the acute physical stress. *Pol. J. Pharmacol.* 1998, 50, 146.
10. Kania B. F., Brikas P., Béno L., Fioramonti J., Zaremba-Rutkowska M.: The evaluation of the role of CCK in the opioid modulation of the motility of the gastrointestinal tract in sheep. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 1999, 22, 153-160.
11. Kania B. F., Wrońska-Fortuna D., Romanowicz K., Matczuk J., Dębski B., Cieciera M.: Reakcja układu autonomicznego i osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej u owiec na rozszerzenie dwunastnicy. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 338-341.
12. Kania B. F., Wrońska-Fortuna D., Majcher A.: Wpływ rozszerzenia dwunastnicy na aktywność osi współczulno-rdzeniowo-nadnerczowej u owcy. *Medycyna Wet.* 2003, 59, 335-338.
13. Kania B. F., Matczuk J., Dębski B.: Ośrodkowe działanie diltiazemu – inhibitora napięciowozależnych kanałów wapniowych – w bólu jelitowym u owcy. *Medycyna Wet.* (w druku).
14. Mahata S. K., Parmer R. J., O'Connor D. T.: Vesicular monoamine transport inhibitors. *Hypertension* 1996, 28, 414-420.
15. Michaluk J., Karolewicz B., Antkiewicz-Michaluk L., Vetulani J.: Effects of various Ca^{2+} channel antagonists on morphine analgesia, tolerance and dependence, and on blood pressure in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 1998, 352, 189-197.
16. Miranda H. F., Bustamante D., Kramer V., Pelissier T., Saavedra H., Paele C., Fernandez E., Pinardi G.: Antinociceptive effects of Ca^{2+} channel blockers. *Eur. J. Pharmacol.* 1992, 217, 137-141.
17. Niezgoda J., Wrońska-Fortuna D., Wieczorek E., Bobek S., Pierzchala-Koziec K.: Reakcja układu współczulno-nadnerczowego i osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej owiec na wielokrotny stres emocjonalny. *Medycyna Wet.* 1998, 54, 334-337.
18. Omote K., Sonoda H., Kawamata M., Iwasaki H., Namiki A.: Potentiation of antinociceptive effects of morphine by calcium-channel blockers at the level of the spinal cord. *Anesthesiol.* 1993, 79, 746-752.
19. Pozo E. del, Ruis-Garcia C. A. S. J. M.: Analgesic effects of diltiazem and verapamil after central and peripheral administration in the hot plate test. *Gen. Pharmacol.* 1990, 21, 681-685.
20. Prado W. A.: Involvement of calcium in pain antinociception. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 2001, 34, 449-461.
21. Roca G., Aguilar J. C., Gomar C., Mazo V., Costa J., Vidal F.: Nimodipine fails to enhance the analgesic effect of slow release morphine in the early phases of cancer pain treatment. *Pain* 1996, 68, 239-243.
22. Santillan R., Maestre J. M., Hurlé M. A., Florez J.: Enhancement of opiate analgesia by nimodipine in cancer patients chronically treated with morphine: a preliminary report. *Pain* 1994, 58, 129-132.
23. Satoh T., Moriyama T., Kuriki H., Karaki H.: Calcium channel blocker-like action of reserpine in smooth muscle. *Jap. J. Pharmacol.* 1992, 60, 291-293.
24. Sharma J. N., Fernandez P. G., Laher I., Triggle C. R.: Differential sensitivity of Dahl salt-sensitive and Dahl salt-resistant rats to the hypotensive action of acute nifedipine administration. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1984, 62, 241-243.
25. Siegel H. S.: Stress strains and resistance. *Brit. Poultry Sci.* 1995, 36, 3-22.
26. Ustawa o ochronie zwierząt z 21.08.1997. *Dz.U.* 1997, nr 111, poz. 724.
27. Weissman R., Gestselv V., Pankova I. A., Schreiber S., Pick C. G.: Pharmacological interaction of the calcium channel blockers verapamil and flunarizine with the opioid system. *Brain Res.* 1999, 818, 187-195.