Praca oryginalna *Original paper*

Analiza porównawcza wpływu dwóch postaci kwasu amino-3-fosfonopropionowego (AP3) na stężenie kortyzolu w eksperymentalnym stresie jelitowym u owcy

BOGDAN F. KANIA, DANUTA WROŃSKA*

Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, Katedra Biotechnologii Zwierząt,
*Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt UR im. Hugona Kołłątaja w Krakowie,
Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Otrzymano 12.12.2013 *Zaakceptowano 04.03.2014*

Kania B. F., Wrońska D.

Comparative analysis of the influence of two forms of 2-Amino-3-phosphonopropionic acid (AP3) on plasma cortisol concentration changes in experimental colonal stress of sheep

Summary

The aim of this study was a comparative analysis of five minute episodes of mechanical colonal descending distension (CD) of different degrees, which were provoked by the insertion of a balloon filled with 150 and/or 200 ml of water (CD150 and/or CD200), and plasma cortisol concentration changes as a consequences of the hypothalamo-pituitary-cortico-adrenal axis (HPA) stimulation and nociceptive/stressoric effects. Furthermore, noting the comparative influence of premedication by metabotropic glutamate receptor antagonists via L-isomer and DL-AP3 racemate i.c.v. one min infusion in three different doses (0.2, 0.4 or 0.8 and 4.0, 8.0 or 12.0 mg in toto, respectively) on the plasma cortisol concentration changes, during 120 min of experimentation.

The experiment was carried out in four series using 12 female sheep, Polish Merinos, in the anoestrus period (May–June). In the first series (six animals as a control group) the animals had a 200 µl 0.9% NaCl i.c.v. infusion. In the second series they (six animals) had a five min episode of CD by insertion of a balloon filled with 150 and/or 200 ml of water (CD150 or CD200). In the third series of the experiment six animals had an i.c.v. DL-AP3 or L-AP3 infusion in three different doses (4.0, 8.0 or 12.0 and 0.2, 0.4 or 0.8 mg in toto, respectively), and in the fourth series, ten minutes before CD200, every week.

Colon descending distension episodes lasting five minutes provoke a very repetitive, statistically significant increase of plasma cortisol concentration, a critical indicator of the stressoric effect as a consequence of HPA axis stimulation. Undoubtedly DL-AP3 racemate and L-isomer AP3, as metabotropic nonspecific glutamate receptor type-1 antagonists, attenuated this elevation of cortisol, and can be an alternative drug in colonal pain caused by wall distention in sheep.

Keywords: L- and DL-AP3, i.c.v. infusion, plasma kortisol, visceral pain

Dane piśmiennictwa wskazują na możliwość istotnej roli receptorów mGluR zarówno w przewodzeniu obwodowym, jak i transmisji ośrodkowej bodźców nocyceptywnych i zjawisku bólu, a stresu w ogóle. Wiadomo już, że obwodowe receptory grupy I mGluR ($mGluR_{1 i 5}$) zaangażowane są w występowaniu objawów bólu nieprowokowanego i wtórnej hiperalgezji powodowanej mechanicznie przez wstrzyknięcie dostawowe lub śródskórne karageniny powodującej ból pozapalny (10). Zastosowanie obwodowo antagonistów tych receptorów wykazywało działania antynocyceptywne. W badaniach behawioralnych u szczurów, ale także u owiec stwierdzono specyficzną rolę rdzeniowych receptorów grupy I i II mGluR w pośredniczeniu nocycepcji (1, 3). Intratekalne stosowanie antagonistów tych receptorów u owiec z zachowaną świadomością powodowało hamowanie wrażliwości zarówno na drażnienie mechaniczne, jak też hamowanie allodynii powodowanej czynnikiem mechanicznym, co także wykazano na modelu bólu neuropatycznego u szczurów (2).

Z uwagi na fakt, iż brak jest szczegółowych badań na temat roli ośrodkowych receptorów grupy I mGluR w ostrym bólu jelitowym, posiadającym komponent

wegetatywny i emocjonalny z wyższych struktur mózgowia, a nie tylko ból receptorowy z rdzenia kręgowego czy obwodu, postanowiono określić rolę ośrodkową antagonisty mGluR po infuzji dokomorowej (*i.c.v.*) na modelu doświadczalnej kolki jelitowej (rozciąganie ściany okrężnicy – RO) u owcy z zachowaną świadomością. Poznanie czynnościowej roli tych receptorów w zmianach nocycepcji ośrodkowej może umożliwić wprowadzenie nowych specyfików do terapii ostrego bólu jelitowego w kolce jelitowej u przeżuwaczy.

W poprzednich badaniach dotyczących poszukiwania alternatywnych leków przeciwbólowych skupiano się na modelu rozciągania ściany dwunastnicy (4-7). Stwierdzono w nich, że ostry ból dwunastniczy spowodowany czynnikiem mechanicznym – rozciąganiem ściany jelita – stanowił równocześnie fizyczny czynnik stresogenny, gdyż zwiększał znamiennie stężenie hormonów stresu (kortyzolu oraz katecholamin nadnerczowych – E i NE) w osoczu krwi, a więc wyzwalał zjawisko stresu emocjonalnego. W hamowaniu reakcji stresowej przeciwstresowo działały zarówno substancje będące antagonistami cholecystokininy (CCK8), jak też antagoniści VGCCs i to niezależnie od grupy chemicznej, do której przynależą (diltiazem, nifedypina, werapamil) (4-6).

Celem niniejszego eksperymentu była analiza porównawcza między wpływem różnego stopnia pięciominutowego epizodu mechanicznego rozciągania ściany okrężnicy zstępującej (RO) na zmiany stężenia osoczowego kortyzolu, jako następstwa pobudzenia osi podwzgórzowo-przysadkowo-korowo-nadnerczowej (HPA) a działaniami nocyceptywnymi/stresogennymi. Dodatkowo analizowano wpływ porównawczy premedykacji antagonistów $mGluR_1$, tj. izomerem L-AP3 i/lub racematem DL-AP3 w trzech różnych zakresach dawek (0,2, 0,4 i/lub 0,8 oraz 2, 4 i/lub 8 mg *in toto*, odpowiednio) infundowanymi *i.c.v.* w ciągu jednej minuty na 10 minut przed epizodami RO na stężenia kortyzolu osoczowego w ciągu 120 minut trwania eksperymentu.

Materiał i metody

Doświadczenia podstawowe zostały wykonane na tym samym materiale (12 anestralnych maciorek rasy merynos polski, w miesiącach maj-czerwiec, według takiego samego schematu postępowania, jak w pracy poprzedniej (5). Krew do określania stężenia kortyzolu pobierano z żyły szyjnej zewnętrznej przez założony na 48 godzin przed planowanym eksperymentem silikonowy kateter – na 30 minut, tuż przed przystąpieniem do doświadczeń (0 min – kontrola przed RO) oraz w 5 (początek RO), 10 (zakończenie RO), 15, 30, 60 i 120 minut od czasu rozpoczęcia eksperymentu (tab. 1).

Seria pierwsza doświadczeń stanowiła drugą kontrolę (pierwszą stanowił czas 0 min przed 5-minutowym epizodem RO i polegała na *i.c.v.* iniekcji zwierzętom 200 µl 0,9% NaCl, bez epizodu rozciągania ściany okrężnicy zstępującej.

W drugiej serii doświadczeń rozciągano ścianę okrężnicy zstępującej balonikiem wypełnianym 150 i/lub 200 ml wody (RO150 i/lub RO200), a krew do analiz pobierano z żyły jarzmowej zewnętrznej wg uprzednio podanego schematu (8). Działanie tego czynnika rozpoczynano zawsze w 0. minucie trwania eksperymentu, a kończono w 5. minucie. Brak danych piśmiennictwa dotyczących działania AP3 u owcy spowodował, że zgodnie z kanonami eksperymentów farmakologicznych zaistniała konieczność jego stosowania w 3 różnych dawkach (odmiennych dla odmiany racemicznej DL-AP3 od dawek izomera L-AP3 – formy z zasady bardziej aktywnej chemicznie).

W związku z tym w trzeciej serii doświadczeń – po wykonaniu 30 minut obserwacji i dwukrotnym pobraniu krwi do analiz kontrolnych infundowano w ciągu 1 minuty *i.c.v.* DL-AP3 w dawce 4 mg *in toto*, po czym postępowano tak, jak w drugiej serii. Po upływie tygodnia powtórzono eksperyment ze stosowaniem tego samego racematu DL-AP3 w dawce 8,0 mg, a po następnym tygodniu po infuzji DL-AP3 w dawce 12,0 mg *in toto*. Po upływie kolejnych tygodni infundowano tą samą drogą izomeryczną postać L-AP3 w dawkach wynoszących kolejno 0,2, 0,4 i/lub 0,8 mg *in toto*.

W czwartej serii doświadczeń – po wykonaniu procedur wstępnych jak w serii III – infundowano *i.c.v.* przez 1 minutę L-AP3 w dawce 0,2, w następnym tygodniu 0,4 a po kolejnych dwóch 0,8 mg *in toto*. W kolejnych tygodniach zaś infundowano racemat DL-AP3 w dawkach 4,0, 8,0 i/lub 12,0 mg *in toto*. Po upływie 10 minut rozciągano okrężnicę zstępującą przez 5 minut balonikiem gumowym napełnianym 200 ml wody (RO200), a krew do analiz pobierano – zgodnie z wcześniej przedstawionym schematem pobrań – przez kolejne 120 minut. Wszystkie eksperymenty powtórzono dwukrotnie, a ich wykonanie otrzymało akceptację Lokalnej Komisji Etycznej Nr 9/201.

Stężenie kortyzolu w osoczu krwi owiec określano metodą radioimmunologiczną (RIA), przy użyciu gotowych zestawów firmy Orion Diagnostica, Espoo, Finlandia a obliczenia statystyczne przeprowadzono jak poprzednio (8).

Wyniki i omówienie

Wpływ RO150 i RO200 na stężenie osoczowe kortyzolu. Stężenia kontrolne kortyzolu osoczowego u zwierząt wahały się od 0,855 ± 0,06 do 0,974 ± 0,05 $ng \cdot mL^{-1}$. Po *i.c.v.* jednominutowej infuzji 200 µl 0,9% NaCl stężenia te zmieniały się w zakresie od –9,2% do +6,9% w stosunku do kontroli, tj. od 0,875 do 1,030 $ng \cdot mL^{-1}$ i nie miały znamion istotności statystycznej (tab. 1).

Pięciominutowe rozciąganie ściany okrężnicy zstępującej balonikiem zawierającym 150 ml wody (RO150) powodowało natychmiastowe, statystycznie znamienne zwiększenie stężenia kortyzolu osoczowego w porównaniu z grupą zwierząt kontrolnych, tj. z 0,855 do 1,703 w 15 min i 1,555 $ng \cdot mL^{-1}$ w 30. min eksperymentu ($p \leq 0,05$). Średnie zwiększenie stężenia kortyzolu osoczowego w ciągu 30 minut od czasu rozpoczęcia RO150 wynosiło 52,5% i było znamienne statystycznie. Ilość uwolnionego przez 30 minut do krwi kortyzolu w grupie zwierząt kontrolnych wynosiła

Tab. 1. Analiza porównawcza wpływu różnego stopnia rozciągania ściany okrężnicy zstępującej (RO150 i 200) na stężenie kortyzolu osoczowego (ng·mL^{-1}) u owcy w porównaniu z kontrolą ($\bar{x}$ ± SD, n = 6)

Procedura	Czas (min)						
	0	5	10	15	30	60	120
0,9% NaCl (200 µl)	0,963 ± 0,05	0,925 ± 0,05	0,930^{x} ± 0,06	1,030^{x} ± 0,05	0,973 ± 0,07	0,875 ± 0,08	0,756 ± 0,05
RO 150	0,855 ± 0,06	0,955 ± 0,10	1,226^{xa} ± 0,05	1,703^{xa} ± 0,25	1,555^{xa} ± 0,00	0,841 ± 0,04	0,678 ± 0,04
RO 200	0,974 ± 0,05	0,968 ± 0,05	1,187^{a} ± 0,06	1,446^{ab} ± 0,05	1,125^{ab} ± 0,07	0,975^{ab} ± 0,08	0,923^{ab} ± 0,07

Objaśnienia: x – różnice istotne ($p \leq 0,05$) w stosunku do wartości „0"; a – różnice istotne ($p \leq 0,05$) w stosunku do wartości grupy 0,9% NaCl; b – różnice istotne ($p \leq 0,05$) między RO150 i RO200

Tab. 2. Wpływ infuzji *i.c.v.* różnych dawek DL-AP3 (4, 8 i 12 mg *in toto*) na stężenie kortyzolu osoczowego (ng·mL^{-1}) u owcy w porównaniu z kontrolą i RO 200 ($\bar{x}$ ± SD, n = 6)

Procedura	Czas (min)						
	0	5	10	15	30	60	120
0,9% NaCl (200 µl)	0,917 ± 0,03	0,891^{xb} ± 0,03	0,980^{b} ± 0,05	1,002^{b} ± 0,04	0,898^{b} ± 0,04	0,898^{b} ± 0,04	0,756^{b} ± 0,25
RO 200	0,855 ± 0,10	1,226^{xa} ± 0,06	1,703^{xa} ± 0,05	1,555^{xa} ± 0,05	1,354^{xa} ± 0,04	0,975^{x} ± 0,04	0,923^{xa} ± 0,03
DL-AP3 4 mg bez RO	0,841^{ac} ± 0,05	0,470^{xabc} ± 0,07	0,965^{xbc} ± 0,15	1,874^{xbc} ± 0,26	1,524^{xbc} ± 0,16	0,901^{c} ± 0,12	0,853^{c} ± 0,19
DL-AP3 8 mg bez RO	0,825^{e} ± 0,11	0,821^{d} ± 0,15	1,414^{xd} ± 0,17	1,735^{xc} ± 0,21	1,301^{xd} ± 0,15	0,666^{xd} ± 0,16	0,731^{d} ± 0,13
DL-AP3 12 mg bez RO	0,800^{ad} ± 0,04	0,455^{xabc} ± 0,01	1,061x^{bc} ± 0,02	1,146^{xabd} ± 0,11	1,055^{abce} ± 0,08	0,818^{abc} ± 0,03	0,860^{bc} ± 0,09

Objaśnienia: x – różnice istotne ($p \leq 0,05$) w stosunku do wartości „0"; a – różnice istotne ($p \leq 0,05$) w stosunku do wartości grupy 0,9% NaCl; b – różnice istotne ($p \leq 0,05$) w stosunku do wartości grupy RO 200; c, d, e – różnice istotne ($p \leq 0,05$) między grupami DL-AP3

3,858 ng·mL^{-1}, a w grupie zwierząt z epizodem RO150 wynosiła 5,439 ng·mL^{-1}.

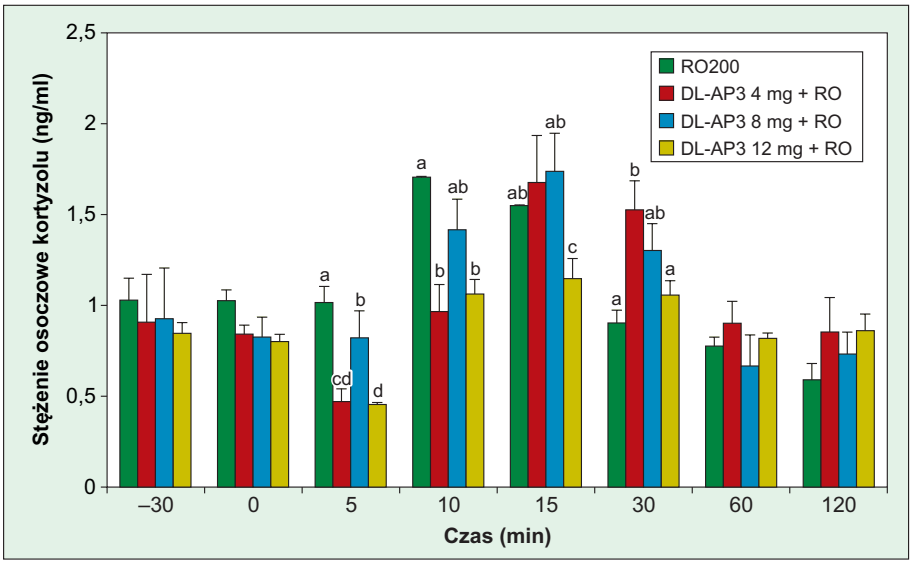
Pięciominutowe rozciąganie ściany okrężnicy zstępującej balonikiem zawierającym 200 ml wody (RO200) powodowało porównywalne do RO150 istotne zwiększenie stężenia osoczowego kortyzolu przez 30 minut z 0,974 w kontroli do 1,446 ng·mL^{-1} w 15. minucie po zakończeniu epizodu RO. Z powyższego opisu wynika, że średnie zwiększenie stężenia kortyzolu w tej grupie doświadczalnej wynosiło 90,5% (tab. 1). Równocześnie u zwierząt tych obserwowano znane już objawy pobudzenia wegetatywnego oraz zmiany kliniczne świadczące o dojmującym bólu wisceralnym (8).

Wpływ różnych dawek racematu DL-AP3 i izomera L-AP3 na stężenia osoczowe kortyzolu. Antagonista mGluR$_1$ DL-AP3 infundowany *i.c.v.* w ciągu 1 minuty w dawkach 4,0, 8,0 i/lub 12,0 mg *in toto* działał odmiennie na stężenie kortyzolu osoczowego u badanych zwierząt. Infundowany w dawce 4 mg istotnie zmniejszał stężenie kortyzolu osoczowego z 0,841 do 0,470 ng·mL^{-1} w 5 minut po infuzji, a istotnie te stężenia zwiększał w 15 i 30 minut, kolejno do 1,874 i 1,524 ng·mL^{-1}, tj. o 122,8% oraz 81,2%. Zastosowany w dawce 8,0 mg *in toto* już tylko istotnie zwiększał stężenie kortyzolu od 10 do 30 minut po zakończeniu infuzji; średnio o 79,7% ($p \leq 0,05$). DL-AP3 infundowany *i.c.v.* w dawce 12,0 mg *in toto* powodował prawie natychmiastowe znamienne zmniejszenie stężenia kortyzolu osoczowego z 0,800 do 0,455 ng·mL^{-1} (tj. o 43,2%; $p \leq 0,05$), a następnie obserwowano istotne zwiększenie się stężenia tego hormonu średnio o 35,8% ($p \leq 0,05$; tab. 2) od 10 do 30 minut po infuzji antagonisty. Podobne zmiany uzyskano w grupach zwierząt po stosowaniu samego L-AP3 w dawkach 0,2, 0,4 i/lub 0,8 mg *in toto*, dlatego pominięto je w załączonej dokumentacji.

Wpływ premedykacji *i.c.v.* DL-AP3 w dawkach 4, 8 i/lub 12 mg *in toto* na stężenia kortyzolu osoczowego po wykonaniu RO200. Dokomorowa premedykacja antagonisty mGluR$_1$ w dawce 4 mg *in toto* na 10 minut przed 5-minutowym epizodem RO200 zapobiegała zwiększeniu stężenia kortyzolu osoczowego w ciągu pierwszych 10 minut po jego infuzji. Średnie zwiększenie stężenia hormonu w grupie zwierząt z epizodem RO wynosiło w tym czasie 78,4%, a po premedykacji antagonistą mGluR$_1$ już tylko 1,56% i było wysoce istotne w stosunku do wartości początkowych ($p \leq 0,01$; ryc. 1). Jeszcze w 15 i 30 minut po RO stężenia hormonu były zwiększone o około 20% w stosunku do kontroli.

DL-AP3 infundowany *i.c.v.* w dawce 8 mg *in toto* na 10 minut przed epizodem RO200 powodował niejednoznaczne zmiany w stężeniu kortyzolu osoczowego, w pierwszych 30 minutach po RO stężenie tego hormonu zwiększało się w stosunku do kontroli własnej o 16,7%, a w porównaniu do grupy zwierząt z samym epizodem RO200 określone stężenie zmniejszyło się istotnie o około 58% ($p \leq 0,05$; ryc. 1).

Antagonista mGluR$_1$ infundowany *i.c.v.* 10 minut przed 5-minutowym epizodem RO200 w dawce 12 mg *in toto* zapobiegał, a nawet zmniejszał poniżej kontroli własnej (o około 14%), zwiększaniu się stężenia



Ryc. 1. Wpływ premedykacji *i.c.v.* DL-AP3 (w dawkach 4,0, 8,0 i/lub 12,0 mg/zwierzę) i pięciominutowego rozszerzenia ściany okrężnicy zstępującej na stężenie kortyzolu osoczowego (ng · mL^{-1}) u owcy w porównaniu z kontrolą i RO 200 ($\bar{x}$ ± SD, n = 6)

Objaśnienia: a – różnice istotne ($p \leq 0,05$) w stosunku do wartości „0”; b – różnice istotne ($p \leq 0,05$) w stosunku o wartości grupy RO 200; c, d – różnice istotne ($p \leq 0,05$) między grupami DL-AP3 (4, 8 i 12 mg + RO)

kortyzolu osoczowego powodowanego przez RO200 (ryc. 1).

Wpływ premedykacji *i.c.v.* L-AP3 *w* dawkach 0,2, 0,4 i/lub 0,8 mg *in toto* na stężenie kortyzolu osoczowego po wykonaniu RO200. W części eksperymentów dotyczących wpływu *i.c.v.* premedykacji izomerem L-AP3 w dawce 0,2 mg *in toto* stwierdzono zmniejszenie stężenia kortyzolu osoczowego przez 10 minut po zakończonym epizodzie RO200, tak w stosunku do kontroli własnej, jak i w odniesieniu do grupy zwierząt z 5-minutowym epizodem RO200. Między 15. a 30. minutą od zakończenia RO200 stężenie kortyzolu utrzymywało się na poziomie tych stwierdzonych w grupie zwierząt z samym epizodem RO200 (tab. 2), od 60. do 120. minuty eksperymentu wartości stężenia były równe sobie.

L-AP3 zastosowany *i.c.v.* w dawce 0,4 mg *in toto* 10 minut przed 5-minutowym epizodem RO200 zmniejszał stężenie kortyzolu w ciągu 120 minut obserwacji średnio o 20,4% (od 7,8-30,8%) w porównaniu do kontroli własnej. W tym samym czasie, w grupie zwierząt z samym 5-minutowym epizodem RO200 stężenie kortyzolu zwiększało się średnio o 32,4% (tab. 3).

W grupie zwierząt otrzymujących *i.c.v.* L-AP3 w dawce 0,8 mg *in toto* na 10 minut przed 5-minutowym epizodem RO200 nie stwierdzono istotnych zmian w stężeniach kortyzolu osoczowego u zwierząt. Jednak w 60 minut od zakończenia RO obserwowano 40% zwiększenie stężenia hormonu zarówno w stosunku do kontroli własnej, jak też w odniesieniu do grupy zwierząt z samym epizodem RO200 (tab. 3).

W przeprowadzonym eksperymencie dowiedziono, że czynnik nocyfensywny w odpowiednim natężeniu, działający jednorazowo przez okres pięciu minut, wyzwala w organizmie owcy uogólnioną reakcję emocjonalną, jako odpowiedź na czynnik stresogenny. Ból wisceralny/jelitowy spowodowany rozciąganiem ściany okrężnicy zstępującej balonikiem zawierającym zarówno 150, jak i 200 ml wody o temperaturze ciała zwierzęcia już po pięciu minutach zwiększał stężenie kortyzolu w osoczu krwi o około 75%, co jednoznacznie wskazuje, że jest silnym czynnikiem stresogennym, pobudzającym oś HPA. Powtórzenie prowokowania bólu u tych samych zwierząt w odstępach tygodniowych zmniejszało natężenie reakcji stresowej, zwiększając średnio stężenie hormonu już tylko o około 35%. Należy przy tym zauważyć, że w porównywalnym eksperymencie wykonanym na podobnym materiale zwierzęcym pięciominutowe rozciąganie ściany dwunastnicy balonikiem gumowym zawierającym 40 i/lub 80 ml wody o temperaturze ciała zwierzęcia zwiększało stężenie kortyzolu w osoczu krwi o około 420% (5). Różnice te wynikają, jak się wydaje, z właściwości

Tab. 3. Wpływ premedykacji *i.c.v.* różnych dawek L-AP3 (0,2, 0,4 i 0,8 mg/zwierzę) i 5-minutowego RO200 na stężenie kortyzolu osoczowego (ng·mL^{-1}) u owcy w porównaniu z kontrolą i RO200 ($\bar{x}$ ± SD, n = 6)

Procedura	Czas (min)						
	0	5	10	15	30	60	120
0,9% NaCl (200 µl)	0,990 ± 0,03	0,891^{xb} ± 0,03	0,980^{b} ± 0,05	1,002^{b} ± 0,04	0,898^{x} ± 0,04	0,898^{b} ± 0,04	0,575^{xb} ± 0,25
RO 200	0,855 ± 0,10	1,226^{xa} ± 0,06	1,703^{xa} ± 0,05	1,555^{xa} ± 0,05	0,842 ± 0,04	0,678^{xa} ± 0,04	0,898^{a} ± 0,03
L-AP3 0,2 mg + RO	0,942^{c} ± 0,09	0,590^{xabc} ± 0,10	0,883^{bc} ± 0,11	1,463^{xac} ± 0,11	1,153^{xabc} ± 0,13	0,847^{bc} ± 0,16	0,894^{ac} ± 0,13
L-AP3 0,4 mg + RO	1,083^{d} ± 0,09	1,195^{ad} ± 0,10	0,957^{bd} ± 0,17	0,750^{xabd} ± 0,11	0,829^{xd} ± 0,13	0,999^{abd} ± 0,16	0,775^{xad} ± 0,13
L-AP3 0,8 mg + RO	0,980^{e} ± 0,09	0,823^{be} ± 0,1	0,820^{xabc} ± 0,11	0,994^{be} ± 0,11	1,022^{abe} ± 0,13	1,375^{xabe} ± 0,16	0,985^{ae} ± 0,13

Objaśnienia: x – różnice istotne ($p \leq 0,05$) w stosunku do wartości „0”; a – różnice istotne ($p \leq 0,05$) w stosunku do wartości grupy 0,9% NaCl; b – różnice istotne ($p \leq 0,05$) w stosunku do RO 200; c, d, e – różnice istotne ($p \leq 0,05$) między grupami L-AP3 (0, 0,4 i 0,8 mg + RO)

anatomicznych i neurofizjologicznych poszczególnych części przewodu pokarmowego owcy. Należy także zaznaczyć, że w okrężnicy znajdują się ciągle masy kałowe, do obecności których zarówno śluzówka, jak i znajdujące się w niej nocyceptory są w pewnym stopniu zaadaptowane.

Uzyskane wyniki wskazują, że obydwie postacie AP3, niespecyficznego antagonisty metabotropowego receptora glutamianiergicznego, mogą być u owcy rekomendowane zarówno jako środek przeciwbólowy, jak i przeciwstresowy w doświadczalnej kolce jelitowej, tym bardziej, że racemat AP3 okazał się także skuteczny w zapobieganiu autonomicznym objawom reakcji, w tym hamującemu odruchowi trzewno-trzewnemu na ból wisceralny powodowany rozciąganiem ściany okrężnicy zstępującej u owcy (8). Obserwowane w badaniach własnych zmniejszenie stężenia kortyzolu w osoczu krwi przez AP3 sugeruje hamowanie ośrodkowych receptorów $mGluR_1$ w strukturach kierujących czuciem i przewodzeniem bólu (rogi grzbietowe rdzenia kręgowego, ciało migdałowate, twór siatkowaty, rdzeń przedłużony, PAG) oraz emocjami, zwłaszcza w centralnych strukturach regulujących stanami emocjonalnymi i motywacjami (ciało migdałowate, hipokamp, podwzgórze, kora przedczołowa). Blokowanie receptorów struktur jądra przykomorowego (PVN) i niskowzgórzowego (NST) podwzgórza oraz ciała migdałowatego zapobiega depolaryzacji neuronów uwalniających CRF i przerywa kaskadę zjawisk związanych z aktywacją osi HPA i uwalnianiem glikokortykosteroidów (CRF→ACTH→kortyzol) oraz pobudzeniem układu SAS z następowym uwalnianiem katecholamin z rdzenia nadnerczy (11). W efekcie końcowym dochodzi do zniesienia i/lub hamowania reakcji na taki czynnik stresowy, a tym samym taka procedura może stanowić jeden ze sposobów na skuteczną poprawę dobrostanu zwierząt.

Wnioski

1. Pięciominutowe rozciąganie ściany okrężnicy zstępującej balonikiem wypełnionym 150 i/lub 200 ml wody stanowi właściwy model wywoływania stresu typu fizycznego, manifestującego się zwiększonym stężeniem kortyzolu osoczowego.

2. Postać racemiczna antagonisty mGluR jest skuteczniejsza w porównaniu z L-AP3 w łagodzeniu objawów bólu jelitowego powodowanego rozciąganiem ściany okrężnicy zstępującej u owcy.

Piśmiennictwo

1. *Dolan S., Nolan A. M.*: Blockade of metabotropic glutamate receptor 5 activation inhibits mechanical hypersensitivity following abdominal surgery. Eur. Pain 2007, 11, 644-651.
2. *Fisher K., Fundytus M. E., Cahil C. M., Coderre T. J.*: Intrathecal administration of mGluR compound, (S)-4CPG, attenuates hyperalgesia and allodynia associated with sciatic nerve constriction injury in rats. Pain 1998, 77, 59-66.
3. *Fundytus M. E., Yashpal K., Chabot J. G., Osborne M. G., Lefebre C. D., Dray A., Henry J. L., Coderre T. J.*: Knockdown of spinal metabotropic glutamate receptor 1 (mGluR1) alleviates pain and restores opioid efficacy after nerve injury in rats. Br. J. Pharmacol. 2001, 132, 354-367.
4. *Kania B. F., Brytan M., Tomaszewska D.*: Centrally administered verapamil prevents the autonomic reaction to visceral pain in sheep. Res. Vet. Sci. 2009b, 86, 121-128.
5. *Kania B. F., Kania K., Romanowicz K., Tomaszewska D., Ŝutiak V., Wrońska-Fortuna D.*: Centrally administered PD 140.548 N-mmethyl-D-glukamine prevents the autonomic responses to duodenal pain in sheep. Res. Vet. Sci. 2006, 81, 109-118.
6. *Kania B. F., Kowalczyk M., Brytan M., Tomaszewska D., Przekop F.*: The inhibition of experimentally induced visceral hyperalgesia by nifedypine – a voltage gated Ca2+ channels blocker in sheep. Res. Vet. Sci. 2009a, 86, 285-292.
7. *Kania B. F., Ŝutiak V.*: Influence of centrally administered Diltiazem on behavioural responses, clinical symptoms, reticulo-ruminal contractions and plasma catecholamine level after experimentally induced duodenal distension in sheep. Res. Vet. Sci. 2011, 90, 291-297.
8. *Kania B. F., Wrońska D.*: Supraspinal basis of analgesic and clinical effects of the metabotropic glutamate $mGluR_1$ antagonist during colonic distension in sheep. Small Rum. Res. 2014, 117, 84-93.
9. *Landgraf R., Neuman I. D.*: Vasopressin and oxytocin release within the brain: a dynamic concept of multiple and variable modes of neuropeptide communication. Front Neuroendocrinol. 2004, 25, 150-176.
10. *Lee K. S., Kim J., Yoon Y. W., Lee M. G., Hong S. K., Han H. C.*: The peripheral role of group I metabotropic glutamate receptors on nociceptive behaviors in rats with knee joint inflammation. Neurosci. Lett. 2007, 416, 123-127.
11. *Wrońska-Fortuna D., Błachuta M., Hajduk M.*: The effect of ACTH on in vitro OXY release from sheep adrenal gland. Proc. 21th Mol. and Physiol. Aspects of Regulatory Processes of the Organism. Cracow 2012, Proc. pp. 409-410.

Adres autora: prof. dr hab. Bogdan Feliks Kania, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków; e-mail: bogdan.kania@yahoo.com