

Analiza porównawcza wpływu dwóch form antagonisty receptora glutaminianergicznego (mGluR) grupy I na stężenie katecholamin w ostrym bólu jelitowym u owcy

BOGDAN F. KANIA, DANUTA WROŃSKA*

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

*Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Otrzymano 05.03.2014

Zaakceptowano 08.05.2014

Kania B. F., Wrońska D.

Comparative analysis of the influence of two forms of metabotropic glutamate receptor antagonist group I on plasma catecholamine concentration changes in acute colonic pain of sheep

Summary

The aim of this study was a comparative analysis between a five minute episode of mechanical colonic distension, which was provoked by the insertion of a balloon filled with 200 ml of water (CD200), and plasma CA concentration (epinephrine E, norepinephrine – NE and dopamine – DA) changes as a consequence of the sympatho-medullary-adrenal axis stimulation as well as nociceptive/stressor effects. Furthermore, to note the comparative influence of premedication by metabotropic glutamate receptor antagonists by L-isomer (L-AP3) in the doses of 0.2, 0.4 and/or 0.8mg in toto and/or DL-AP3 racemate i.c.v. one min infusion in three different doses (4.0, 8.0 or 12.0 mg in toto) on the plasma CA 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 (six animals) they had a five min episode of CD by insertion of a balloon filled with 200 ml of water (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), while in the fourth series, ten minutes before CD200, every week.

Colon descending distension episodes lasting five min provoke a very repetitive, statistically significant increase of plasma CA concentration, a critical indicator – after cortisol – of the consequent stressor effect of the sympatho-medullary adrenal axis stimulation. As a metabotropic nonspecific glutamate receptor type-1 antagonists DL-AP3 racemate and L-isomer AP3 certainly attenuate this elevation of CA, and can be an alternative drug in colonic pain caused by their wall having been distended in sheep. Clinical application of this AP3 must be confirmed by peripheral administration of the drugs.

Keywords: mGluR1 antagonist, plasma CA, colonic pain, sheep

Kolka jelitowa u przeżuwaczy – niezależnie od jej etiologii – manifestuje się uporczywym i silnym bólem trzewnym uogólnionym powodującym stres jelitowy (4). Poza tym cechują ją takie objawy kliniczne, jak: stękanie, beczenie, moczenia, tachykardia, hiperwentylacja, etc., niepokój i inne objawy pobudzenia wegetatywnego, takie jak porażenie czepco-żwacza (hamujący odruch trzewno-trzewny) (1, 3). Z objawów neuroendokrynologicznych na plan pierwszy wysuwają

się korytylozemia, jako wynik pobudzenia osi podwzgórzowo-przysadkowo-korowo-nadnerczowej (HPA), oraz katecholaminemia, jako następstwo pobudzenia osi współczulno-rdzeniowo-nadnerczowej (5). Ten zespół objawów pozwolił zakwalifikować ból trzewny jako czynnik stresogenny, a zjawisko nazwać stresem jelitowym (4). W chorobie tej dochodzi zarówno do utraty apetytu, jak też do nasilonego odczuwania bólu. Leczenie tego bólu jest trudne do opanowania i polega

zazwyczaj na stosowaniu niesteroidowych leków przeciwzapalnych, często łącznie z agonistami receptora α_2 -adrenergicznego typu ksylazyny czy domosedanu, które nawet stosowane łącznie nie zapewniają dobrostanu odpowiedniego stopnia cierpiącemu zwierzęciu. Stąd konieczność poszukiwania potencjalnych środków o skutecznym działaniu analgetycznym w terapii bólu jelitowego. Celem tego opracowania była próba określenia przydatności antagonisty glutaminianergicznego receptora metabotropowego grupy I (mGluR I) w zapobieganiu pobudzenia osinwspółczulno-rdzeniowo-nadnerczowych (SAS), czego następstwem jest osoczowa katecholaminemia (zwiększone stężenie epinefryny – E, norepinefryny – NE, ew. dopaminy – DA) w eksperymentalnej kolce okrężniczej. Aminy biogenne (katecholaminy – KA) uwalniane do układu krążenia w dużych ilościach działają niekorzystnie na układ sercowo-naczyniowy i oddechowy pod postacią uporczywej tachykardii czy hiperwentylacji, nasilają przemiany metaboliczne, prowadząc w konsekwencji do wyczerpania się łatwo przyswajalnych rezerw energetycznych, co skutkuje zaburzeniami dobrostanu zwierzęcia i tak już cierpiącego z powodu choroby, osłabione zostają siły obronne organizmu.

Dane piśmiennictwa wskazują na niekwestionowany udział kwasu glutaminowego (Glu), głównego transmittera pobudzającego w OUN i ObUN, *via* jego receptory specyficzne mGluR, w zjawisku bólu ostrego i przewlekłego oraz w zjawiskach stresu (6). Jako transmitter depolaryzujący zakończenia presynaptyczne neuronów, kwas ten nasila uwalnianie przekazników czucia bólu oraz zwiększa przewodnictwo włókien nocycceptywnych, co w końcowym efekcie nasila procesy transmisji nocycceptywnej i zwiększa zdolność odczuwania bólu (hiperalgezia). W testach farmakologicznych udowodniono przydatność zastosowania antagonistów mGluR w znoszeniu bólu o etiologii postzapalnej oraz neuropatycznej. Celem niniejszego eksperymentu było porównanie działania antykatecholaminowego trzech różnych dawek racematu (DL-AP3) oraz enencjomera (L-AP3) kwasu amino-3-fosfonopropionowego stosowanego dokomorowo (*i.c.v.*) w bólu spowodowanym doświadczalną kolką jelitową wywołaną przez rozciąganie ściany okrężnicy zstępującej u owcy.

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 przygotowania eksperymentalnego oraz postępowania ze zwierzętami jak opisano w poprzedniej pracy (2). Krew do określania stężenia KA pobierano z żyły szyjnej zewnętrznej przez założony 48 godz. wcześniej silikonowy kateter: na 30 min przed eksperymentem, tuż przed przystąpieniem do doświadczeń (0. min – kontrola przed RO) oraz w 5. min (początek RO), 10. min (zakończenie RO), 15., 30., 60. i 120. min od czasu rozpoczęcia eksperymentu.

Seria pierwsza doświadczeń stanowiła drugą grupę kontrolną (pierwszą stanowił czas 0 min przed 5-minutowym epizodem RO) i polegała na *i.c.v.* iniekcji zwierzętom 200 μ l

0,9% NaCl, bez epizodu rozciągania ściany okrężnicy zstępującej. Infuzje tego czynnika rozpoczynano zawsze w 0. min trwania eksperymentu, a kończono po 1 min.

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 szyjnej zewnętrznej wg uprzednio podanego schematu (2). RO rozpoczynano w 0. min a kończono w 5. min eksperymentu. 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 enencjomera L-AP3).

W trzeciej serii doświadczeń – po wykonaniu 30 min obserwacji i dwukrotnym pobraniu krwi do analiz kontrolnych w 0. min infundowano w ciągu 1 min *i.c.v.* racemat 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 – w 0. min eksperymentu infundowano *i.c.v.* przez 1 min 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 min rozciągano okrężnicę zstępującą przez 5 min balonikiem gumowym napelnionym 200 ml wody (RO200), a krew do analiz pobierano – zgodnie z wcześniej przedstawionym schematem pobrań – przez kolejne 120 min trwania doświadczenia (ryc. 1). Wszystkie eksperymenty wykonano dwukrotnie za zgodą Lokalnej Komisji Etycznej Nr 9/201.

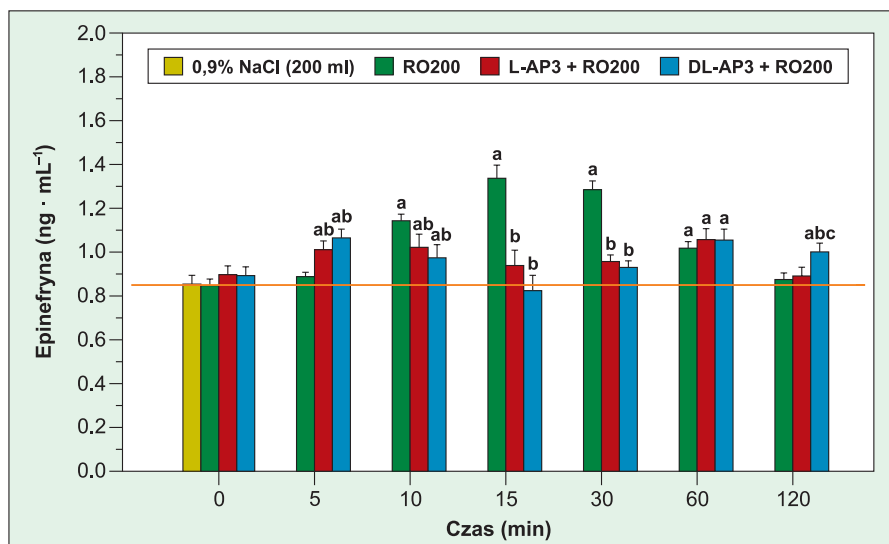
Odczynniki zastosowane w pracy. Do sporządzania roztworów użyto następujących substancji firmy RBI-SIGMA: Glutathione in subst, Epinephrine hydrochloride, Norepinephrine hydrochloride, Dopamine hydrochloride oraz L- i DL-amino-3-fosfonopropionid acid.

Określanie stężenia katecholamin (E, NE i DA) w osoczu krwi. Próbkę krwi pobierano do 10-ml probówek zawierających 1 ml glutationu zredukowanego (0,05 mM). Probówki plastikowe umieszczano w lodzie, a po odwirowaniu osocze przechowywano w temperaturze -20°C aż do czasu wykonywania analiz. Stężenie KA w osoczu krwi owiec określano metodą chromatografii wysokociśnieniowej (HPLC) z detektorem elektrochemicznym, zgodnie z metodyką opisaną uprzednio (7).

Obliczenia statystyczne. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu programu Statgraphics Plus 6.0. Dla porównania zmian stężeń wykorzystano dwuczynnikową analizę wariancji ANOVA z użyciem testu Scheffego i testu Bonferroniego (2). Za istotne uznawano różnice w wynikach na poziomie $p \leq 0,05$.

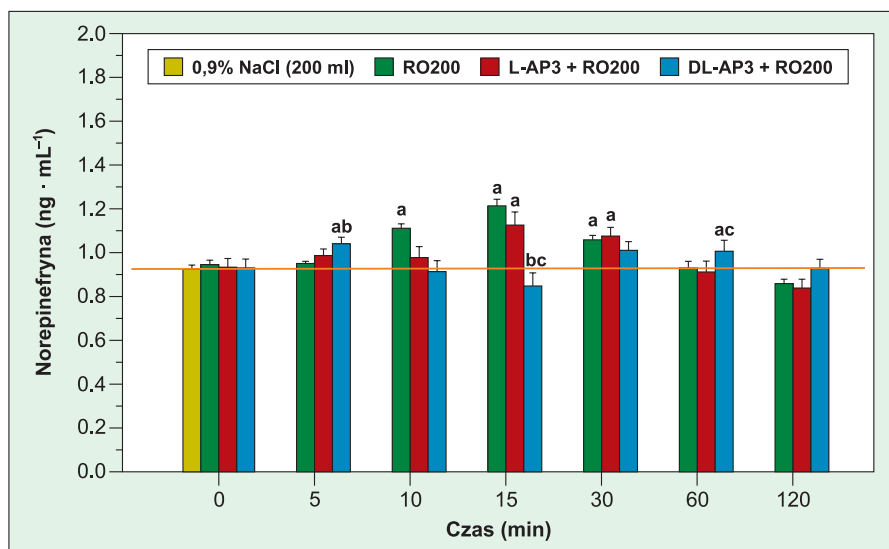
Wyniki i omówienie

Wpływ RO200 na stężenie osoczowe katecholamin Epinefryna (E). Stężenie osoczowej E u zwierząt grupy kontrolnej wahało się od $0,854 \pm 0,04$ do $0,926 \pm 0,05$ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($p \geq 0,05$), tj. o około 8,4%. Po *i.c.v.* jednodominutowej infuzji 200 μ l 0,9% NaCl stężenia te zmieniały się w zakresie od 2,8% do 34,9% w stosunku



Ryc. 1. Średnie zsumowane z 3 dawek zmiany w stężeniach epinefryny osoczowej ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) u badanych grup zwierząt. Grupa kontrolna ($200 \mu\text{l}$ 0,9% NaCl), RO200 oraz po *i.c.v.* 10 min premedykacji trzema różnymi dawkami L-AP3 (0,2, 0,4 i/lub 0,8 mg *in toto*) i DL-AP3 (2, 4 i/lub 8 mg *in toto*) w tęście RO200 w ciągu 120 min od zakończenia procedury RO ($\bar{x} \pm \text{SD}$, $n = 6$)

Objaśnienia: a – różnice istotne ($p \leq 0,05$) w stosunku do wartości 0,9% NaCl; b – różnice istotne ($p \leq 0,05$) w stosunku do wartości grupy RO200; c – różnice istotne ($p \leq 0,05$) między grupami L-AP3 i DL-AP3



Ryc. 2. Średnie zsumowane z 3 dawek zmiany w stężeniach norepinefryny osoczowej ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) u badanych grup zwierząt. Grupa kontrolna ($200 \mu\text{l}$ 0,9% NaCl), RO200 oraz po *i.c.v.* 10 min premedykacji trzema różnymi dawkami L-AP3 (0,2, 0,4 i/lub 0,8 mg *in toto*) i DL-AP3 (2, 4 i/lub 8 mg *in toto*) w tęście RO200 w ciągu 120 min od zakończenia procedury RO ($\bar{x} \pm \text{SD}$, $n = 6$)

Objaśnienia: jak na ryc. 1.

do kontroli, tj. od $0,825 \pm 0,04$ nawet do $1,113 \pm 0,07 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ u pojedynczych osobników, ale nie miały znamion istotności statystycznej ($p \geq 0,05$; ryc. 1).

Pięciominutowe rozciąganie ściany okrężnicy zstępującej balonikiem zawierającym 200 ml wody (RO200) powodowało znamienne zwiększenie stężenia osoczowego E przez okres 30 min od czasu rozpoczęcia eksperymentu; z $0,847 \pm 0,04$ w kontroli do $1,371$ i $1,285 \pm 0,04 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, odpowiednio, w 15 i 30 min po zakończonym epizodzie RO200, tj. o 68,5 i 57,3% (ryc. 1). Ilość uwolnionej przez 30 min do krwi E

w grupie zwierząt kontrolnych wynosiła $4,385 \pm 0,22 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, a w grupie zwierząt z epizodem RO200 wynosiła $6,503 \pm 0,18 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$. Średnie zwiększenie stężenia uwolnionej E w tej grupie doświadczalnej wyniosło 48,3% (ryc. 1). Równocześnie u zwierząt tej grupy stwierdzono objawy pobudzenia wegetatywnego (hamujący odruch trzewno-trzewny, tachykardia, hiperwentylacja) oraz zmiany behawioralne i kliniczne podobne do stwierdzanych wcześniej w warunkach ostrego bólu wisceralnego u owcy (1).

Norepinefryna (NE). Stężenia kontrolne NE osoczowej u zwierząt grupy kontrolnej wahały się od $0,924 \pm 0,02$ do $1,035 \pm 0,02 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ tj. o 12%. Po *i.c.v.* jednodominutowej infuzji $200 \mu\text{l}$ 0,9% NaCl stężenia te zmieniały się w zakresie od $0,859 \pm 0,04$ do $1,183 \pm 0,06 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ u pojedynczych osobników, tj. od 13,4 do +37,7%, ale nie miały znamion istotności statystycznej ($p \geq 0,05$; ryc. 2).

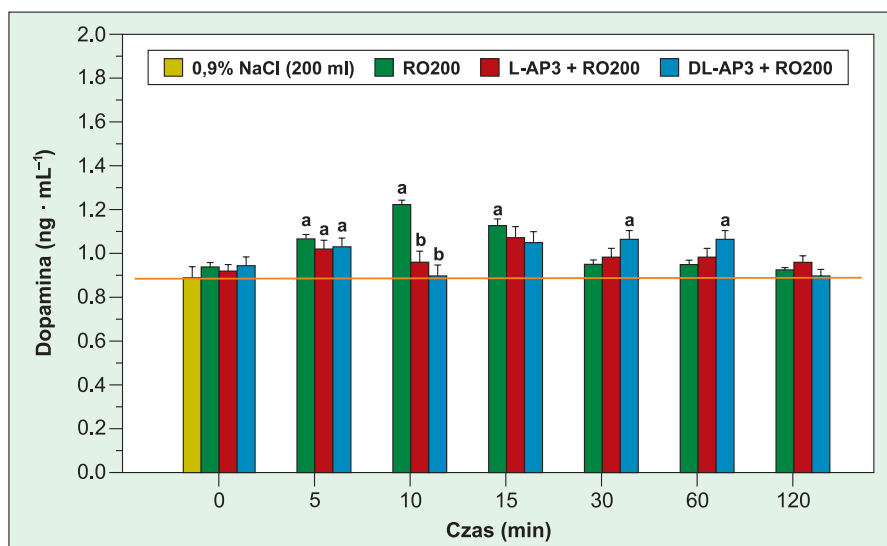
Pięciominutowe RO200 powodowało znamienne zwiększenie stężenia osoczowego NE przez 30 min z $0,946 \pm 0,02$ w grupie kontrolnej do $1,214 \pm 0,03 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ w 15 min po zakończonym epizodzie RO200, tj. o 28,3% (ryc. 2). Ilość uwolnionej NE przez 30 min do krwi w grupie zwierząt kontrolnych wynosiła $4,995 \pm 0,1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, a w grupie zwierząt z epizodem RO200 wynosiła $5,406 \pm 0,1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$. Średnie zwiększenie uwolnionej NE w tej grupie doświadczalnej wynosiło około 8,2% i nie miało znamion istotności statystycznej.

Dopamina (DA). Stężenie DA osoczowej w grupie zwierząt kontrolnych wahało się od $0,896 \pm 0,03$ do $1,001 \pm 0,04 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, tj. 11,7%. Po *i.c.v.* jednodominutowej infuzji $200 \mu\text{l}$ 0,9% NaCl stężenia te zmieniały się w zakresie od $0,893 \pm 0,04$ do $0,944 \pm 0,04 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, tj. o 5,7% wartości grupy kontrolnej

i nie miały znamion istotności statystycznej ($p \geq 0,05$; ryc. 3).

Jednodominutowa infuzja *i.c.v.* samych substancji L-AP3 i DL-AP3 w trzech różnych dawkach stosowanych w odstępach jednotygodniowych nie zmieniała istotnie stężeń osoczowych DA, mimo że zmiany te sięgały 21% w przypadku postaci racemicznej (DL-) oraz 13,9% po infuzji lewoskrętnego izomera AP3 (2).

Pięciominutowe RO200 powodowało znamienne zwiększenie stężenia osoczowego DA przez 15 min po jego zakończeniu z $0,929 \pm 0,02$ w grupie kontrolnej do



Ryc. 3. Średnie zsumowane z 3 dawek zmiany w stężeniach dopaminy osoczowej ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) u badanych grup zwierząt. Grupa kontrolna (200 μl 0,9% NaCl), RO200 oraz po *i.c.v.* 10 min premedykacji trzema różnymi dawkami L-AP3 (0,2, 0,4 i/lub 0,8 mg *in toto*) i DL-AP3 (2, 4 i/lub 8 mg *in toto*) w tęście RO200 w ciągu 120 min od zakończenia procedury RO ($\bar{x} \pm \text{SD}$, $n = 6$)

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

$1,128 \pm 0,03 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ w 15 min po zakończeniu RO200 (ryc. 3). Ilość uwolnionej DA w ciągu 30 min trwania eksperymentu w grupie zwierząt kontrolnych wynosiła $4,687 \pm 0,1$, a w grupie zwierząt z epizodem RO200 $5,299 \pm 0,19 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$. Średnie zwiększenie stężenia osoczowego uwolnionej DA w tej grupie doświadczalnej wyniosło 13% i nie miało znamion istotności statystycznej.

Wpływ różnych dawek enancjomera L-AP3 i racematu DL-AP3 na stężenia osoczowe KA

Epinefryna. Sam enancjomer L-AP3 infundowany w pojedynczych cotygodniowych dawkach wynoszących 0,2, 0,4 i/lub 0,8 mg *in toto* zwiększał średnio osoczowe stężenia E z $0,864 \pm 0,02$ w grupie zwierząt kontrolnych do $1,071 \pm 0,03 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ w 30 min po infuzji środka, tj. o około 23,9%. Duża zmienność osobnicza reakcji sprawiła, że dane te nie miały istotności statystycznej. Racemiczna postać kwasu amino-3-fosfonopropionowego (DL-AP3) infundowana w pojedynczych cotygodniowych dawkach 2, 4, i/lub 8,0 mg *in toto* również zwiększała stężenie osoczowe E przez okres 30 min od zakończenia infuzji, średnio z $0,886 \pm 0,02$ do $1,022 \pm 0,02 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, tj. o około 15,3%.

Norepinefryna. Sam enancjomer L-AP3 infundowany w stosowanych dawkach zwiększał stężenie osoczowej NE przez 30 min od zakończenia infuzji średnio z $0,938 \pm 0,02$ w grupie zwierząt kontrolnych do $1,157 \pm 0,03 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ w grupie testowanej preparatem, tj. o około 12,3%; bez znamion istotności statystycznej. Postać racemiczna kwasu w stosowanych dawkach nieznacznie zwiększała stężenie osoczowej NE z $0,956 \pm 0,02$ w grupie kontrolnej do $1,024 \pm 0,02 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ w 30 min po infuzji środka, tj. o około 7,1%. Średnie zmiany w stężeniu osoczowej NE po stosowaniu dwóch form AP3 w trzech różnych dawkach nie miały znamion istot-

ności statystycznej, dlatego pominięto je w zestawieniu uzyskanych wyników.

Dopamina. Obie postacie kwasu AP3 infundowane *i.c.v.* każda oddzielnie w trzech różnych dawkach zwiększały średnio stężenie osoczowe DA z $0,959 \pm 0,02$ w grupie kontrolnej do $1,101 \pm 0,02 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ w 30 min po zakończonej infuzji, tj. o około 5,3% wartości kontrolnych. Uzyskane wyniki nie miały znamion istotności statystycznej, dlatego pominięto je w materiale dokumentacyjnym.

Wpływ premedykacji *i.c.v.* enancjomera L-AP3 w dawkach 0,2, 0,4 i/lub 0,8 mg *in toto* na stężenia osoczowe KA po wykonaniu RO200

Epinefryna. W części eksperymentów dotyczących wpływu *i.c.v.* 10 min trwającej premedykacji izomerem L-AP3 w stosowanych dawkach na stężenie osoczowe E stwierdzono podobne zmiany niezależnie od dawek zastosowanego L-izomera kwasu, dlatego uzyskane wyniki postanowiono uśrednić (ryc. 1). L-AP3 zastosowany w *i.c.v.* premedykacji na 10 min przed pięciominutowym epizodem RO200 zwiększał nieznacznie stężenia osoczowe E z $0,897 \pm 0,04$ u zwierząt kontrolnych do $1,022 \pm 0,06 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ w 10 min po zakończonym epizodzie RO, tj. średnio o około 3,9% wartości grup kontrolnych i nie miał znamion istotności statystycznej. Sam epizod RO200 zwiększał natomiast w tym samym czasie stężenie E osoczowej o 68,5% (ryc. 1).

Norepinefryna. Enancjomer L-AP3 infundowany *i.c.v.* w ww. dawkach na 10 min przed epizodem RO200 zwiększał stężenie osoczowe NE w czasie od 15 do 30 min po zakończonym epizodzie z $0,934 \pm 0,04$ w grupie kontrolnej do $1,126 \pm 0,06 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, tj. o około 18% wartości grup kontrolnych, po czym stężenia te nieznacznie obniżał (ryc. 2).

Dopamina. Enancjomer L-AP3 stosowany w trzech różnych dawkach w 10 min premedykacji przed epizodem RO200 nie zmieniał istotnie osoczowych stężeń DA. Tylko w 15 min po zakończonym epizodzie zwiększał stężenie DA z $0,920 \pm 0,03$ w grupie kontrolnej do $1,073 \pm 0,05 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, tj. o około 16,6% wartości kontrolnych ($p \geq 0,05$; ryc. 3).

Wpływ premedykacji *i.c.v.* racematu DL-AP3 w dawkach 4, 8 i/lub 12 mg *in toto* na stężenia katecholamin osoczowych po wykonaniu RO200

Epinefryna. Racemat DL-AP3 infundowany *i.c.v.* w trzech różnych pojedynczych dawkach (2, 4 i/lub 8 mg *in toto*) na 10 min przed epizodem RO200 powodował co prawda zwiększenie stężenia osoczowej E z $0,893 \pm 0,04$ w grupie kontrolnej do $0,930 \pm 0,03 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ w 30 min po zakończonym epizodzie rozciągania, tj. o około 4,1%, ale zmiany te nie miały znamion istotności statystycznej. Zapobiegał więc zwiększaniem znamienne stężeniu KA w osoczu przez 5 min epizod RO200,

który to stężenie zwiększał nawet o 68,5% wartości kontrolnych (ryc. 1).

Norepinefryna. Premedykacja 10 min racematem infundowanym *i.c.v.* w trzech różnych dawkach albo w pełni zapobiegała późniejszym zmianom stężenia osoczowego NE powodowanym przez RO200, albo nieznacznie je zwiększała z $0,931 \pm 0,04$ w grupie kontrolnej do $1,011 \pm 0,04$ ng·mL⁻¹, tj. o około 8,6% w 30 min po zakończeniu RO200 (ryc. 2).

Dopamina. Racemat DL-AP3 infundowany *i.c.v.* w dawkach 2, 4 i/lub 8 mg *in toto* na 10 minut przed 5 min epizodem RO200 wprawdzie zwiększał, ale statystycznie nieistotnie stężenie osoczowe DA z $0,945 \pm 0,04$ w grupie kontrolnej do $1,065 \pm 0,04$ ng·mL⁻¹ w 30 min po zakończonym epizodzie, tj. o około 12,7%. Sam epizod RO200 zwiększał natomiast istotnie osoczowe stężenie DA do około 31,7% już w 10. min eksperymentu. Tak więc premedykacja racematem zmniejszała uwalnianie osoczowe DA w następstwie RO200 o około 19% wartości stężeń kontrolnych (ryc. 3).

Uzyskane w eksperymencie wyniki potwierdzają założenia przyjęte w poprzednich pracach, że czynnik nocyfensywny o charakterze fizycznym, jakim jest rozciąganie ściany okrężnicy zstępującej balonikiem zawierającym 200 ml wody, ma charakter czynnika stresogennego (1, 4). Jako taki powodował istotne zwiększenie stężenia kortyzolu osoczowego w następstwie aktywacji osi HPA, co wykazano już poprzednio (2) oraz równoczesną stymulację osi współczulno-rdzeniowo-nadnerczowej (SAS) prowadzącej do katecholaminemii obwodowej, a ta m.in. do hamującego odruchu trzewno-trzewnego, tachykardii, hipertensji, hiperwentylacji i innych objawów wegetatywnych (1, 5). W trakcie trwania pięciominutowego epizodu RO150 i/lub RO200 stwierdzono zmiany w objawach zachowania, jak i objawach klinicznych u zwierząt, co wskazuje na uogólnioną, ostrą reakcję organizmu na ból jelitowy jako wynik ogólnego pobudzenia ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. Stwierdzone zmiany w stężeniach osoczowych KA zamykają serię dowodów eksperymentalnych na to, że ostry ból jelitowy spowodowany zarówno rozciąganiem ściany dwunastnicy (RD40 i/lub RD80), jak i okrężnicy (RO150 i/lub RO200) u owcy powodują występowanie zarówno ośrodkowych, jak i obwodowych objawów, a także zmian neuroendokrynych składających się na obraz kliniczny stresu jelitowego i tak to zjawisko winno być postrzegane. Intensywność i natężenie objawów będących następstwem RD i RO u owcy mogła posłużyć za model dla testowania działania przeciwbólowego potencjalnych analgetyków w trakcie rozciągania ściany jelita imitującego klinicznie postać kolki jelitowej.

Opisane reakcje zwierzęcia na ostry ból jelitowy są dalece niewystarczające dla zrozumienia mechanizmów ich występowania w odniesieniu do katecholaminemii postresowej, to zwiększone stężenie osoczowe KA w następstwie RO jest następstwem nasilonego ich uwalniania z komórek rdzenia nadnerczy, gdzie są

syntetyzowane pod wpływem dopływających pobudzeń cholinergicznym włókien eferentnych. Powszechnie przyjmuje się, że tzw. pula osoczowych KA zawiera frakcję E uwolnionej z rdzenia nadnerczy oraz NE uwolnioną zarówno z rdzenia nadnerczy, jak i z zakończeń presynaptycznych włókien nerwów współczulnych całego organizmu. Doświadczenia wykonane na szczurach dowodzą jednakże, że cała pula NE osoczowej pochodzi również z rdzenia nadnerczy, wykazano bowiem, że obustronna ich ablacja zapobiegała katecholaminemii wywołanej przez *i.c.v.* infuzję kwasu N-metyl-D-Asparaginowego (5). Przyjmując za fakt, że w warunkach bólu ostrego i przewlekłego dochodzi do nasilonego uwalniania kwasu Glu tak w obwodowych, jak i ośrodkowych strukturach i narządach, który to kwas nasila zdolność odczuwania i przewodzenia bólu *via* uwalnianie specyficznych transmitterów, należy założyć, że na drodze tych mechanizmów komórkowych dochodzi do nasilenia katecholaminemii w warunkach ostrego bólu jelitowego u owcy. Antagonista tego kwasu, nawet niespecyficzny, zapobiegał bowiem w pełni stymulacji receptorów mGluR, a więc i następstwom klinicznym oraz neuroendokrynnym ich pobudzeń.

Wnioski:

1. Pięciominutowe rozciąganie ściany okrężnicy zstępującej balonikiem wypełnionym 200 ml wody stanowi właściwy model wywołania ostrego bólu trzewnego, który jest czynnikiem wywołującym stres jelitowy manifestujący się znamienym zwiększeniem stężenia katecholamin osoczowych.

2. Postać racemiczna kwasu amino-3-fosfonopropionowego jest tylko nieznacznie skuteczniejsza od jego enancjomera w znoszeniu objawów wegetatywnych bólu jelitowego powodowanego rozciąganiem ściany okrężnicy zstępującej u owcy.

Piśmiennictwo

1. Kania B. F., Śutlak V.: Influence of centrally administered Diltiazem on behavioural response, clinical symptoms, reticulo-ruminal contraction and plasma catecholamine level after experimentally induced duodenal distension in sheep. *Res. Vet. Sci.* 2011, 90, 291-297.
2. Kania B. F., Wrońska D.: Supraspinal basis of analgesic and clinical effects of the metabotropic glutamate mGluR, antagonist during colonic distension in sheep. *Small Rum. Res.* 2014, 117, 84-93.
3. Kania B. F., Wrońska D., Wielgosz M.: Centrally administered DL-AP3 prevents the autonomic responses to colonic pain in sheep. *Proc. XIII Middle Europ. Buiatric Cong., Beograd 2013*, p. 334-341.
4. Kania B. F., Zaremba-Rutkowska M., Romanowicz K.: Doświadczalny stres jelitowy powodowany przez rozciąganie dwunastnicy u owcy. *J. Anim. Feed Sci.* 1999, 8, 233-245.
5. Okada S., Yamagushi-Shima N., Shimizu T., Arai J., Yorimitsu M., Yokotani K.: Centrally administered N-methyl-d-aspartate evokes the adrenal secretion of noradrenaline and adrenaline by brain thromboxane A2-mediated mechanisms in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2008, 586, 145-150.
6. Varney M. A., Gereau I. V.: Metabotropic glutamate receptor involvement in model of acute and persistent pain: prospects for the development on novel analgesics. *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.* 2002, 1, 283-296.
7. Wang Y., Fice D. S., Yeung P. K. F.: A simple high-performance liquid chromatography assay for simultaneous determination of plasma norepinephrine, epinephrine, dopamine and 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid. *J. Pharmac. Biomed. Anal.* 1999, 21, 519-525.

Adres autora: prof. dr hab. Bogdan Feliks Kania, ul. Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków; e-mail: b.kania@ur.krakow.pl