

ЕФЕКТ ЕСОМЕПРАЗОЛА НА АЛКОХОЛОМ ИЗАЗВАНЕ СТРЕС УЛКУСНЕ ЛЕЗИЈЕ ПАЦОВА

Букумирић З.¹, Јанићијевић-Худомал С.¹, Рашић Ј.¹, Пиперски В.², Митић Р.¹, Станојевић З.¹

¹Институт за фармакологију са токсикологијом, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

²Центар за биомедицинска истраживања Галеника а.д. Београд

THE EFFECTS OF ESOMEPRAZOLE ON ALCOHOL INDUCED STRESS ULCER LESIONS IN RATS

Букумирић З.¹, Јанићијевић-Худомал С.¹, Рашић Ј.¹, Пиперски В.², Митић Р.¹, Станојевић З.¹

¹Institute of Pharmacology and toxicology, Medical faculty Priština, Kosovska Mitrovica

²Department for biomedical research, A.D. Galenika, Beograd

SUMMARY

Stress ulcer presents acute lesion of gastric mucosa, which resulted from influence of different stressors: trauma, shock, burns, drugs administration, various irritants etc. Since pathogenesis of stress ulcer is not completely clarified, the most adequate therapy for the patients which suffer from it, is not defined yet. Esomeprazole is a S-isomer of omeprazole and is the first inhibitor of proton pump synthesized as an isomer. Our aim was to test effects of esomeprazole, given during pretreatment and posttreatment period, on progress of alcohol induced stress ulcer lesions. We had experiments on sexually mature Wistar rats weight 200-250 g. Alcohol stress was induced by intragastric administration of 1 mL 96% alcohol. Alcohol stress produced massive submucosal lesions in glandular part of stomach. Macroscopic lesions were verified histologically. Intragastric pretreatment administration of esomeprazole (20 mg/kg BW) significantly ($p < 0,001$) reduced gastric lesions. Intragastric post-treatment administration of esomeprazole (20 mg/kg BW) did not reduce gastric lesions. Esomeprazole (20 mg/kg BW) administrated in pretreatment period of alcohol induced stress significantly decreased dimensions of stress ulcer lesions in rats, while the same dose administrated in posttreatment period did not cause that effect.

Key words: Stress ulcer, Esomeprazole, Rats.

САЖЕТАК

Стрес улкус представља акутну лезију мукозе желуца, која је настала као последица деловања различитих стресора: трауме, шока, опекотина, примене лекова, разних иританаса итд. Патогенеза стрес улкуса је још увек недовољно разјашњена, па сходно томе није дефинисана ни најадекватнија терапија код ових болесника. Есомепразол је С-изомер омепразола и то је први инхибитор протонске пумпе синтетисан као изомер. Циљ рада нам је био да испитамо ефекте есомепразола датог у претретману и посттретману алкохолног стреса на развој стрес улкусних лезија. Огледи су вршени на полно зрелим мужјацима Wistar пацова телесне масе 200-250 грама. Алкохолни стрес је изазиван интрагастричном применом 1 mL 96% алкохола. Алкохолни стрес продукује масивне субмукозне лезије у glandуларном делу желуца. Макроскопски виђене лезије су верификоване патохистолошки. Интрагастрична примена есомепразола (20 mg/kg TT) у претретману алкохолног стреса значајно смањује величину гастричних лезија ($p < 0,001$). Интрагастрична примена есомепразола (20 mg/kg TT) у посттретману алкохолног стреса не доводи до смањења величине гастричних лезија. Есомепразол у дози од 20 mg/kg TT примењен у претретману алкохолног стреса значајно смањује површину стрес улкусних лезија пацова, док иста доза примењена у посттретману није изазвала овај ефект.

Кључне речи: Стрес улкус, Есомепразол, Пацови.

УВОД

Стрес је неизбежан пратилац живота и није болест, али може довести до болести. Тридесетих година прошлог века, описујући општи адаптациони синдром код експерименталних животиња, Selye је утврдио да га увек прате исти патоанатомски налази: хипертрофија надбубрежне жлезде, атрофија тимуса и акутне лезије желуца или стресулкуси (1).

Стрес улкус је акутна лезија мукозе желуца или акутни хеморагични гастритис, настао у прва 24^h изложености стресу (опекотине, политрауме, обимни хируршки захвати, краниоцеребралне повреде, сепса, хемора-

гички шок, инсуфицијенција бубрега, срца или јетре, психолошки стресови, локалне иритирајуће супстанце) (2).

Стрес улкуси су једна од најчешћих компликација у Јединицама интензивне неге. Развијају се у року од неколико минута до три сата од момента излагања стресу. У току прва 24^h од пријема на јединицу интензивне неге, 75% до 100% тешко оболелих пацијената показује оштећење мукозе желуца повезано са стресом (3).

Многобројни истраживачи, као најбитније факторе који су одговорни за настајање стрес улкусних

лезија, наводе: исхемију желудачне слузнице, редукцију цитопротективних механизма, повећање перисталтике желуца и појачану секрецију желудачне киселине (3).

У односу на пептички улкус, стрес улкус се: чешће локализује у желуцу, крварења су бројна у мукози, запаљење је осредње, а смртност висока (4).

Терапија стрес улкуса се у великој мери показала као неефикасна. Као алтернатива наметала се примена одговарајућих лекова пре или непосредно после излагања организма стресу. У превенцији стрес улкуса до данас су коришћене различите групе лекова међу којима су значајно место заузели: антациди, сукралфат, H_2 блокатори и инхибитори протонске пумпе (IPP) (5).

Задњих неколико година IPP као моћни лекови заузели су доминантно место у терапији стрес улкуса у јединицама интензивне неге. Есомепразол је С-изомер омепразола. То је први инхибитор протонске пумпе изолован као изомер, унапређене фармакокинетики и представља новину у односу на постојеће IPP лекове. Као и остали IPP есомепразол делује тако што блокира протонску пумпу у паријеталним ћелијама желуца и спречава секрецију желудачне киселине, без обзира на начин којим је ова секреција стимулисана. Свака таблета есомепразола садржи 1000 куглица магнезијум трихидрата заштићених од HCl (6,7).

Како не постоји адекватна терапијска доктрина за лечење акутног стрес улкуса, а ради се о веома тешким пацијентима, постоји оправданост интензивног проучавања овог проблема на експерименталним животињама.

ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

Циљ рада био је да се испита:

- појава, број и површина акутних желудачних лезија (макроскопских и микроскопских) при примени алкохолног стрес модела, и
- ефект есомепразола на развој стрес улкусних лезија, изазваних применом алкохолног стрес модела.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Огледи су вршени на полно зрелим мужјацима белих лабораторијских пацова типа Wistar, старости до 3 месеца и телесне масе од 200-300 грама. Коришћени су пацови гајени у виваријуму Центра за биомедицинска истраживања Галеника а.д. Све животиње су пре огледа изложене 24-сатном гладовању мештањем у метаболичке кавезе. Вода је била ad libitum.

У току огледа користили смо есомепразол (Nexium®, таблете 20 mg), апликован интрагастрично у дози 20 mg/kg ТМ, растворан у дестилованој води непосредно пре примене. Животиње су третиране испитиваним леком 30 минута пре или 60 минута након почетка стресирања. Дозе испитиваних супстанци одређиване су на основу Clarks-ове формуле. Животиње које нису добиле лек и нису биле изложене стресу служиле су као контрола легла.

Алкохолни стрес изазиван је интрагастричном применом 1 mL 96% алкохола (8). У зависности од вре-

мена излагања стресу и примене лека животиње су подељене у огледне групе. Број животиња у свакој групи износио је 6.

A0₁ - алкохол контрола животиње које су биле изложене алкохолном стресу и жртвоване након 1^h.

A0₂ - алкохол контрола животиње које су биле изложене алкохолном стресу и жртвоване након 3^h.

AEa - алкохол + есомепразол прејпрејман животиње које су добиле есомепразол 30 минута пре стреса и жртвоване 1^h по изазивању стреса.

AEb - алкохол + есомепразол постпрејман животиње изложене алкохолном стресу, које су примиле есомепразол 60 минута након стреса и жртвоване након 3^h.

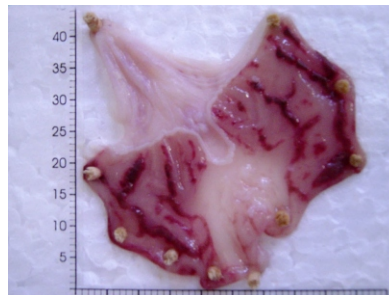
Након жртвовања животиња у старској наркози посматране су макроскопске и микроскопске промене на слузници желуца, а сваки од припремљених желуца је фотодокументован дигиталним апаратом у макро моду. Фотографије су пребачене у РС и помоћу програмског модула Get Area Lite за Corel Draw 11 је израчуната површина претходно обележених промена. Величина субмукозних крварења изражена је кроз Индекс крварења, који је израчунат као количник из укупне површине крварења (mm²) и броја животиња. Тако израчунати индекс био је основни показатељ за процену антиулкусног ефекта испитиваног лека.

Макроскопски препарати били су подвргнути стандардној процедури за прављење хистолошких препарата и анализирани помоћу светлосног микроскопа, а карактеристичне промене су фотодокументоване.

Тестирање статистичке значајности извршено је помоћу Студент т-теста, за мале и независне узорке. Критеријум за статистичку значајност био је $p < 0,05$, $p < 0,01$ и $p < 0,001$.

РЕЗУЛТАТИ

Интрагастрична примена 1mL 96% алкохола, довела је до развоја субмукозних крварења у glandуларном делу желуца код свих огледних животиња. Лезије слузнице желуца по типу ерозија нису биле присутне. У контролној A0₁ групи просечна површина субмукозног крварења по животињи износила је 194,62 mm². Макроскопски виђене промене верификоване су микроскопски као субмукозно крварење са едемом слузнице и мноштвом леукоцита уз lamina muscularis muscosaе и исподње. (Слика 1)



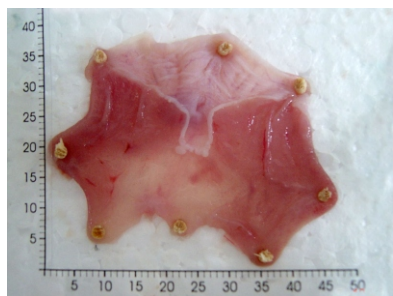
Слика 1. - Макроскопски изглед желуца контролне A0₁ групе животиња

Код контролне $A0_2$ групе животиња дошло је до развоја масовних субмукозних крварења у желуцу. Просечна површина сумукозног крварења по животињи износила је $252,04 \text{ mm}^2$. Мукозне лезије су биле најизраженије од свих група животиња подвргнутих алкохолном стресу, што се може видети и на слици 2. Микроскопски се види јако едематозна субмукоза, са ћелијама запаљења (леукоцити и макрофаги) и маса еритроцита.



Слика 2. - Макроскопски изглед желуца контролне $A0_2$ групе животиња.

У групи животиња ($AЕa$) која је 30 минута пре излагања алкохолном стресу добила есомепразол (20 mg/kg TM), дошло је до смањења површине субмукозних крварења на слузници желуца. (Слика 3)



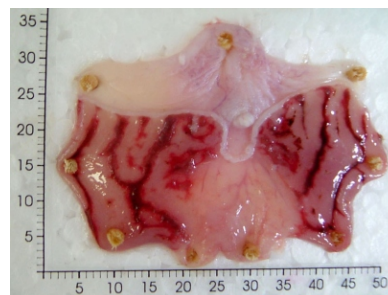
Слика 3. - Макроскопски изглед желуца $AЕa$ групе животиња, која је примила есомепразол у претретману алкохолног стреса



Графикон 1. - Површина крварења код животиња контролне групе ($A0_1$) и животиња изложених алкохолном стресу које су примиле есомепразол у претретману ($AЕa$).

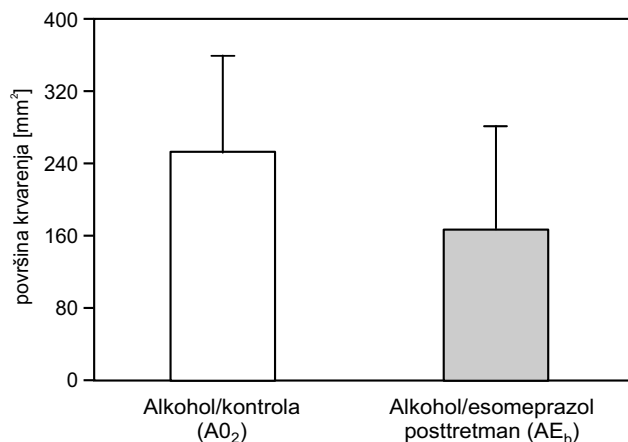
Просечна површина субмукозног крварења по животињи износила је $26,64 \text{ mm}^2$, што је статистички значајно смањење површине крварења ($p < 0,001$) у односу на контролну $A0_1$ групу животиња ($194,62 \text{ mm}^2$). (Графикон 1)

У групи животиња ($AЕb$) које су добијале есомепразол (20 mg/kg TM), 1^h након алкохолног стреса, и жртвоване 3^h након давања есомепразола, дошло је до појаве субмукозних крварења на слузници желуца. (Слика 4)



Слика 4. - Макроскопски изглед желуца $AЕb$ групе животиња.

Просечна површина субмукозних крварења по животињи износила је $168,82 \text{ mm}^2$ и није била статистички значајно различита у односу на контролну $A0_2$ групу животиња ($252,04 \text{ mm}^2$). (Графикон 2)



Графикон 2. - Површина крварења код животиња контролне групе ($A0_2$) и животиња изложених алкохолном стресу које су примиле есомепразол у посттретману ($AЕb$).

ДИСКУСИЈА

Примена есомепразола (20 mg/kg TM) у претретману, 30 минута пре излагања алкохолном стресу, довела је до статистички значајног смањења ($p < 0,001$) површине субмукозног крварења у односу на контролну групу. С друге стране, примена есомепразола у истој дози, 60 минута након изложености стресу није довела до значајног смањења величине промена. Есомепразол је, дакле, испољио ефект, једино када је апликован пре настанка гастричних лезија, али није имао никакав утицај на већ настале промене.

Познато је да есомепразол инхибише лучење HCl-а блокадом протонске пумпе у паријеталним ћелијама желуца, па би то могао бити један од начина његовог превентивног деловања на слuzницу желуца, током алкохолног стреса. Литературни подаци, међутим, наводе опречне податке о значају лучења HCl-а у настајању стрес улкусних лезија. Док неки аутори сматрају да појачано лучење HCl-а игра значајну улогу у формирању желудачних лезија, други је минимизирају (9). Постоје такође литературни подаци који указују на то да протективна улога омепразола (чији је оптички С-изомер есомепразол) није последица редукције гастричне секреције. Наиме, интравенска и интраперитонеална примена овог блокатора протонске пумпе и поред потпуне инхибиције секреције киселине, нема антиулкусни ефект (10).

Намеће се размишљање, да је HCl вероватно последица, а не узрочни фактор у настанку стрес улкусних лезија. То значи да ерозија не настаје као последица деловања киселине, већ да једном настала ерозија подлеже дејству киселине и постаје још интензивнија.

Могуће је да есомепразол, у току претретмана у алкохолном стресу, није испољио заштитно деловање само тиме што је спречио лучење HCl. Наиме, MUPS таблете есомепразола су фармацеутски приправљене тако да свака таблета садржи 1000 ацидорезистентних куглица са магнезијум трихидратом. Њиховим растварањем добија се стабилна суспензија, те би могући механизам гастропротекције био локално, заштитно облагање желудачне слuzнице суспензијом. У прилог овој претпоставци иду и неки радови са омепразолом, у којима аутори закључују да је антиулкусни ефекат омепразола могућ само након његовог локалног контакта са мукозом желуца (11).

ЗАКЉУЧАК

На основу добијених резултата могу се извести следећи закључци:

- Стрес улкус изазван применом 96% алкохола манифестује се интензивним субмукозним крварењима.

- Есомепразол у дози од 20 mg/kg ТМ, примењен интрагастрично 30 минута пре алкохолног стреса значајно смањује површину субмукозног крварења, код примена исте дозе у посттретману овај ефект је изостао.

ЛИТЕРАТУРА

1. Selye H. The evolution of the stress concept. *Am Scient.* 61: 692-699, 1973.
2. Almy TP. The gastrointestinal tract in man under stress. In MH Sleisenger and Fordtran (eds.). *Gastrointestinal diseases.* Saunders, Philadelphia. 3-19, 1978.
3. Fennerty MB. Pathophysiology of the upper gastrointestinal tract in the critically ill patient: rationale for the therapeutic benefits of acid suppression. *Crit Care Med.* 30:351-5, 2002.
4. Robert A, Szabo S. Stress ulcers. In Seyle H ed. *Selyes guide to stress research.* Van Nostrand Reinhold Company Inc, New York. 2:22-46, 1983.
5. Yang YX, Lewis JD. Prevention and treatment of stress ulcers in critically ill patients. *Semin Gastrointest Dis.* 14:11-9, 2003.
6. Jung R, MacLaren R. Proton-pump inhibitors for stress ulcer prophylaxis in critically ill patients. *Ann Pharmacother.* 36: 1929-37, 2002.
7. Hassan-Alin M, Andersson T, Bredberg E, Rohss K. Pharmacokinetics of esomeprazole after oral and intravenous administration of single and repeated doses to healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol.* 56:665-670, 2000.
8. Vogel HG... (ed.). *Drug discovery and evaluation: pharmacological assays / 2nd ed.* Springer-Verlag-Berlin-Heidelberg -New York. 2002.
9. Јанићијевић-Худомал С. Механизми настанка и превенција различитих форми стрес улкуса код експерименталних животиња. Докторска дисертација, Приштина, 1996.
10. Kollberg B, Isenberg JI, Johansson C. Cytoprotective effect of omeprazole on the rat gastric mucosa. In Allen et al. (eds.). *Mechanism of mucosal protection in the upper gastrointestinal tract.* Raven Press. New York. 351-356, 1984.
11. Wong SH, Cho CH, Ogle CW. The influence of omeprazole on the protective effects of secretagogues against ethanol-induced gastric ulceration in rats. *Eur J Pharmacol.* 141:453-9, 1987.