

A HASNYÁLMIRIGY KÜLSŐ SZEKRECIÓJÁNAK VIZSGÁLATA A VÉKONYBÉL KÜLÖNBÖZŐ SZEGMENTUMAIN ÁTÁRAMOLTATOTT EPESŐ (Na-TAUROCHOLAT) PERFÚZIÓJA UTÁN

ORMAI SÁNDOR, az orvostudományok kandidátusa

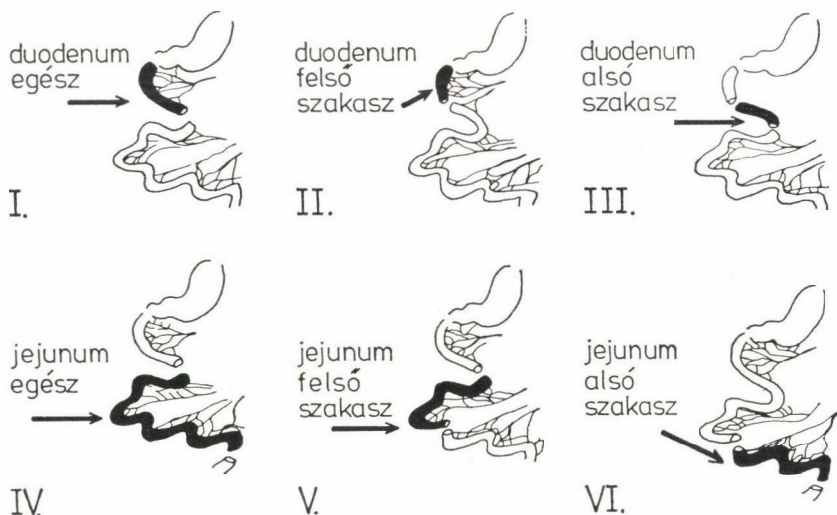
Közlésre érkezett: 1980. XII. 23.

Az enterális emésztés fontos momentuma a gyomorból a sósavval előemésztett táplálék bejutása a duodenumba és keveredése az epével. Ismert, hogy a gyomorsósav a hasnyál elválasztásának egyik fő ingere. Sósav hatására a bél falban termelődő secretin indítja el a hasnyál szekrécióját. Az epe, amint azt korábbi vizsgálatok bizonyították, ugyancsak fokozza a hasnyál termelését, (Mellanby, 1926; Lagerlöf, 1942; Wormsley, 1970; Forell, 1971; Hotz et al., 1977; Eisenhardt et al., 1977; Hartmann et al., 1980), stimuláló hatásának mechanizmusa azonban mindmáig tisztázatlan.

Kísérleteink során vizsgálni kívántuk azokat a körülményeket: pl. a stimuláló epe ideális koncentrációját, a pH optimumot, az epével való szekréció-növelés lehetőségének gyakoriságát, stb., amelyek szükségesek ahhoz, hogy a vizsgált bélszakasz lumenének epével való átáramoltatása (perfúziója, stimulálása) a hasnyálmirigy jelentős nedv- és enzimszekrécióját hozza létre.

Anyagok és módszerek

A kísérleteket 1.8—2.5 kg testsúlyú, 24 órán át éheztetett mindkét nem-béli macskákön végeztük. Az állatokat Nembutal narkózisban (30 mg per kg i. p.) operáltuk meg. A hasüreg megnyitása után a d. choledochust lekötöttük, a d. hepaticusba és a pancreas kivezetőcsőbe, annak a duodenumba való beszájadzása előtt egy-egy polietilén kanült kötöttünk. Az előbbin a májból jövő epét vezettük el, az utóbbin át pedig a hasnyálat gyűjtöttük 10 perces frakciókban. A pylorust ugyancsak lekötöttük a gyomorban termelődött sósav bélbejutásának megakadályozására. A gyomrot a sósav semlegesítése céljából 30 percenként egy a szájon át bevezetett szonda segítségével 1.8 M NaHCO₃-al átöblítettük. Az átáramoltatni kívánt bélszakaszt az 1. sz. ábrán feltüntetett valamelyik séma szerint preparáltuk ki. A megfelelő bélszakasz lumenének proximális és distalis végébe egy-egy polietilén kanült kötöttünk, és azon át a



I. ábra Sematikusan mutatja a különböző műtéti preparátumokat. Az átáramoltatott bélszakaszokat sötét szín jelzi

passage irányában 0.15 M élettani konyhasóoldatot (NaCl), vagy különböző koncentrációjú, NaCl-ban oldott 0.06, vagy 0.09, vagy 0.12, vagy 0.15, vagy 0.18 M Na-taurocholat oldatokat (TC) perfundáltunk 45 ml/óra sebességgel 60 percen át. (Na—Taurocholat, MG 537.7, Fluka AG, Buchs SG.)** A perfundált bélszakaszok vérellátása, valamint beidegzése zavartalan maradt. Az egyik állatcsoportban a különböző pH-jú oldatoknak a hasnyál szekréciójára gyakorolt hatását vizsgáltuk oly módon, hogy a duodenumot 0.1 N NaOH-val, vagy 0.1 N HCl-el beállított 5, vagy 6.5, vagy 7.0, vagy 8.5, vagy 9.5-ös pH-jú 0.15 M TC-vel perfundáltuk. A duodenum átáramoltatását az állatok egy másik csoportjában 5, vagy 15, vagy 30, vagy 60, vagy 90, vagy 120 perccel az első perfúzió után megismételtük. A preparátum elkészülte után a perfúzió megkezdése előtt, minden esetben 30 perces előperiódust tartottunk a műtét okozta stressz lezajlását várva, miközben a vizsgálni kívánt bélszakaszon át 0.15 M NaCl-t perfundáltunk. A különböző időintervallumokban végzett TC perfúziók közötti időben ugyancsak 0.15 M NaCl-t áramoltattunk át a bélszakaszokon. A hasnyálmirigy alapszekréciójának biztosítása céljából minden állat femorális vénájába 0.1 C. U. (kg) óra secretint (G. I. H. Laboratory Karolinska Institutet, Stockholm) perfundáltunk a kísérlet folyamán. A kísérlet végén ugyancsak a vena femoralisba 4 C. U. secretint és 16 I. D. U. CCK-PZ-t (G. I. H. Laboratory,

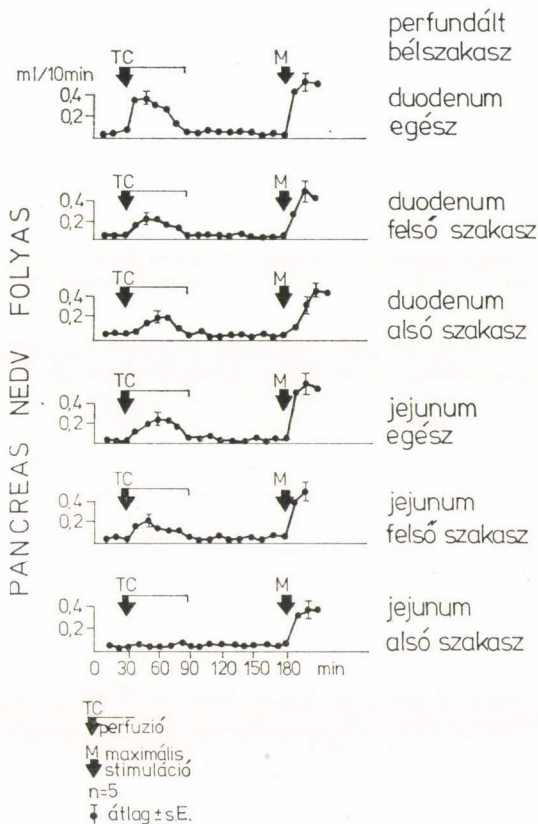
** A perfúzió során használt folyadékok ozmolalitását NaCl hozzáadásával állítottuk be, hogy az ozmolalitás 300 ± 10 mosM legyen.

Karolinska Institutet, Stockholm) fecskendeztünk a pancreas szekréció maximális stimulálására. Megmértük a gyűjtött hasnyál-minták térfogatát, majd Rick és Stegbauer (1970) módszerével meghatároztuk a mintákban levő amiláz mennyiségét. Az epevezetéken át kifolyt epét elöntöttük. Az eredmények statisztikai értékelésére a Student „t” tesztet használtuk.

Eredmények

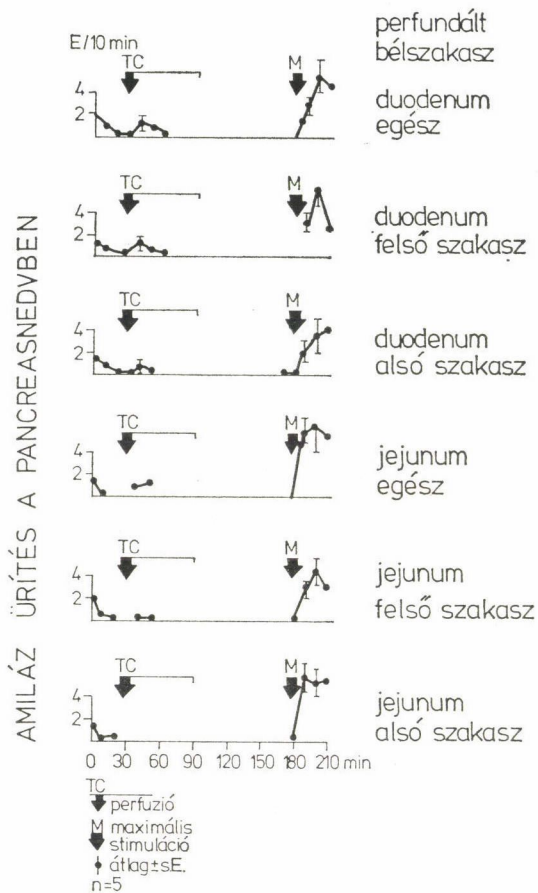
A különböző vékonybélszakaszok 0.15 M TC-vel való átáramoltatása után kapott szekréciós válasz

A duodenum 0.15 M TC-vel (pH 6.5) való átáramoltatása az alapszekrécióhoz viszonyítva jelentős, a maximális szekréció 65–70%-ának megfelelő nedvelválasztást eredményezett. Azokban az állatokban, amelyekben vagy a duodenum proximális, vagy a distalis szegmentumát áramoltattuk át, a maxi-



2/a. ábra A pancreasnedv folyást ábrázolja a vékonybél különböző szakaszain 0,15 M TC-vel (pH 6,5) történt perfúzió, valamint a maximális stimuláció (M) után

mális nedv szekréciónak csupán 30–35%-át kaptuk szegmentumként. A teljes jejunumszakasz átáramoltatása után a maximális nedv-szekréció 30–40%-át találtuk. A proximális jejunumszakasz átáramoltatása után a maximális nedv-

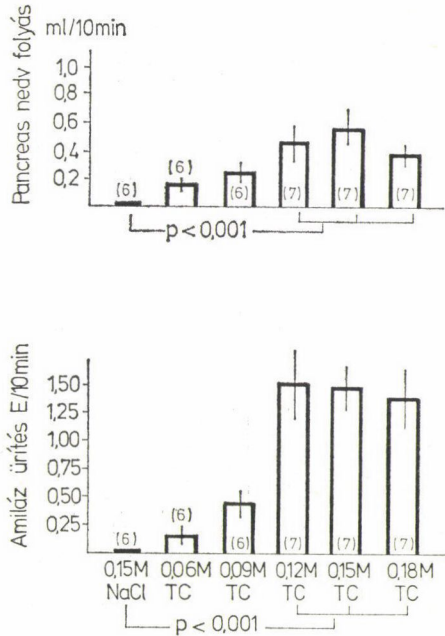


2/b. ábra A pancreasnedvben ürített amiláz mennyiséget tünteti fel a vékonybél különböző szakaszain 0,15 M TC-vel (pH 6,5) történt perfúzió, valamint a maximális stimuláció (M) után

szekréciónak 35–37%-át kaptuk, ezzel szemben a distalis jejunumszakasz perfúziója nem eredményezett szekréciós választ. A nedvelválasztás fokozódása már 10 perccel a perfúzió megkezdése után megindult, 10–20 perc alatt elérte a legmagasabb szintet, majd a továbbtartó perfúzió ellenére a 60. perc végére fokozatosan lecsökkent a perfúziót megelőző értékre (2/a–b ábra).

Szekréciós válasz a duodenum különböző koncentrációjú epesóval való perfúziója után

A 3. ábrán tüntettük fel a különböző koncentrációjú TC oldatoknak a duodenumon át történt perfúziója után kapott szekréciós válaszokat a perfúzió 10–20. perce között gyűjtött mintákban. A 0,15 M NaCl-el való átáramoltatás nem váltott ki nedvelválasztás fokozódást.

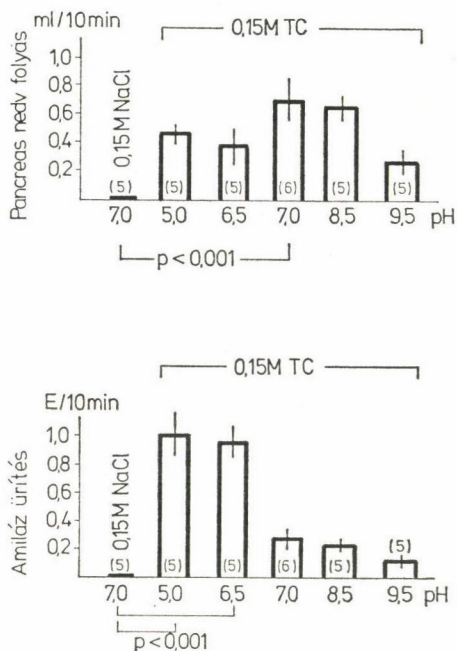


3. ábra A pancreasnedv folyást és az abban ürített amiláz mennyiségeket mutatja a duodenum 0,15 M konyhasóval, vagy különböző molaritású TC-vel való átáramoltatása (pH 6,5) után a perfúziót követő 10–20. perc között gyűjtött mintákban. A zárójelben levő számok a vizsgálatok számát jelentik

Jelentős hasnyál szekréció növekedést kaptunk a 0,12 M vagy 0,15 M, vagy 0,18 M TC-vel végzett perfúzió után. A legnagyobb nedvelválasztás a 0,12 M–0,15 M koncentrációjú TC-vel való perfúzió után jött létre. A pancreasnedvben ürített amiláz mennyiségét szintén a 3. ábrán mutatjuk be. Jelentős amilázszekréciót csak a 0,12 M, vagy a 0,15 M, illetve a 0,18 M TC-vel való perfúzió során találtunk.

A duodenum különböző pH-jú 0.15 M TC-vel való átáramoltatása után kapott szekréciós válasz

Jelentős nedvelválasztást kaptunk ugyancsak a perfúzió első tíz percében gyűjtött mintákban, amikor a duodenumot 5-ös vagy 6.5 vagy 7.0 vagy 8.5 vagy 9.5-ös pH-jú 0.15 M TC oldatokkal perfundáltuk. Az előbbiektől eltérő



4. ábra A pancreasnedv folyást és a nedvben ürített amiláz mennyiségeket mutatja a duodenum 0,15 M konyhasóval, vagy különböző pH-jú TC-vel (0,15 M) való átáramoltatása után, a perfúziót követő 10–20. perc között gyűjtött mintákban. A zárójelben levő számok a vizsgálatok számát jelentik

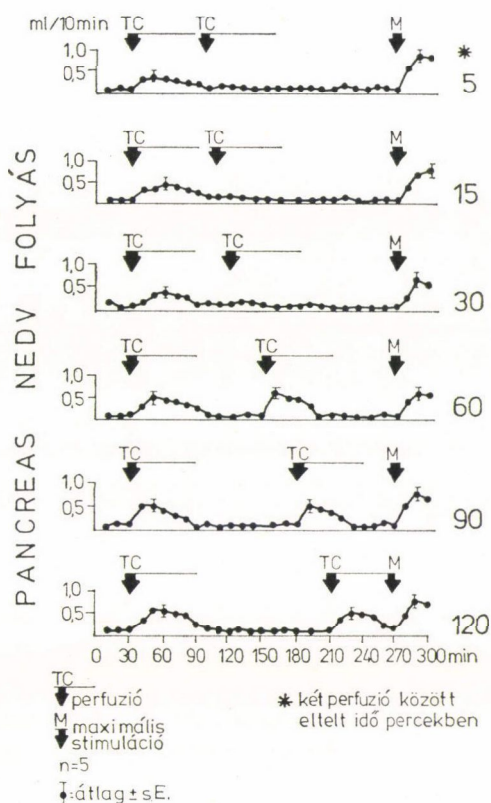
pH-jú TC oldatok, továbbá a pH 7-es 0.15 M NaCl oldat nem váltottak ki jelentős nedvszekréciót.

A pancreasnedv amiláz tartalma a pH 5 és 6.5-ös TC-vel való perfúzió után volt a legmagasabb. A 0.15 M NaCl perfúzió során amiláz szekréciónövekedést nem találtunk (4. ábra).

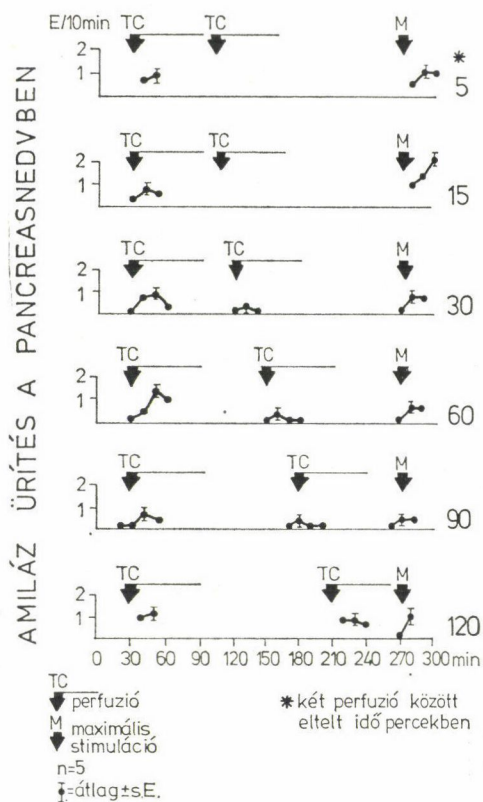
Szekréción válasz a duodenum 0.15 M TC-vel különböző időközökben megismételt átáramoltatása után

A duodenum 0.15 M TC-vel való perfúziója hatására a maximális szekréciónak képest 55–65%-os nedvelválasztást kaptunk. Ha az átáramoltatást 5 perccel, vagy 15 perccel az első perfúzió után megismételtük, a másodikat nem követte szekréción válasz. Azokban az állatokban, amelyekben a perfúzió ismétlését legalább 30 perccel az első után végeztük, az ismétlést mérhető, de nem szignifikáns szekréciónfokozódás követte. Ezzel szemben azokban az állatokban, amelyekben a második perfúzió 60 vagy 90 vagy 120 perccel követte az első, a szekréción válasz az elsővel azonos mértékű, a maximális válasz 50–70%-ának megfelelő volt. (5/a. ábra).

A pancreasnedvben levő amiláz mennyisége az 5, vagy 15 perc múlva megismételt perfúzió hatására nem növekedett meg. Ezzel ellentétben a 30. percben, vagy az ennél hosszabb időintervallumban megismételt perfúzió



5/a. ábra A pancreasnedv folyását ábrázolja a duodenum különböző időintervallumokban végzett két egymás utáni TC perfúzió (0,15 M; pH 6,5), valamint a maximális stimuláció (M) után



5/b. ábra A pancreasnyedvben ürített amiláz mennyiségeket mutatja a duodenum különböző időintervallumokban végzett két egymás utáni TC perfúzió (0,15 M; pH 6,5), valamint a maximális stimuláció (M) után

jelentős, de az első válaszhoz képest kisebb amilázürítést váltott ki. Megfigyeltük továbbá, hogy azokban az állatokban, amelyekben a második perfúzió amilázszekréciót eredményezett, a maximális stimuláció után alacsonyabb amiláz értékeket kaptunk, azokhoz képest, amelyekben a második perfúzió nem váltott ki fokozott amiláz ürítést (5/b. ábra).

Az élettani konyhasóval végzett megismételt perfúzió után egyetlen esetben sem találtunk szekréciónövekedést, vagy amilázürítés fokozódást.

Megbeszélés

Régóta ismertek Mellanby (1926), valamint Lagerlöf (1942) megfigyelései, amelyek szerint az epe, illetve az epesók bejutása a duodenum lumenébe mind a hasnyál, mind pedig az emésztőenzimek elválasztását fokozza. Újabb vizsgálati módszerek alkalmazásával Forell és mtsai (1971), valamint Wormsley (1970) az előbbi megfigyelést embereken végzett vizsgálataik során megerősítették. Ismeretes néhány, a fentiekkel ellentétes eredmény is: Ivy és Lueth (1927), valamint Thomas és Crider (1943) epe duodenális perfúziója hatására egyáltalán nem, vagy csak jelentéktelen szekréciós választ találtak kutyában. Negatív eredményeiket a speciesbeli különbséggel magyarázhatjuk.

Kísérleteink során olyan körülményeket hoztunk létre macskában, amelyek lehetővé tették a vizsgálni kívánt bélszakasz viszonylagos függetlenítését a többi bélszakasztól, a vérkeringés, nyirokkeringés és a beidegzés épen hagyása mellett. A körülmények lehetővé tették a szekréciót stimuláló anyag (jelen esetben a TC) összetételének, koncentrációjának, valamint pH-jának standardizálását és a kiválasztott bélszakasz lumenébe való bevitelét. Ugyancsak megoldott, hogy a vizsgált bélszakaszt mentesítsük a táplálékmaradványoktól, kiküszöböljük a gyomor HCl és a saját epe pancreas szekréciót befolyásoló hatását. Az említett kísérleti körülmények jól standardizálhatók, ezért az eredmények is jól reprodukálhatók. Az alapszekréció nagysága a femorális vénába infundált secretin dózisának változtatásával a kívánt szintre beállítható.

Az ily módon végzett kísérletek eredményei egyértelműen megerősítik a korábban említett szerzők megfigyeléseit, vagyis, hogy a duodenojejunalis vékonybélszakasz epesóval való átáramoltatása fokozza a hasnyálmirigy nedv- és enzimszekrécióját. Kísérleteink során kimutattuk, hogy a különböző — TC-vel perfundált — bélszakaszok közül a legnagyobb szekréciós választ a duodenum perfúziója eredményezi. A jejunum átáramoltatása a duodenuméhoz képest jelentősen kisebb szekréciós választ váltott ki. Az epesóval való perfúzió tehát azokban a bélszakaszokban hatásos a hasnyál és az amiláz elválasztására, amely bélszakaszok falában a secretin termelő ún. S sejtek vannak. A perfundált epesó secretin elválasztást fokozó hatását kísérleteinkkel egyidőben Osnes és mtsai (1978), valamint Hanssen és mtsai (1980) bebizonyították.

Megfigyeltük, hogy a különböző molaritású TC oldatokkal történt perfúziókra kapott szekréciós válasz az isosmolaris, vagy ahhoz közelálló osmolaritású epesóval való perfúzió után volt számottevő, bizonyítva a stimuláló anyag koncentrációjának jelentőségét a nedvelválasztás létrejöttében.

Azt is kimutattuk, hogy jelentős eltérés van a hasnyál, valamint az enzim-elválasztás pH optimumában. A nedvelválasztás viszonylag széles pH tartományban (pH 5—9.5) kiváltható, amíg az enzimelválasztás csak az inkább

savas (pH 5—6.5) kémhatás mellett jön létre. A hasnyál szekréciója (secretin hatás) tehát sokkal kevésbé pH érzékeny, mint az enzimszekréció (CCK-PZ hatás). Eredményeink alapján úgy tűnik, hogy a stimuláló epesó optimális pH-ja 5—6.5 között van, amely jelentős nedvelválasztást és enzimürítést biztosít. Összehasonlításként megemlítjük, hogy Mellanby 6.9-es pH-jú epével, Osnes és mtsai (1978) 6—7 pH-jú epesóval váltottak ki nedvelválasztás növekedést. Említésre érdemes az a körülmény is, hogy különböző aminosavak keverékének perfúziója a duodenumban 6-os pH mellett (Ertan és mtsai, 1971), L-phenylalanin perfúziója 7-es pH esetén (Meyer és Grossman, 1972), egy ételkeverék perfúziója pedig pH 1—4 között váltott ki jelentős nedvszekréciót (Fahrenkrug et al., 1977).

Megállapítottuk, hogy az epesóval kiváltott szekréciós válasz a perfúzió kezdetétől számított 10 percen belül — az elválasztott hasnyál mennyiségének növekedése útján — kimutatható. A megnövekedett hasnyál mennyisége 20 percen belül eléri a maximumot, majd a továbbtartó TC perfúzió ellenére fokozatosan lecsökken a kiindulási értékre. Ezt a csökkenést egy legalább 30 perces refrakter időszak követi, amelyen belül a pancreas nedvelválasztása TC-vel nem fokozható. Ezzel szemben azonban megfigyeltük, hogy a refrakter időn belül 0.1 N HCl-el végzett duodenális perfúzió kivált ugyan egy újabb nedvszekréciós választ, ez azonban alacsonyabb, mint a nem refrakter időszakban kapott válasz 0.1 N HCl perfúziója után. Az említett refrakter állapot okát nem ismerjük. Feltételezzük, hogy a secretin elválasztás létrejöttében érdekelt valamely receptor átmeneti telítettségéről, vagy egy a secretin elválasztáshoz szükséges mediator átmeneti hiányáról van szó. Ennek tisztázása további vizsgálatokat igényel.

A TC-vel való perfúzió hatására létrejött nedvelválasztás növekedés (secretin hatás) mellett jelentős enzim (α -amiláz) ürítést is kimutattunk. A nedvelválasztás fokozódása során ürített amiláz minden valószínűség szerint az ún. „wash-out” effektus eredménye. Nem zárható ki azonban annak lehetősége sem, hogy az epesó perfúzió hatására a CCK-PZ szekréció is fokozódik, és ennek következtében az enzimszekréció is megnő. Ennek vizsgálatára azonban csak a jövőben kerül sor.

Összefoglalás

A hasnyálmirigy nedv- és enzimszekrécióját vizsgálták különböző koncentrációjú, pH-jú Na-taurocholat (TC) oldatnak a vékonybél különböző szakaszain való perfúziója során, altatott macskákban. Megállapították, hogy a legnagyobb pancreasnedv szekréciós válasz a duodenum perfúziója után jön létre. A perfundált TC legnagyobb szekréciós válasz elérése szempontjából optimális koncentrációja 0.12—0.15 M; pH-ja pedig a nedvelválasztást tekintve

pH 5—9.5, az enzimszekréciót tekintve pH 5—6.5. Megállapították továbbá, hogy a stimuláció 30 percen belül azonos módon nem ismételtető. Az epe duodenális perfúziója bizonyítottan a secretin elválasztását stimulálja, amely közvetve idézi elő a fokozott nedvelválasztást a pancreasban. Az enzimürítés növekedését „wash-out” mechanizmusnak tekintik, de nem tartják kizártnak azt sem, hogy a perfundált epesó a CCK-PZ elválasztását is stimulálja.

IRODALOM

- Eisenhardt, J. M., Hotz, J., Ormai, S., Schneider, F., Hartmann, W., Aufgebauer, J. és Goebell, H.: Irish J. Med. Sci. **146**, Suppl. 1, 47 (1977).
 Ertan, A., Brooks, F. P., Ostrow, J. D., Arvan, D. A., Williams, C. N. és Cerda, J. J.: Gastroenterology, **61**, 686 (1971).
 Fahrenkrug, J., Schaffalitzky de Muckadell, O. B. és Holst, J. J.: Scand. J. Gastroent. **12**, 273 (1977).
 Forell, M. M., Oute, M., Kohl, H. J., Lehnert, P. és Stahlheber, H. P.: Scand. J. Gastroent. **6**, 261 (1971).
 Hanssen, L. E.: Scand. J. Gastroent. **15**, 461 (1980).
 Hartmann, W., Hotz, J., Ormai, S., Aufgebauer, J., Schneider, F. és Goebell, H.: Scand. J. Gastroent. **15**, 433 (1980).
 Hotz, J., Ormai, S., Hartmann, W. és Goebell, H.: Eur. J. Clin. Invest. **7**, 219 (1977).
 Ivy, A. C. és Lueth, H. C.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **24**, 837 (1927).
 Lagerlöf, H. O.: Acta Med. Scand. **128**, Suppl. 89 (1942).
 Mellanby, J.: J. of Physiology (Lond.) **61**, 419 (1926).
 Meyer, J. H. és Grossman, M. I.: Amer. J. Physiol. **222**, 1058 (1972).
 Osnes, M., Hanssen, L. E., Flaten, O. és Myren, J.: Gut, **19**, 180 (1978).
 Rick, W. és Stegbauer, H. P.: in: Methoden der Enzymatischen Analyse. Verlag Chemie Weinheim p. 848 (1970).
 Thomas, J. E. és Crider, J. O.: Amer. J. Physiol. **138**, 548 (1943).
 Wormsley, K. G.: Lancet, **2**, 586 (1970).