



Središnja medicinska knjižnica

Dobrić, Ivan (2011) *Učinak pentadekapeptida BPC 157 na refleksni ezofagitis tijekom akutnog pankreatitisa [The effect of pentadecapeptide BPC 157 on reflux esophagitis during acute pancreatitis].* Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.

<http://medlib.mef.hr/1349>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

**SVEUCILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Ivan Dobrić

**Učinak pentadekapeptida BPC 157 na refluksni ezofagitis
tijekom akutnog pankreatitisa**

DISERTACIJA

Zagreb, 2011.

Disertacija je izrađena u Zavodu za farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Voditelj rada: Prof. dr. sc. Mate Majerović, specijalist kirurg, subspecijalist abdominalne kirurgije, Predstojnik Klinike za kirurgiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Zahvaljujem prof. dr. Mati Majeroviću na podršci, vrijednim savjetima i znanju koje je samnom podijelio, kako bi ovaj rad donio rezultate

Zahvaljujem prof. dr. Predragu Sikiriću, koji mi je svojim znanjem, poštenjem i prijateljstvom omogućio napredak u znanosti

Zahvaljujem svim mojim dosadašnjim učiteljima medicine i kirurgije, a poglavito kolegama s mog Zavoda za traumatologiju na Rebru

Zahvaljujem prijateljima Adiju, Kreši i Tomislavu, kao i mnogima drugima

Beskrajno hvala mami Mariji i tati Ivanu, jer mi cijelog mog života omogućuju da ostvarujem svoje snove, a ovaj rad jedan je od beskonačno mnogo njih

Hvala sestri Vedrani

Vječno hvala mojoj supruzi Senki, koja je neopisivnom ljubavlju svakoga dana stvarala vrijeme i mjesto za nastanak ovog rada

Najveća hvala našoj kćerkici Anamariji, kojoj i posvećujem ovaj rad, kao i sve ostalo u budućnosti!

SADRŽAJ

1. POPIS OZNAKA I KRATICA	4
2. UVOD	7
3. CILJ I HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA	39
4. MATERIJALI I METODE	42
5. REZULTATI	50
6. RASPRAVA	74
7. ZAKLJUČAK	92
8. SAŽETAK	94
9. SUMMARY	95
10. POPIS LITERATURE	96
11. ŽIVOTOPIS	122

1. POPIS OZNAKA I KRATICA

GERB- gastroezofagealna refluksna bolest

DES- donji ezofagealni sfinkter

PRDES- prolazna relaksacija donjega ezofagealnog sfinktera

NO- dušični oksid

MMK- migracija motoričkog kompleksa

Ach- acetilkolin

IL 1B- interleukin 1B

PGE₂- prostaglandin E₂

PGF_{2α}- prostaglandin F_{2α}

IL- 6- interleukin 6

PAF- čimbenik aktivacije trombocita (platelet activating factor)

IL- 8- interleukin 8

ARDS- akutni respiratorni distress sindrom

MOF- multiorgansko zatajenje (multiple organ failure)

SIRS- sindrom sistemskoga upalnog odgovora (systemic inflammatory response syndrome)

ERCP- endoskopska retrogradna kolangiopankreatografija

HPLC- visokotlačna kromatografija (High Pressure Liquid Chromatography)

ug- mikrogram

ng- nanogram

AMP- adenzin monofosfat

ADP- adenzin difosfat

ATP- adenzin trifosfat

EGF- epidermalni čimbenik rasta (epidermal growth factor)

NOS- sintetaza NO (nitric oxide synthase)

LT B4- leukotrien B4

TX B2- tromboksan B2

MPO- mijeloperoksidaza

5-HT- 5 hidroksitriptamin (serotonin)

NPY- neuropeptid Y

2. UVOD

Gastroezofagealna refluksna bolest (GERB)

Gastroezofagealna refluksna bolest (GERB) predstavlja sve posljedice refluksa kiseloga ili nekoga drugoga iritirajućeg sadržaja iz želuca, ali i drugih dijelova probavnog sustava u jednjak. Glavni uzrok gastroezofagealnog refluksa jest inkompetencija antirefluksnih barijera na ezofagogastričnom prijelazu.

Refluks alkalnoga duodenalnog sadržaja u želudac potiče sekreciju kiseloga želučanog sadržaja koji tada refluksom u jednjak potiče razvoj ezofagitisa.

Antirefluksna barijera podrazumijeva dva «sfinkterna» mehanizma, donji ezofagealni sfinkter (DES), koji djeluje kao unutarnji, te krakove dijafragme koji djeluju kao vanjski sfinkter.

Do pojave gastroezofagealnog refluksa dolazi kada tlak DES postane manji od intragastričnog tlaka, kao npr. pri hipotenziji DES, povećanoj učestalosti prolazne relaksacije DES (PRDES) te pri svakom izraženijem povišenju intragastričnog tlaka.

Ozbiljnost gastroezofagealne refluksne bolesti povećava se progresivno s refluksom koji je najizraženiji u postprandijalnom periodu te pri ležećem položaju tijekom noći.

Hijatalna hernija rezultat je mnogobrojnih mehanizama udruženih npr. sa smanjenjem tlaka DES, sniženjem eliminacije kiseloga želučanog sadržaja, intenzivnijim gastroezofagealnim refluksom te na kraju s ozbiljnim ezofagitisom.

Zaštitni čimbenici ezofagealne sluznice pri dugotrajnoj ekspoziciji kiselom sadržaju $\text{pH} < 4$ bivaju svladani, što također vodi razvoju ezofagitisa. Nadalje, u daljnjem tijeku zbivanja upalne promjene sluznice jednjaka oštećuju živčane završetke i mišićna vlakna, što utječe na funkciju DES i motiliteta jednjaka. Opisani slijed zbivanja postupno dovodi do progresije refluksne bolesti jednjaka te do pojave komplikacija.

Kao što je općenito poznato, do sada su mnogi čimbenici prihvaćeni kao mogući uzroci GERB (1) (Tablica 1). Disfunkcija jednoga ili više od tih čimbenika može dovesti do poremećaja koji tada dovode do pogodnih uvjeta za razvoj GERB. Od ovih navedenih čimbenika, dominantno se nameću refluks želučanoga ili nekog drugog sadržaja u jednjak, zatim poremećaj u motilitetu (pražnjenju) želuca, strukturni ili fiziološki poremećaji antirefluksnih mehanizama gastroezofagealnog prijelaza, prolazna relaksacija DES, poremećaj eliminacije ezofagealnog sadržaja, alimentarni čimbenici (ingestija iritansa ili čimbenika koji snižuju tlak DES ili oštećuju motilitet jednjaka), nadalje čimbenici koji oštećuju sluznicu jednjaka ili njene obrambene mehanizme, visceralna preosjetljivost, te genetski čimbenici.

Tablica 1. Uzroci GERB

Želučana kiselina i drugi refluksni sadržaji (žuč, enzimi i dr.)

Strukturne i fiziološke promjene antirefluksnih mehanizama gastroezofagealnog prijelaza (DES, ošit, hijatalna hernija, frenoezofagealni ligament)

PRDES

Pražnjenje jednjaka

Integritet i funkcija sluznice i njenih obrambenih mehanizama

Ingestija iritirajućih tvari (nesteroidni antireumatici, neki antibiotici)

Ingestija tvari koje utječu na DES, motilitet jednjaka i želuca (alkohol, lijekovi)

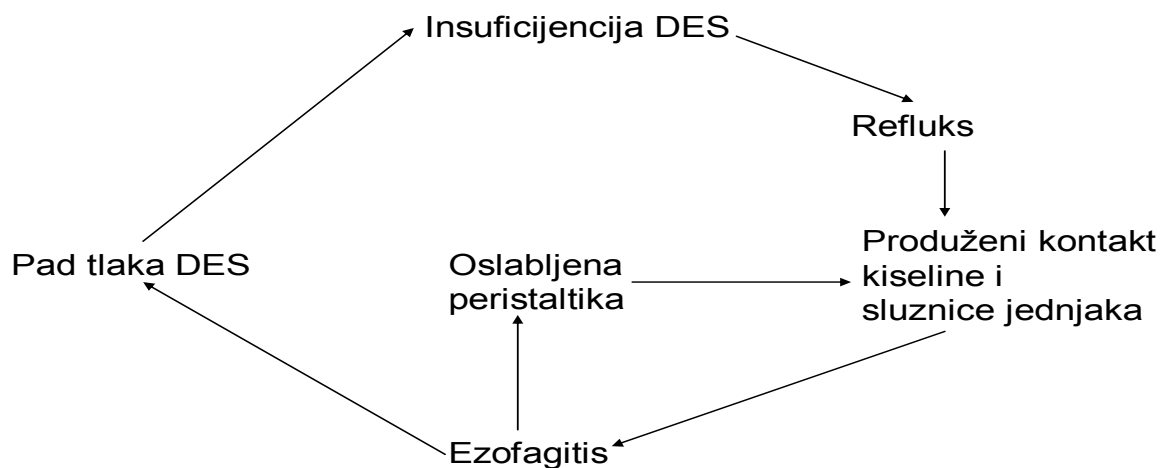
Mehanizmi osjeta

Drugi čimbenici (otežano pražnjenje želuca, upala-ezofagitis, genetski čimbenici, psihološki čimbenici)

Međutim, od svih nabrojanih čimbenika, četiri od njih danas se smatraju najvažnijima u patogenezi GERB, a to su sljedeći čimbenici:

- 1) kiseli želučani sadržaj;
- 2) kompetencija DES (strukturalni integritet i funkcija);
- 3) protektivni čimbenici sluznice jednjaka, koji imaju ključnu ulogu ukoliko već postoji refluks želučanog sadržaja, i
- 4) senzorni mehanizmi preko kojih se registriraju simptomi GERB, kako bi se što ranije uklonio uzrok, te prekinuo začarani krug koji vodi do progresije bolesti (slika 1).

Slika 1. Začarani krug progresije GERB



Makroskopski, GERB se očituje razvojem erozija i ulcercija (erozivni oblik) na sluznici jednjaka, ali se može očitovati i bez njih (neerozivni oblik). Tada se simptomatologija GERB objašnjava, kao što je već navedeno, izravnim oštećenjem živčanih završetaka kiselim refluksnim sadržajem ili abnormalnim kontrakcijama mišića; navedena stanja izražena su pri

visceralnoj hipersenzitivnosti ili refluksu kiseloga ili nekoga drugog iritansa u proksimalni dio jednjaka (2).

Želučana kiselina

Gastroezofagealni refluks želučane kiseline bitno je zbivanje u patogenezi i progresiji GERB, no i prisutnost žuči ili nekoga drugog iritirajućeg čimbenika u želucu, može zajedno sa želučanim sadržajem (3) uzrokovati tzv. kombinirano refluksno oštećenje. Refluksno kiselo oštećenje jednjaka zahtijeva prisutnost sekrecije želučane kiseline, a daljnji je slijed zbivanja uvjetovan inkompetencijom jednoga ili više protektivnih čimbenika gastroezofagealnog prijelaza, koji omogućuju intenzivniji refluks, pri čemu je zbog slabijeg motiliteta oštećenog jednjaka omogućen produženi kontakt kiseloga iritirajućeg čimbenika sa sluznicom jednjaka (4).

Međutim, osim opisanih, navode se i drugi mogući uzroci nastanka oštećenja jednjaka gastroezofagealnim refluksom, a najvažniji od tih ostalih uzroka koji potiču znanstveni interes ali i kontroverze jesu:

- 1) je li za nastanak GERB uopće potrebna pojačana sekrecija želučane kiseline, i
- 2) uloga *H. pylori* infekcije u hipersekreciji želučane kiseline te kasnijem nastanku GERB.

Intenzitet sekrecije želučane kiseline

Supresija djelovanja želučane kiseline na sluznicu jednjaka jedan je od temelja uspješnog liječenja ezofagitisa (5). Ovakav pristup (učinak) potaknuo je mišljenje (mogućnost) da bi pojačana sekrecija želučane kiseline mogla biti uzrokom «kiselog oštećenja» sluznice jednjaka i progresivnog razvoja ezofagitisa te da bi se supresijom njene sekrecije mogao spriječiti razvoj GERB i njenih komplikacija. Ovi argumenti u posljednjim se studijama

sučeljavaju s učinkom eradikacije *H. pylori* infekcije na sekreciju želučane kiseline, ali i na prevalenciju i progresiju ezofagitisa (6).

Usprkos razboritosti stava da bi intenzivnija sekrecija želučane kiseline trebala povisiti i prevalenciju ezofagitisa, dokazi za takvu tvrdnju vrlo su oskudni, ako uopće i postoje za većinu bolesnika koji boluju od GERB. U ranijim istraživanjima, u bolesnika s ezofagitisom nije registrirana pojačana sekrecija želučane kiseline ili smanjenje pH želučanog sadržaja u odnosu na kontrolnu (zdravu) skupinu (7). Izuzetak čini ezofagitis kao komplikacija Zollinger-Ellisonova sindroma. Neka novija istraživanja čak upućuju na to da se srednje teški oblici erozivnog ezofagitisa mogu pojaviti uz normalne ili čak snižene vrijednosti sekrecije želučane kiseline (8). Potrebno je navesti, da se u odsutnosti Barrettovog ezofagusa intenzitet sekrecije želučane kiseline razlikuje od onoga u odnosu na kontrolnu skupinu (9); taj podatak upućuje svakako, pored sekrecije želučane kiseline, i na važnost drugih čimbenika u nastanku «kiselog oštećenja» koje uzrokuje ezofagitis ili neku drugu manifestaciju GERB.

***H. pylori* i želučana kiselina**

Uzevši u obzir gore navedeno, potrebno je istaknuti da postoje brojni dokazi da je redukcija sekrecije želučane kiseline u *H. pylori* infekcija želuca, kao i u stanju atrofičnog gastritisa povezana sa smanjenom prevalencijom ezofagitisa. Ovi zaključci izvedeni su iz studija koje dokazuju da je prevalencija ezofagitisa manja u bolesnika s *H. pylori* infekcijom (4). Tako je npr. u Japanu prevalencija *H. pylori* infekcije visoka u asimptomatskih ispitanika (71%), dok je prisutna u svega 30 % bolesnika s ezofagitisom te u 0% u bolesnika s Barrettovim ezofagusom na dugom segmentu jednjaka (10- 18). Slično je sniženje prevalencije *H. pylori* infekcije u bolesnika s ezofagitisom opisano i u ostalim brojnim istraživanjima na Dalekom Istoku (11) te na sjevernoameričkom kontinentu (12).

Povezanost *H. pylori* infekcije i sekrecije želučane kiseline nije lako objasniti te je ta povezanost vjerojatno odraz brojnih čimbenika, koji uključuju lokalitet i proširenost infekcije, intenzitet upale, soj *H.pylori* i stupanj atrofije želučane sluznice.

Nadalje, poznato je da je antralni gastritis često povezan s ulkusnom bolesti duodenuma (13), a može biti povezan i s povišenom sekrecijom želučane kiseline zbog supresije oslobađanja somatostatina te samim time i gubitkom njegova supresijskog učinka na otpuštanje gastrina, zbog čega se povisuje koncentracija gastrina (14). S druge strane, gastritis korpusa želuca rezultira smanjenjem sekrecije želučane kiseline zbog upalnog oštećenja parijetalnih stanica (15). Ovaj učinak postaje snažniji ukoliko upalne promjene rezultiraju atrofijom sluznice želuca (16). Iz ovih se podataka logičnim čini mišljenje da gastritis korpusa želuca smanjuje rizik za razvoj ezofagitisa za 54 % .

CagA, ice A1 I vac s1 sojevi predstavljaju virulentnije sojeve *H.pylori* te su češće povezani s razvojem ulkusne bolesti i teškog gastritisa, dok su rjeđe prisutni u bolesnika s GERB (17). Ta obrnuto proporcionalna povezanost između virulencije *H.pylori* i intenziteta ezofagitisa rjeđe je vidljiva u bolesnika sa srednje teškim ezofagitisom (18). No, bez obzira na ovu tvrdnju, veliki broj dokaza upućuje na činjenicu da je sniženje intenziteta sekrecije želučane kiseline, kao što je slučaj s *H.pylori* infekcijom želuca, povezano sa smanjenom prevalencijom ezofagitisa.

Ova istraživanja dovela su čak do određenih dubioza u smislu kako bi se npr. induciranom infekcijom želuca s *H. pylori* i pripadajućim mehanizmom takve infekcije pospješilo liječenje ezofagitisa. S druge strane, postavlja se pitanje vodi li liječenje *H. pylori* infekcije želuca s posljedično normalnom ili čak intenzivnijom sekrecijom želučane kiseline u povišenje incidencije ezofagitisa, te u slabiji odgovor na provedene metode liječenja ezofagitisa. Na temelju opisanih istraživanja, do ovakvog učinka liječenja *H. pylori* infekcije moglo bi dovesti liječenje gastritisa lokaliziranoga u korpusu želuca. Međutim, samo liječenje *H.pylori*

infekcije nije prema dosadašnjim istraživanjima rezultiralo progresijom GERB u bolesnika s ulkusnom bolesti želuca ili duodenuma, ukoliko za nastanak GERB nisu postojali i drugi predisponirajući čimbenici (19). Istraživanja s naglaskom na drugim predisponirajućim čimbenicima GERB upućuju na to da liječenje *H. pylori* infekcije može intenzivirati sekreciju želučane kiseline i povisiti prevalenciju srednje teškog ezofagitisa, poglavito ako se liječenje provodi zbog gastritisa korpusa želuca, ali i ako u tih bolesnika postoje i drugi rizični čimbenici za nastanak GERB (11).

Prisutnost *H. pylori* infekcije nema signifikantan učinak na uspješnost liječenja refluksnog ezofagitisa blokatorima protonske pumpe (6). Tako postoji stav da se eradikacijom *H. pylori* infekcije ne kompromitira liječenje ezofagitisa supresijom sekrecije želučane kiseline, te da njome ne dolazi do povišenja incidencije recidiva ezofagitisa (19, 20, 21). Učestalost relapsa ezofagitisa nakon eradikacije *H.pylori* može se smanjiti, poglavito ako je infekcija dovela do značajne atrofije želučane sluznice i smanjenja intenziteta sekrecije želučane kiseline (22). Prema tome, ne postoje uvjerljivi dokazi da je za uspješnost liječenja GERB potrebna bezuvjetna eradikacija *H.pylori* infekcije i njenoga supresijskog utjecaja na sekreciju želučane kiseline. Čini se da su drugi čimbenici mnogo važniji u nastajanju “kiselog oštećenja” koje dovodi do ezofagitisa ili drugih manifestacija GERB. Međutim, eradikacija *H. pylori* infekcije ima druge poznate pozitivne učinke, koji prije svega uključuju uklanjanje glavnoga rizičnog čimbenika za razvoj ulkusne bolesti, ali i malignog tumora želuca.

Druge iritirajuće refluksne tvari

Refluksni želučani sadržaj sadrži pepsin, ali također i druge tvari poput žuči te enzima gušterače i crijeva iz duodenuma. Iako se pepsin aktivira pri $\text{pH} < 4$, kombinacija pepsina i želučane kiseline opasnija je za sluznicu jednjaka od same kiseline (23); maksimalno oslobađanje pepsina, kao i njegova koncentracija u želučanom soku ne razlikuju se u

ispitanika s ezofagitisom i bez njega (7). Prema tome, za aktivaciju pepsina koji potom izaziva oštećenja potreban je kiseli pH, ali se čini da je za sami nastanak oštećenja važniji refluks same želučane kiseline.

Uloga duodenogastroezofagealnog refluksa još uvijek nije potpuno jasna, iako novija istraživanja kojima se mjeri koncentracija žuči u refluksnom sadržaju pružaju nove predodžbe. Prisutnost duodenogastroezofagealnog refluksa mjerena koncentracijom bilirubina u refluksnom sadržaju nakon parcijalne resekcije želuca nije rezultirala ezofagitisom. U bolesnika sa žučnim, ali i kiselim refluksnim sadržajem primijećena je visoka incidencija ezofagitisa (24). Duodenogastrični refluks mnogo je češći kod bolesnika s Barrettovim ezofagusom (25). Učestalost izloženosti jednjaka i želučanom i žučnom sadržaju u kombinaciji najviša je u bolesnika s Barrettovim ezofagusom s razvijenim komplikacijama (3). Prema tome, kao i kod pepsina, za nastanak ezofagitisa oštećenjem duodenalnim sadržajem potrebna je prisutnost kiseloga gastroezofagealnoga refluksnog sadržaja. Uloga duodenogastroezofagealnog refluksa u nastanku neerozivnog GERB još uvijek je kontroverzna (26). Perfuzija humanog jednjaka žučnim kiselinama uzrokuje bol (27). Tehnikom višekanalne intraluminalne impendancije, koja se često kombinira s mjerenjem pH i koncentracije bilirubina, započeta su istraživanja ove problematike u zdravih ispitanika, ali i u bolesnika s GERB (2). Jasno je da u stanju supresije kiseloga refluksnog sadržaja, kada je održan refluks nekiselih sastojaka, impendancija pokazuje da i oni mogu biti povezani s nastankom simptoma GERB (28, 29). Ove spoznaje upućuju na potrebu daljnjih istraživanja.

Antirefluksni mehanizmi gastroezofagealne regije

Antirefluksni mehanizam sastoji se od najmanje dva "sfinkterna mehanizma", a to su: donji ezofagealni sfinkter (DES), kao unutrašnji, i krakovi ošita koji djeluju kao vanjski sfinkterni mehanizam (30). Prisutnost hijatalne hernije djeluje negativno na oba ova sfinkterna

mehanizma. Ostale anatomske strukture poput frenoezofagealnog ligamenta imaju ulogu suspenzije ove anatomske regije, ali njihovo funkcionalno značenje nije dovoljno poznato (31).

Fiziologija donjega ezofagealnog sfinktera

Donji ezofagealni sfinkter zatvoren je u mirovanju, s prosječnim tlakom od oko 20 mm Hg, a primarna mu je funkcija sprečavanje gastroezofagealnog refluksa. Profil cirkumferencije samog mišića jest asimetričan, s višim vrijednostima tlaka u lijevom lateralnom dijelu sfinktera (32). Kako bi se omogućila pasaža bolusa, tlak DES pada otprilike 1.5 do 2.5 sekundi nakon akta gutanja i zadržava se na nižim vrijednostima tijekom 6 do 8 sekundi, pri čemu peristaltički val provodi sadržaj koji se nalazi u jednjaku. Dva glavna periferna neurona koordiniraju aktivnu kontrakciju i relaksaciju DES. Neurotransmiter kontrakcije mišića jest acetilkolin, dok je glavni neurotransmiter njegove relaksacije dušični oksid (NO). Relaksacija DES može se također djelomično pojaviti tijekom vagalne kolinergičke ekscitacije DES tijekom gutanja (33).

Humani DES sastoji se od najmanje dva mišića: cirkularni mišić je samo parcijalni, zapravo samo semicirkularni mišić, dok želučana mišićna omča po lijevoj strani DES kompletno zatvara sfinkter (34). Semicirkularni mišić i želučana omča funkcionalno se u mnogočemu razlikuju, svaki sa svojim mogućnostima kontrakcije. Semicirkularni mišić posjeduje vlastiti tonus, dok želučana omča ima vrlo nizak tonus i ovisna je o kolinergičnoj stimulaciji (35). Primjenom atropina smanjuje se tonus želučane omče, dok se kolinergičnom blokadom tonus semicirkularnog mišića ne mijenja (36). Ova dva mišića također se odlikuju razlikama u visini membranskog potencijala stanične membrane u mirovanju, gustoćom kanala za ione kalija (K⁺), tipom L kanala za ione kalcija (Ca²⁺), ali i samom vezivanju kalcija (37, 38). Vezivanje kalcijevih iona na stanicama semicirkularnog mišića provodi se preko L-tip

kalcijskih kanala, dok se na stanicama želučane omče ono postiže preko nifedipin neosjetljivih ne-L- tip kalcijevih kanala. Još uvijek nije poznato sudjeluju li i cirkularni mišići najdistalnijeg dijela jednjaka kao dio proksimalnog dijela DES. Različitosti ovih dviju vrsta mišića određuju i različite mehanizme kojima se omogućava održanje bazalnog tonusa DES. Relaksacija semicirkularnog mišića ostvaruje se djelovanjem nitrooksida, dok se relaksacija želučane omče postiže prestankom kolinergičke aktivacije, jer NO ovdje ima samo minimalan utjecaj (40). Prema tome, u inervaciji DES sudjeluju nitratna, inhibicijska te kolinergička, ekscitacijska inervacija.

Postojanje, ali i lokalizacija želučane omče također se povezuju s održanjem oštine Hisovog kuta i dijela velike krivine želuca u području gastroezofagealnog prijelaza, te formiranjem valvularnog mehanizma gastroezofagealnog prijelaza, koji također omogućuje antirefluksnu funkciju (40).

Patofiziologija gastroezofagealnog refluksa, nizak tlak DES i prolazna relaksacija DES (PRDES)

Gastroezofagealni refluks pojavljuje se kada je tlak DES manji od intragastričkog tlaka. U normalnim okolnostima manji refluks pojavljuje se kada je tlak DES nizak tijekom gutanja i PRDES te pri povećanju intraabdominalnoga ili intragastričkog tlaka u stanju bazičnog tlaka DES.

PRDES neovisna je o gutanju. Prolazna relaksacija sfinktera koja je neovisna o gutanju, može se pojaviti nakon faringealne stimulacije. Ove vrste prolaznih relaksacija razlikuju se od PRDES i nemaju veze s pojavom refluksa. Njihova je relaksacija slabije izražena i ne uključuje inhibiciju djelovanja ošita (41).

Promjene i funkcija DES kod gastroezofagealnog refluksa u većine bolesnika s GERB dobro su opisani, a dobro se mogu odrediti i vrijeme nastanka i izraženost refluksa. I u zdravih ljudi,

ali i u osoba koje boluju od GERB, PRDES predstavlja glavni mehanizam nastanka GERB (42). Ovo se stanje najčešće pojavljuje u postprandijalnom periodu (43), a učestalost pojavljivanja povećava se unosom hrane zbog distenzije želuca (44). Nerijetko, a poglavito u bolesnika s GERB, refluks zbog povišenja intraabdominalnog tlaka, ali i refluks zbog patološkog sniženja tlaka DES, maskiraju pojavu PRDES koja zapravo jest glavni uzrok refluksa (43).

Vrijednost bazičnog tlaka (tonusa) DES varira tijekom dana, a čak i tijekom normalnih dnevnih aktivnosti dolazi do toliko niskih vrijednosti da može doći do nastanka refluksa. Tlak DES povećava se u ležećem položaju (45). Također, tlak je najviši tijekom faze III, a najniži tijekom faze I migracije motoričkog kompleksa (MMK) (46). Uzimanje hrane često izaziva pad vrijednosti tlaka DES, uzrok tome je sekrecija hormona poput sekretina i holecistokinina zbog unosa masti (47), a može nastati i zbog nekih sastojaka hrane, npr. čokolade (48), alkohola (49) i kofeina (50). Iako na nepoznati način, čak i fermentacija u debelom crijevu može dovesti do pada tlaka DES (51). Pušenje također snizuje tlak DES (52). Zbog djelovanja progesterona, i u trudnoći dolazi do pada tlaka DES (53). Mnogi drugi hormoni, neurotransmitori i lijekovi imaju utjecaja na tlak DES, a od lijekova to se prije svega odnosi na antikolinergike, nitrate, blokatore kalcijevih kanala i neke prostaglandine.

Izraženost GERB najupadljivija je u postprandijalnom periodu i u ležećem položaju. (54). Refluks koji se pojavljuje tijekom noći posebno je jako izražen zbog izostanka gravitacije u sprečavanju nastanka refluksa, ali i zbog fizioloških promjena u spavanju koje pogoduju nastanku GERB (55).

Sniženje tlaka DES i pojava refluksa također mogu nastati i u nekih bolesti vezivnog tkiva, npr. u sklerodermije, u koje nastaju oštećenja mišića i kolinergičke inervacije (56). Refluks kiselog sadržaja u jednjak izraženiji je u bolesnika s GERB, iako je broj samih PRDES nepromijenjen (42). Međutim, trajanje PRDES duže je nego ono izazvano gutanjem (57).

Fiziološki razlog nastanka refluksa zbog povećanja broja PRDES nepoznat je. Porast nije povezan s mogućnošću širenja želuca, niti s relaksacijom želuca zbog uzimanja hrane u bolesnika s refluksom (58). Čini se da bi ovaj mehanizam mogao biti uzrokovan nekim drugim čimbenikom, npr. hijatalnom hernijom (59). GERB s učestalijim PRDES također se može pojaviti u pretilih osoba, vjerojatno zbog smanjene osjetljivosti na rastezanje želuca te u dijabetičara kao posljedica hiperglikemije (60). Od posebnog je interesa učinak atropina, koji snizuje tlak DES, ali i broj PRDES te se njegovim djelovanjem refluks rjeđe pojavljuje u zdravih osoba, kao i u bolesnika s GERB (61). Pretpostavlja se da je mehanizam učinka atropina na broj PRDES centralni (62), iako je moguće da atropin djeluje periferno, blokirajući muskarinske receptore koji su prisutni na nitrooksidnom inhibicijskom neuronu DES (63).

Patofiziologija: razlike DES i želučane omče

Poznavanje ovih razlika vrlo je važno zbog kliničkih i terapijskih razloga. Ovom tematikom do sada se nije bavilo mnogo studija. Također, utjecaj upale na DES istraživani je samo na semicirkularnom mišiću DES. Objasnjavanje razlika između DES i želučane omče moglo bi omogućiti bolje razumijevanje patogeneze poremećaja DES, a potom omogućiti i razvoj novih terapijskih mogućnosti, npr. primjene kolinergičkih agonista u svrhu povišenja tlaka DES (64). Trodimenzionalnim mjerenjem tlaka DES također se može planirati kirurško liječenje na semicirkularnom mišiću DES ili želučanoj omči (32). Poseban interes usmjeren je na mogućnosti nitrooksidne kontrole PRDES u bolesnika s refluksom (65). Kontrola PRDES prije svega je usmjerena pokušaju djelovanja na semicirkularne mišiće, dok je uloga želučane omče u PRDES nepoznata.

Uloga želučane omče u održanju Hisovog kuta za sada je kontroverzna. Povećanje tog kuta nakon subtotalne gastrektomije dovodi do povećanja incidencije refluksa (66). U prisutnosti

hižatalne hernije, zbog gubitka funkcije vanjskoga, dijafragmalnog sfinktera, nastaje asimetrija tlaka DES (67). Źelućana omća također bi mogla biti podložna nekim promjenama zbog utjecaja hižatalne hernije, ali i upalnih promjena uslijed ezofagitisa ili karditisa želuca. Međutim, ove pretpostavke zahtijevaju daljnja istraživanja.

Ošit (dijafragma)

Fiziologija ošita. Distalni dio jednjaka prolazi kroz otvor na ošitu koji se naziva hižatus. Ovaj otvor najčešće formira desni krak ošita. Time se postižu uvjeti kojima ošit može vršiti djelovanje vanjskog sfinktera, komprimirajući gastroezofagealni prijelaz. Kompresijom se, tijekom svakog inspirija, povećava tlak DES s 10 do 100 mm Hg. Vrijednost povećanja tlaka u inspiriju ovisi o dubini inspirija (68). Povećanje intraabdominalnog tlaka zbog kontrakcije ošita također dovodi i do povećanja tlaka DES (69). Krakovi ošita relaksiraju se tijekom gutanja, podrigivanja, povraćanja te PRDES. Relaksacija ošita za vrijeme PRDES potencira uvjete za nastanak gastroezofagealnog refluksa, poglavito ako je tlak DES nizak.

Ukoliko postoji dijafragmalna hernija, dijafragmalni sfinkter je udaljen od samog gastroezofagealnog prijelaza, te dolazi do gubitka njegovoga antirefluksnog djelovanja.

Frenoezofagealni ligament. Frenoezofagealni ligament vezivna je struktura koja povezuje gastroezofagealni prijelaz i ošit. Ovaj je ligament, ukoliko postoji dijafragmalna hernija, rastegnut .

Povezanost frenoezofagealnog ligamenta i GERD razlog je velikoga istraživačkog interesa tijekom dugog niza godina (70). Njegova lokalizacija i struktura pružaju mnogo argumenata za daljnja istraživanja, kako bi se pojasnila njegova funkcija i eventualno omogućile nove kirurške antirefluksne metode (31).

Ovaj ligament sastoji se od dva sloja: tanjega, koji se proteže od endotorakalne fascije, i debljega, cirkumferentnog, koji predstavlja nastavak transverzalne fascije. Prije vezivanja na

stijenku jednjaka, ligament se razdvaja u dva lista. Tanji, donji list proteže se kaudalno i hvata se na jednjak neposredno iznad Hisovog kuta, dok se gornji, deblji list, proteže kranijalno i hvata na spoj ezofagealne adventicije i ošita. Ligament se sastoji od kolagenih i elastičnih vlakana, te nešto glatkih mišićnih stanica. Gornji list vezan je na jednjak produžecima kolagenih vlakana koja penetriraju u submukozni sloj, dok donji list ne prodire dublje od adventicije. Čvrstoća oba lista ligamenta slabi starenjem. Ove su promjene izraženije na donjem listu, koji tijekom godina može čak i nestati.

Struktura i hvatišta freno ezofagealnog ligamenta pružaju logične temelje kojima bi se mogla objasniti njegova funkcija. Njegova elastičnost i lokalizacija hvatišta primarno bi služila kako bi se spriječila dislokacija jednjaka u prsni koš, te da pritom ne dođe do značajnije trakcije područja DES. Slabljenje ligamenta tijekom života pogoduje nastanku hijatalne hernije.

Hijatalna hernija

Neke značajke o povezanosti hijatalne hernije i GERB u ovome tekstu već su napisane. No, prije svega treba napomenuti sljedeće:

- 1) hijatalna hernija omogućava nastanak refluksa, čiji se intenzitet pojačava povećanjem hernije (59, 71, 72);
- 2) u bolesnika s GERB snižen je tlak, a povećana je mogućnost rastezljivosti DES; te su promjene najizraženije u bolesnika s hijatalnom hernijom (67);
- 3) kombinacija niskog tlaka DES i hijatalne hernije najčešća je u bolesnika s izraženim ezofagitisom, iako su slične promjene na jednjaku često vidljive i u bolesnika s izoliranom hijatalnom hernijom (72), i
- 4) pri postojanju hijatalne hernije otežano je pražnjenje jednjaka (73).

Razlozi povezanosti hijatalne hernije sa sniženjem tlaka DES, otežanog uklanjanja kiselog sadržaja i povećanja refluksa jesu višestruki i nisu u potpunosti objašnjeni, no izgleda da je važno sljedeće:

- 1) nizak tlak DES posljedica je gubitka funkcije vanjskoga, dijafragmalnog sfinktera (67) te upalnih promjena na semicirkularnom mišiću te promjena u njegovoj inervaciji;
- 2) iako je fiziološki uzrok PRDES, koja je osnovni razlog refluksa, nepoznat, on bi također mogao biti povezan s postojanjem hijatalne hernije (59); učestalost PRDES smanjuje se nakon fundoplikacije, vjerojatno zbog promjene fundalnoga vagalnoga aferentnog mehanizma koji inducira PRDES (74);
- 3) hernija se ponaša kao spremnik u kojemu se nakuplja kiselina, nakon čega dolazi do opetovanih refluksa, a time i do okolnosti pogodnih za nastanak upalnih promjena na kardiji želuca (karditis) (75), i
- 4) napetost donjeg lista frenoezofagealnog ligamenta može dovesti do kontrakcije DES, poglavito u mlađih bolesnika, prije nego dođe do degeneracije ligamenta uslijed starenja (31).

Antirefluksni mehanizmi sluznice jednjaka i upala

Kada nastane gastroezofagealni refluks, kontakt sluznice jednjaka s kiselim sadržajem želuca ($\text{pH} < 4$) postaje duži, što dovodi do opasnosti od nastanka ezofagitisa i pojave komplikacija (3-5). Nadalje, i poremećaji DES, zbog kojih nastaje refluks i poremećaj motorike jednjaka, omogućavaju i produžuju kontakt želučanog sadržaja i sluznice jednjaka.

Utjecaj DES i motorike jednjaka na upalu jednjaka

Kao što je navedeno ranije, neke bolesti, (npr. sklerodermija) dovode do nastanka refluksa zbog oštećenja inervacije, ali i zbog oštećenja samog mišića, što rezultira hipomotilitetom

jednjaka i DES. Upalne promjene sluznice distalnog jednjaka češće su uzrok pada tlaka DES i oštećenja motorike jednjaka, zbog čega dolazi do nastanka refluksa i produljenog pražnjenja jednjaka. Takvo stanje potom dovodi do oštećenja sluznice kiselinom (76). U samom jednjaku dolazi do sniženja amplitude i primarnoga i sekundarnoga peristaltičkog vala. Također se pojavljuju i nepravilne kontrakcije muskulature jednjaka (76, 77). Sve te promjene dovode do nastanka začaranog kruga (slika 1). Težina promjena DES i motorika samog jednjaka proporcionalne su težini ezofagitisa, a odnos ovih dvaju stanja je takav, da se još uvijek ne zna koje stanje je uzrok, a koje posljedica.

No, bez obzira na to, evidentno je da upalne promjene zahvaćaju i živčane završetke i mišićne stanice, zbog čega dolazi do promjena DES i motiliteta jednjaka. Što se tiče inervacije, izgleda da ove upalne promjene dovode i do slabljenja kolinergičke, ekscitacijske inervacije, a također i do pojačanja nitrooksidne, inhibicijske inervacije. Krajnji rezultat dovodi do hipomotiliteta jednjaka. U ovoj problematici, u većini studija istraživne su promjene semicirukularnog mišića, ali ne i želučane omče.

Supresija kolinergičke aktivacije mogla bi biti i vagalnog podrijetla (78). Eksperimentalnim studijama na životinjama te studijama na humanom DES otkrivene su promjene u smislu redukcije lokalne kolinergičke ekscitacije (79, 80), značajne promjene na kalcijским kanalima (81), te intracelularne promjene koje modificiraju tonus i kontrakciju stanice kao odgovor na stimulaciju acetilkolinom (Ach) (82).

Posebna uloga pripisuje se prostaglandinima. Medijatori upale poput interleukina 1B (IL-1B) te povećanje koncentracije slobodnih radikala kisika (vodikov peroksid, H₂O₂), povezani su s povišenjem koncentracije prostaglandina E₂ (PGE₂). Taj prostaglandin ima relaksirajući učinak na DES, tako da izoformni oblik PGE₂ blokira kontrakciju koju stimulira prostaglandin F₂ alfa (PGF_{2α}) (83). Prostaglandin F₂alfa, zajedno s tromboksanom A₂/ B₂, važan je za održanje tonusa DES, ali i za blokadu PGE_{2α}, koji svojim djelovanjem smanjuje tonus DES

(84). Posljednje studije također upućuju na to da upala stimulira sintezu interleukina 6 (IL-6) u sluznici, a taj IL-6 dovodi do povećanja produkcije H₂O₂ u mišiću (85). H₂O₂ je glavni razlog zbog kojega dolazi do sinteze čimbenika aktivacije trombocita (Platelet Activating factor, PAF) i PGE₂. Obje ove supstance reduciraju sintezu Ach (86), te tako i tonus DES (87). Ranije studije upućuju na to da inhibicija sinteze prostaglandina indometacinom sprečava nastanak ezofagitisa uzrokovanog hipotenzijom DES. Glavni mehanizam takvog djelovanja je redukcija sinteze PGE₂ (88). Sintaza interleukina 8 (IL-8) također je u jednjaku pojačana uslijed ezofagitisa te dovodi do pojačane migracije neutrofila (89).

Kako je za održanje uvjeta upale potrebno djelovanje prostaglandina, dolazi do smanjene sinteze nitrooksida u svim tkivima jednjaka (80) te posljedično do gubitka inhibicijske nitrooksidne inervacije (79, 80). Te promjene također rezultiraju smanjenjem tlaka DES te hipomotilitetom jednjaka.

Infuzija kiseloga sadržaja u jednjak dovodi do skraćanja jednjaka kao odgovor na djelovanje medijatora upale (90). Tada posredstvom nitrooksida dolazi do kontrakcije glatke longitudinalne muskulature jednjaka (91- 147). Ovi reaktivni odgovori na podražaj kiselim sadržajem i posljedični razvoj upale mogli bi pogodovati nastanku hijatalne hernije.

Mehanizmi osjeta i simptomatologija GERB

Iako su kiseli podražaj i djelovanje medijatora upale prihvaćeni kao glavni inicijatori nastanka ezofagealnih simptoma, mehanizmi kojima ti podražaji utječu na senzoričke puteve i dalje su predmet nejasnoća, pretpostavki i novih istraživanja (26, 92). Glavni klinički i znanstveni interes pobuđuju slijedeća pitanja:

- 1) zašto neki bolesnici osjećaju pečenje i pri izostanku pojačanog podražaja jednjaka kiselinom (93);

- 2) zašto neki bolesnici s izraženim ezofagitisom i razvijenim komplikacijama, poput Barrettovog ezofagusa, nemaju simptoma (94);
- 3) je li visceralni hipersenzitivitet centralnoga ili perifernog podrijetla (94, 95);
- 4) dolazi li do razvoja simptoma zbog produljenih kontrakcija ili distenzije (96) te je li za razvoj simptoma važan refluks u proksimalnije dijelove jednjaka (2);
- 5) jesu li za razvoj simptoma odgovorne promjene sluznice koje dovode do povećanja tkivne rezistencije (92);
- 6) postoje li s obzirom na razvoj simptoma razlike u odnosu na dob i spol (97, 98), i
- 7) je li je GERB zapravo funkcionalna bolest jednjaka (99).

Drugi čimbenici

Pražnjenje želuca. Prema posljednjim studijama, potvrđeno je da je produženo pražnjenje želuca često u bolesnika s GERB. Nalazi se u čak 26% ispitanika, prema kriteriju retencije sadržaja u želucu od 4 ili više sati (100). Postoje uvjerljivi razlozi na temelju kojih se može pretpostaviti da bi produženo pražnjenje želuca moglo uzrokovati GERB, prije svega zbog učestalijih PRDES i pojačane sekrecije želučane kiseline (101). Ipak, malo je dokaza koji bi mogli i potvrditi tu sumnju, zbog toga što se u stvarnosti produženo pražnjenje želuca u većine bolesnika ne nalazi i vjerojatno je samo jedan od pridruženih čimbenika nastanka GERB u rijetkih bolesnika. Produženo pražnjenje želuca u nekih bolesnika može biti povezano sa smanjenjem postprandijalnog refluksa (102). U djece nema sigurne povezanosti produženog pražnjenja želuca i nastanka GERB, osim ako ne postoji neka anomalija, npr. malrotacija želuca (103).

Slina i neutralizacija kiseline. Neutralizacija kiselog sadržaja progutanom slinom služi kako bi se «očistili» ostaci kiselog sadržaja iz jednjaka nakon prolaska bolusa. Svaki akt gutanja slijedi peristaltički val (104). Prateća intenzivnija sekrecija želučane kiseline događa se u

zdravih osoba i u bolesnika s GERB (105), ali su vrijednosti veće u bolesnika sa simptomima GERB (106). No, utjecaj sline i sposobnost neutralizacije kiseline ipak su još nedovoljno istraženi. Naime, npr. u SICCA sindroma (s upadljivim smanjenjem salivacije) ne opažaju se simptomi refluksa (107), dok smanjenje protoka sline u nekih bolesnika može biti povezana s oštećenjem jednjaka (108).

San. Iako je učestalost refluksnih epizoda manja tijekom sna (109), mnoge fiziološke promjene koje se odvijaju u snu pogoduju nastanku GERB (55- 89). Ove promjene uključuju:

- 1) intenzivniju sekreciju želučane kiseline koja također može prisutna u obliku «noćnih kriza» u bolesnika koji uzimaju blokatore protonske pumpe (110);
- 2) slabiju eliminaciju kiseline koja se zbog ležećeg položaja i gubitka učinka gravitacije nalazi i u proksimalnijim dijelovima jednjaka (111), rjeđeg gutanja i time, manjeg broja peristaltičkih valova (112), slabije produkcije sline (113), kao i zbog smanjene mogućnosti percepcije simptoma pečenja (55), i
- 3) promjene spore električne aktivnosti želuca (114), zbog čega dolazi do produženog pražnjenja želuca.

Drugi čimbenici, poput apneje u spavanju i pridružene pretilosti, također se povezuju s GERB (55- 89), iako mehanizam djelovanja tih čimbenika nije poznat. Ove promjene mogle bi biti povezane s promjenama intratorakalnog tlaka tijekom apneje, ili hijatalnom hernijom i povećanjem intraabdominalnog tlaka u pretilih bolesnika (115).

Nasljedni čimbenici. Postoje činjenice koje govore u prilog mišljenju o nasljednoj sklonosti za pojavu GERB (116). Izvori tih mišljenja većinom se nalaze u epidemiološkim i obiteljskim studijama (117) te u studijama blizanaca (118). Mnoga takva razmatranja još su nerazjašnjena i upućuju na potrebu daljnjih istraživanja. Kako mnogi čimbenici mogu biti povezani s nastankom GERB, kromosomske determinante pokazuju mnoštvo mogućih

poveznica u patogenezi GERD. Npr., u nekih je bolesnika, koji boluju od GERB pronađen gen 13q14 (119).

Dakle, bolest gastroezofagealnog refluksa (GERB) je multifaktorijalne patogeneze, što polje budućih istraživanja čini širokim. Brojni su čimbenici koji imaju utjecaja na mehanizme regulacijske kompetencije gastroezofagealnog prijelaza, a od od posebne važnosti su :

- 1) struktura i funkcija frenoezofagealnog ligamenta; njegova degeneracija tijekom starenja može predisponirati nastanku hijatalne hernije; ova bi struktura mogla biti od posebne važnosti za eventualni razvoj nekih novih kirurških metoda;
- 2) mnoge tvari koje centralnim ili perifernim putem utječu na PRDES već su opisane; buduće studije intenzivnije bi se mogle baviti antikolinergičkim lijekovima, npr. M1 antagonistima, koji bi mogli imati utjecaja na periferni nitrooksidni, inhibicijski neuron;
- 3) opisane razlike u mogućnostima semicirkularnog mišića DES i želučane omče predstavljaju daljnji izvor istraživanja različitih oštećenja ovih struktura u sklopu GERB te nove mogućnosti medikamentoznoga ili kirurškog liječenja, i
- 4) osjetni i kognitivnobihevijoralni aspekti bolesnika zahtijevaju posebne studije, kako bi se pronašla povezanost fizioloških i psiholoških aspekata, npr. u bolesnika s neulcerativnom dispepsijom ili u bolesnika sa sindromom iritabilnog kolona.

Akutni pankreatitis

Akutni pankreatitis tradicionalno se definira kao akutni upalni proces gušterače koji je karakteriziran:

- 1) boli u trbuhu i porastom koncentracije enzima gušterače u serumu, i
- 2) destrukcijom normalne građe i funkcije gušterače dok god ne dođe do izlječenja.

Međutim, iako se ova definicija uvriježila na međunarodnoj razini, ipak ima limitirano kliničko značenje. Npr., u nekih bolesnika s akutnim pankreatitisom dolazi do destrukcije tkiva i funkcije gušterače, koje zaostaju i nakon izlječenja. Kod drugih pak bolesnika, poglavito u alkoholičara, dolazi do akutnih epizoda u već razvijenom stanju kroničnog pankreatitisa. U obje navedene skupine bolesnika najbolji rezultati liječenja postignuti su ako je primijenjeno liječenje u smislu akutnog pankreatitisa, iako kriteriji za isti ne odgovaraju poznatim klasifikacijama.

Inače, ozbiljni akutni pankreatitis definira se, prema Svjetskom Simpoziju o Akutnom pankreatitisu (120), kao prisutnost organskog oštećenja (šok, respiratorna insuficijencija, gastrointestinalno krvarenje) ili peripankreatičkih komplikacija (nekroza, apsces, pseudocista), s nespecifičnim prognostičkim znakovima.

Lokalne komplikacije akutnog pankreatitisa

Slobodna tekuća kolekcija oko pankreasa sastoji se od pankreatičnog soka i tekućine nastale uslijed upalnog procesa. Kod akutnog pankreatitisa pojavljuje se u 30-50% slučajeva (121). Većina se ovih kolekcija resorbira. Ukoliko se tijekom 4-6 tjedana oko kolekcije formira vezivna kapsula, nastaje pseudocista, koja se definira kao tekuća kolekcija (pankreatični sok), okružena vezivnom kapsulom. Pseudocista može biti sterilna ili sekundarno inficirana.

Nekroza pankreasa (akutni nekrotozirajući pankreatitis) jest patološko stanje koje se klinički definira nakon kompjutorizirane tomografije pankreasa s kontrastom, kao tkivo pankreasa koje se ne prikazuje nakon aplikacije kontrasta. Može se pojaviti u dva oblika, kao sterilni i inficirani pankreatitis. Tijekom akutnoga intersticijskog pankreatitisa, na kontrastnom kompjutoriziranom tomogramu ne nastaje nekroza.

Apsces pankreasa definira se kao kolekcija gnoja koja sadrži i nekrotično tkivo.

Sistemske komplikacije akutnog pankreatitisa

Akutni pankreatitis može utjecati na mnoge organske sustave (122). Sustavne (sistemske) komplikacije, prije svega šok, akutni respiratorni distress sindrom (ARDS) i multiorgansko zatajenje (MOF, Multiple organ failure), najčešći su uzroci smrti unutar prvog tjedna od nastupa akutnog pankreatitisa. Gubitak tekućine u retroperitoneum može dovesti do hipovolemije, hipotenzije, šoka i renalne insuficijencije. Ova su stanja često povezana s visokim mortalitetom. Većina gubitka tekućine pojavljuje se u ranom tijeku bolesti (123).

Hipoksija. Hipoksija nije rijetka pojava u ranom tijeku akutnog pankreatitisa. U određenog broja bolesnika, hipoksija biva prolongirana, što može dovesti do ARDS. Hipoksija također može dovesti i do MOF.

Srčane komplikacije. Kao posljedica ozbiljnoga akutnog pankreatitisa može se pojaviti cijeli niz kardioloških komplikacija: dekompenzaciju srca, infarkt miokarda, aritmije i kardiogeni šok. Najčešći uzrok navedenih stanja jest hipotenzija uzrokovana gubitkom tekućine u treći prostor s posljedičnim gubitkom intravaskularnog volumena. Disfunkcija srca također se može javiti kao posljedica sindroma sistemskoga upalnog odgovora (SIRS) koji karakteriziraju veliki udarni volumen i niska periferna vaskularna rezistencija.

Metaboličke komplikacije. U sklopu akutnog pankreatitisa, također može doći do brojnih metaboličkih komplikacija. Najčešće se radi o hipokalcemiji, hiperglikemiji i hiperlipidemiji.

Hipokalcemija je najčešće posljedica hipoalbuminemije. Rijetko dolazi do sniženja koncentracije ioniziranog kalcija, a samim time i do razvoja akutnih simptoma hipokalcemije (tetanija, Chvostekov znak, Trousseauov znak). Nadoknada iona kalcija, ukoliko ne postoje simptomi snižene koncentracije ioniziranog kalcija, najčešće nije potrebna. No bez obzira na to što rijetko dolazi do razvoja navedenih posljedica hipokalcemije, koncentraciju kalcija potrebno je precizno pratiti te njenu vrijednost prije svega treba shvatiti kao znak ozbiljnog pankreatitisa.

Prema Ransonovim kriterijima, hiperglikemija, kao i hipokalcemija, loš su prognostički znak akutnog pankreatitisa. Umjerenu hiperglikemiju nije potrebno liječiti, no u slučaju da vrijednosti glikemije budu veće od 11 mmol/ L (200 mg/dl), potrebno je reagirati primjenom inzulina, kako bi se glukozurijom spriječio dodatni gubitak tekućine.

Gastrointestinalno krvarenje. Gastrointestinalno krvarenje može komplicirati tijekom akutnog pankreatitisa i znak je ozbiljnog tijeka bolesti (122). Krvarenje može nastati iz stresnih erozija, peptičke ulceracije, pseudoaneurizme, ili venskih varikoziteta koji nastaju kao posljedica tromboze splenične vene. Tromboza splenične vene javlja se kao posljedica upalnih i neoplastičkih bolesti pankreasa, a dovodi do lijevostrane portalne hipertenzije s posljedičnim nastankom venskih varikoziteta želuca. Venski varikoziteti jednjaka također mogu nastati, ali bez povezanosti s razvojem venskih varikoziteta na želucu. Krvarenje varikoziteta na želucu liječi se splenektomijom.

Ostale sistemske komplikacije. Rijetke komplikacije akutnog pankreatitisa mogu biti i vaskularna tromboza, diseminirana intravaskularna koagulopatija, steatonekroza kože, encefalopatija i iznenadna sljepoća.

Etiologija akutnog pankreatitisa

Mnogi čimbenici mogu imati utjecaja na nastajanje akutnog pankreatitisa, međutim najčešći uzroci jesu alkoholizam i holelitijaza (zajedno između 70 i 80%) (120).

Holelitijaza. Još uvijek nije točno objašnjen mehanizam kako holelitijaza dovodi do akutnog pankreatitisa. Međutim, jasno je da inicijalni događaj predstavlja ulazak žučnog kamena u Vaterovu papilu. Te opstrukcije pankreatičnog (Virsungovog) voda uglavnom su prolazne. Mogu dovesti do edema i nakon nestanka kamena iz pankreatičnog voda. Dobro je poznata povezanost pretilosti i holelitijaze (124).

Alkoholizam. Mehanizam kojim alkoholizam dovodi do akutnoga, ali i kroničnog pankreatitisa, također nije dovoljno poznat. U većine bolesnika kod prve epizode akutnog pankreatitisa već postoje histološke promjene u smislu kroničnog pankreatitisa (125), dok tek u manjeg dijela bolesnika konzumacija veće količine alkohola predstavlja inicijalni događaj u nastanku akutnog pankreatitisa bez prethodnih promjena na pankreasu.

Opstrukcija izvodnoga pankreatičnog (Virsungovog) voda. Veliki broj patoloških stanja na različite načine uzrokuje akutni pankreatitis, tako da opstruira pankreatični izvodni kanal. Opstrukcija najčešće nastaje već opisanim načinom, odnosno uglavljenjem žučnog konkrementa u Vaterovu papilu. Ostali uzroci opstrukcije relativno su rijetki.

Jedan od njih jest disfunkcija Oddijevog sfinktera, tj. stanje u kojemu dolazi do povećanja bazalnog tlaka sfinktera (40 mm Hg ili više od bazalnoga duodenalnog tlaka) i opstrukcije pankreatičnog izvodnog kanala.

Također, benigna i maligna opstrukcija pankreatičnog kanala mogu biti uzroci pankreatitisa. Zbog toga, u bolesnika koji imaju povišen rizik obolijevanja od malignog tumora ove regije a oboljeli su od akutnog pankreatitisa, treba uvijek isključiti postojanje malignog tumora u području Vaterove papile.

Rijetki su uzroci akutnog pankreatitisa cista glavnog žučnog voda (ductus choledochus), periampularni divertikul duodenuma i parazitarne bolesti tijekom kojih paraziti opstruiraju Vaterovu ampulu (*Ascaris lumbricoides*, *Clonorchis sinensis*).

Pancreas divisum, koji se pojavljuje u 5-7% ukupnog stanovništva, također u rijetkim slučajevima može dovesti do akutnog pankreatitisa (126, 127). Riječ je o kongenitalnom stanju u kojemu izostaje spajanje ventralnoga i dorzalnoga pankreatičnog pupoljka. Zbog toga se većina pankreatičnog soka u duodenum ulijeva kroz malu duodenalnu papilu, čiji kapacitet može biti nedovoljan za adekvatnu drenažu. (126, 127, 128).

Lijekovi i otrovi. Akutni pankreatitis uzrokovan lijekovima relativno je rijedak i karakterističan je za određene lijekove (129, 130). Antimetaboliti (6- merkaptopurin i azatioprim) najčešće se pojavljuju kao uzročnici akutnog pankreatitisa, od kojega obolijeva 4 % bolesnika koji uzimaju ove lijekove. Drugi lijekovi koji se također spominju kao mogući uzroci akutnog pankreatitisa jesu pentamidin, sulfonamidi, valproična kiselina, furosemid i aminosalicilati.

Osim već opisanog rizika zbog etilnog alkohola, akutni pankreatitis mogu također uzrokovati i organofosfatni insekticidi. Ovi posljednji akutni pankreatitis uzrokuju zbog hiperstimulacije pankreatične sekrecije kolinergičnom inervacijom.

Infekcije. Brojne, prije svega virusne infekcije, opisane su kao uzroci akutnog pankreatitisa. Najčešće je riječ o infekcijama uzrokovanim citomegalovirusom, virusom akutnog parotitisa, virusom rubeole te coxsachie B virusu. Bolesnici s AIDS-om često imaju povišenu serumsku vrijednost amilaza, bez akutnog pankreatitisa, a rijetko razvijaju akutni pankreatitis zbog oportunističkih infekcija (citomegalovirus, kriptosporidije, mikobakterije) ili zbog nuspojava liječenja (131).

Metabolički čimbenici. Metabolički čimbenici koji mogu uzrokovati akutni pankreatitis jesu hipertrigliceridemija i hiperkalcemija. Da bi nastao akutni pankreatitis, koncentracija

triglicerida u serumu mora biti iznad 1000 mg/dl (132). Ove se vrijednosti najčešće susreću u tipu 5 hiperlipoproteinemije, a obično je pridružen i dijabetes melitus. Tijekom samoga akutnog pankreatitisa dolazi do hipertrigliceridemije, ali ne u gore navedenoj vrijednosti.

Žene u menopauzi s povišenom serumskom koncentracijom triglicerida, koje uzimaju supstitucijsku hormonsku terapiju estrogenima, također imaju povišen rizik od akutnog pankreatitisa, poglavito ako je serumska koncentracija triglicerida prije estrogenske terapije bila viša od 750 mg/dl (133).

Ozljede pankreasa. Ozljeda izvodnog kanala pankreasa može uzrokovati akutni pankreatitis. Tupa ozljeda trbuha može dovesti do kontuzije, laceracije ili kompletne transekcije pankreasa. Najčešće ozljede nastaju na trupu pankreasa, zbog udarca u tijelo 12. torakalnoga ili 1. lumbalnog kralješka. Tada akutni pankreatitis nastaje brzo nakon ozljede, dok se u bolesnika koji su pretrpjeli ozljedu manjeg intenziteta simptomi mogu pojaviti i nekoliko mjeseci nakon ozljede. Nadalje, jatrogena ozljeda tijekom endoskopije (endoskopska retrogradna holangiopankreatografija, ERCP), dovodi do akutnog pankreatitisa u 3-5% slučajeva. U nekih skupina bolesnika nakon ERCP, kao npr. u onih s disfunkcijom Oddijevog sfinktera, akutni pankreatitis može nastati i u 20-25% bolesnika (134). Do pojave akutnog pankreatitisa dolazi zbog opstrukcije, upale i edema otvora izvodnoga pankreatičnog kanala te zbog barotraume na stanice pankreatičnih acinusa.

Kao posljedica mnogih operacijskih zahvata može nastati ishemijska ozljeda pankreasa, zbog toga što cirkulacija pankreasa ima vrlo ograničenu mogućnost vazodilatacije. Do ishemijske ozljede pankreasa najčešće dolazi zbog kardiokirurških operativnih zahvata, odnosno kardio-pulmonalnog bypassa (stroj srce-pluća).

Genetski čimbenici. Do sada su opisane brojne mutacije u svezi s akutnim pankreatitisom. Najčešće je riječ o mutacijama na genima za tripsinogen, regulator transmembranske provodljivosti (cistična fibroza) i inhibitor sekrecije tripsina (135). Ova stanja najčešće

dovode do kroničnog pankreatitisa, ali u nekim slučajevima mogu se prezentirati i akutnim tijekom bolesti. Mnoge se studije bave i polimorfizmom citokina koji djeluju na upalni odgovor. Misli se da bi taj polimorfizam citokina mogao imati utjecaj na ozbiljnost (intenzitet) akutnog pankreatitisa.

Autoimuni pankreatitis. Autoimuni pankreatitis benigna je bolest koja se očituje nepravilnim suženjima izvodnog kanala pankreasa, edemom parenhima, infiltracijom limfocitima i plazma stanicama te fibrozom. Klinički, može se očitovati kao epizoda akutnog pankreatitisa. U serumu bolesnika s autoimunim pankreatitisom nalazi se visoka koncentracija antinuklearnih protutijela (IgG4). Ove serološke vrijednosti omogućuju razlikovanje akutne epizode autoimunog pankreatitisa od eventualnih ostalih bolesti pankreasa ili bilijarnog trakta (136). Autoimuni pankreatitis uglavnom dobro reagira na terapiju kortikosteroidima.

Neodređeni uzroci akutnog pankreatitisa. Nakon evaluacije, u oko 25% slučajeva akutni pankreatitis ostaje neutvrđene etiologije. Zapravo, uz pankreatitis nakon konzumacije veće količine alkohola i onaj uzrokovan opstrukcijom pankreatičnoga izvodnog kanala, akutni se pankreatitis najčešće dijagnosticira kao idiopatski akutni pankreatitis. Dvije studije opisuju postojanje mikroskopskih žučnih konkremenata (mikrolitijaza) u 66-75% bolesnika s akutnim idiopatskim pankreatitisom (137, 138). Na značenje mikrolitijaze osobito upućuju činjenice da su holecistektomija, sfinkterotomija ERCP-om i primjena tvari koje otapaju konkreme smanjile učestalost recidiva akutnog pankreatitisa u ispitivanih bolesnika. No, još uvijek ne postoji standardna dijagnostička metoda kojom bi se mikrolitijaza i verificirala.

Patofiziologija akutnog pankreatitisa

Patofiziologija akutnog pankreatitisa, bez obzira na uzrok, još uvijek predstavlja veliku nepoznanicu. Svi etiološki čimbenici vode prema mehanizmu koji dopušta aktivaciju digestivnih enzima u samom pankreasu (139). Konverzija inaktivnog pronezima ili proenzima

tripsinogena u aktivnu formu ima najvažniju ulogu, jer tripsin može aktivirati više drugih pronezima. Oslobođeni enzimi mogu uzrokovati destrukciju i nekrozu tkiva pankreasa, masnog tkiva i okolnih organa. Kao posljedica ove kemijske «opekline» retroperitoneuma pojavljuje se znatan gubitak tekućine (tzv. gubitak u treći prostor). Međutim, do nekroze pankreasa ne dolazi u svih bolesnika. Nekroza nastaje uglavnom tijekom ozbiljnih epizoda akutnog pankreatitisa.

Dakle, akutni pankreatitis može se pojaviti kao nekrotizirajući i intersticijski.

Oslobađanje aktiviranih pankreatičnih enzima u sistemsku cirkulaciju može biti toliko intenzivno, da prelazi mogućnosti protektivnih mehanizama (antiproteaza). Ti enzimi tada dovode do izravnog oštećenja udaljenih organa i ostalih enzimskih sustava (npr. sustav komplemenata). Konačno, dolazi do oslobađanja velikog broja medijatora upale i citokina iz upalnih stanica, zatim sindroma sistemskog imunološkog odgovora (SIRS), te na kraju sindroma nalik sepsi (140). Kombinacijom djelovanja aktiviranih enzima pankreasa, zatim ostalih aktiviranih enzimskih sustava i oslobođenih citokina mogu nastati ozbiljne sistemske komplikacije, povezane s teškim oblikom akutnog pankreatitisa.

Do sada su pokušane mnoge metode liječenja s ciljem inhibicije proteaza pankreasa, međutim, ni jedna od njih nije se pokazala značajno korisnom. Međutim, u istraživanjima na pokusnim životinjama, aplikacija antiproteaza prije indukcije pankreatitisa pokazala je određeno djelovanje (141).

Sve bolje poznavanje uloge medijatora upale nije samo znatno unaprijedilo poznavanje patofiziologije akutnog pankreatitisa, već je također otkrilo put za eventualne nove metode liječenja. Neka istraživanja naglasak stavljaju na kontrolu sindroma sistemskoga imunološkog odgovora (SIRS) utjecajem na upalne citokine. Kako kaskada djelovanja upalnih citokina vodi do multiorganskog zatajenja (MOF), citokini predstavljaju interesantan predmet istraživanja terapije akutnog pankreatitisa. Izgleda da je čimbenik aktivacije trombocita (PAF)

glavni proinflamatorni citokin, a iz nekih manjih randomiziranih istraživanja proizlazi da uporaba antagonista čimbenika aktivacije trombocita može smanjiti ozbiljnost pankreatitisa, ukoliko se oni primijene u ranom tijeku bolesti. Međutim, ovi rezultati nisu potvrđeni u velikim randomiziranim istraživanjima (142). S kaskadom djelovanja citokina vjerojatno interferiraju brojne tvari, a buduća slična istraživanja dodatno će pojasniti njihovu moguću ulogu u liječenju akutnog pankreatitisa.

Laboratorijska dijagnostika akutnog pankreatitisa

Koncentracija amilaza u serumu. Ta je vrijednost godinama bila najčešće mjerena pri postavljanju dijagnoze akutnog pankreatitisa. Najmanje 75% bolesnika s akutnim pankreatitisom pri inicijalnom pregledu ima povišenu koncentraciju amilaza u serumu (143). Trostruki ili veći porast patognomoničan je za akutni pankreatitis. Amilaza se izlučuje bubregom, zbog čega se u bolesnika s renalnom insuficijencijom kao kriterij uzima peterostruki porast njenih vrijednosti.

Serumska vrijednost amilaza može biti i normalna u nekih bolesnika s akutnim alkoholnim pankreatitisom te u bolesnika s hiperlipidemičnim pankreatitisom (povišena vrijednost triglicerida interferira s testovima za mjerenje koncentracije amilaze). Ukoliko se mjerenje provodi nekoliko dana nakon pojave simptoma, vrijednost amilaze u serumu može također biti normalna. U nekoliko velikih serija istraživanja, u 10-30% bolesnika koji su umrli od posljedica akutnog pankreatitisa, dijagnoza bolesti postavljena je tek na obdukciji (144).

Međutim, povišenje koncentracije amilaze u serumu nije specifično za akutni pankreatitis, te može biti povezana s nizom drugih stanja, npr. ishemijom crijeva, perforacijom šupljeg organa, intestinalnom opstrukcijom, hloedoholitijazom, holelitijazom, holecistitisom, tuboovarijskom bolešću (ektopična trudnoća, akutni salpingitis) te svakako s akutnim apendicitisom.

Koncentracija lipaza u serumu. Ova se metoda često koristi u dijagnostici akutnog pankreatitisa, zajedno sa ili bez određivanja amilaza, kao test kojim se potvrđuje dijagnoza. Ranije je točno određivanje koncentracije lipaza predstavljalo problem, no nove metode omogućuju visoku preciznost. Za dijagnosu akutnog pankreatitisa vrijednost lipaza je senzitivnija i specifičnija od vrijednosti amilaza (143). Također, koncentracija lipaza ostaje dulje vrijeme povišena, te se njenim mjerenjem dijagnoza može postaviti i do deset dana nakon pojave simptoma. Za to vrijeme vrijednost amilaza uglavnom postaje normalna. Poput amilaza, i vrijednost lipaza može biti povišena i u drugim intraabdominalnim bolestima te u bolesnika s renalnom insuficijencijom. Trostruki porast vrijednosti amilaze i lipaze visoko je senzitivan i specifičan, no u bolesnika s renalnom insuficijencijom, kao dijagnostički kriterij uzima se peterostruki porast njenih vrijednosti.

Drugi laboratorijski testovi. U akutnom pankreatitisu često je prisutna leukocitoza. Vrijednost hematokrita može biti normalna, no u slučajevima gubitka tekućine u treći prostor može doći i do hemokoncentracije. Hemokoncentracija je važan pokazatelj ozbiljnog pankreatitisa (145). Također mogu biti prisutni i hiperglikemija i hipokalcemija. Tetanija se pojavljuje rijetko, jer vrijednost ioniziranog kalcija usprkos hipokalcemiji ostaje normalna. Ukoliko postoji već prisutna bolest jetre (ciroza u alkoholičara) ili je akutni pankreatitis uzrokovan opstrukcijom izvodnog kanala pankreasa žučnim konkrementom, mogu biti prisutne povišene vrijednosti jetrenih transaminaza, konjugiranoga i nekonjugiranog bilirubina te alkalne fosfataze. Trostruki porast alanin- transferaze etiološki upućuje na holecistijazu. Ovaj, ali i svaki drugi signifikantno promijenjeni laboratorijski nalaz jetre, treba usmjeriti pozornost na holecistijazu kao uzrok pankreatitisa, poglavito ukoliko se vrijednosti normaliziraju nakon nekoliko dana (146).

Eksperimentalni modeli akutnog pankreatitisa

Postoji nekoliko eksperimentalnih modela indukcije akutnog pankreatitisa (147, 148), koji se razlikuju po učestalosti primjene i klasifikacijama, ali i po intenzitetu akutnog pankreatitisa. U daljnjem tekstu slijedi opis najčešćih modela.

Sistemska primjena preparata za indukciju akutnog pankreatitisa. Prije više od stotinu godina opisana je moguća neuralna stimulacija nastanka akutnog pankreatitisa (149). Postoji nekoliko tvari koje mogu stimulirati pankreas. Kako je jedna od njih holecistokinin, jedna od najčešćih tvari koja se koristi u indukciji akutnog pankreatitisa jest cerulein, agonist holecistokinina. Cerulein se može primjenjivati subkutano, iako se intravenskom primjenom postižu bolji rezultati. Oštećenje pankreasa je umjereno.

Indukcija akutnog pankreatitisa prehranom. Hrana siromašna kolinom i obogaćena etioninom dovodi do hemoragičnog pankreatitisa, a mortalitet može varirati, ovisno o trajanju prehrane životinja navedenom hranom. Ovaj oblik akutnog pankreatitisa napreduje sporije od drugih oblika. Obično se koristi na ženskim miševima (149).

Ligatura glavnoga žučnog voda i pankreatičnoga izvodnog kanala. Tim se zahvatom omogućava refluks žuči u pankreatični izvodni kanal s posljedičnim razvojem upale. Taj se model koristi na većim životinjama (149). Novija istraživanja u indukciji akutnog hemoragičnog pankreatitisa opisuju i kombinaciju ligiranja bilijopankreatičnog stabla neposredno prije utoka u duodenum i aplikacije ceruleina (150). Metoda je primjenjivana na muškim Wistar štakorima.

Izravna perfuzija izvodnoga pankreatičnog kanala. U izvodni pankreatični kanal može se izravno aplicirati tvar koja dovodi do akutnog pankreatitisa. Najčešće se koriste žuč ili natrijev tauroholat. Taj je model, iako tehnički zahtjevan, vrlo učinkovit u miševa (149).

Pentadekapeptid BPC 157

Taj peptid korišten je u ovome istraživanju kao ispitivani preparat. Do sada se u više istraživanja pokazao učinkovitim u održanju integriteta i funkcije jednjaka. Detaljno je opisan u poglavlju „Materijali i metode“.

3. HIPOTEZA I CILJ ISTRAŽIVANJA

Glavni cilj istraživanja ovoga rada jest istraživanje funkcije donjega ezofagealnog sfinktera prema gore opisanom modelu (151), s usmjerenjem pozornosti na utjecaj akutnog pankreatitisa na disfunkciju sfinktera, kao ključnog uzroka ezofagitisa (152) te na lokalne promjene sluznice jednjaka.

Dosadašnji rezultati motiviraju daljnja istraživanja eventualne mogućnosti primjene pentadekapeptida BPC 157 u liječenju teških sustavnih promjena, hemodinamske nestabilnosti, respiratorne insuficijencije, zatim metaboličke i ionske (elektrolitske) neravnoteže, kao i u sprečavanju nastanka erozivnih i ulceroznih promjena gornjih dijelova gastrointestinalnog sustava, čija krvarenja mogu komplicirati tijekom akutnog pankreatitisa (122)

Posebno je važno istaknuti da se u ovih modela istraživanja (151, 153), izbjegavaju problemi vezani uz morfološku mutilaciju probavnog trakta (152, 154, 155, 156, 157). Tijekom različitih drugih istraživanja, usprkos različitim rekonstrukcijskim zahvatima na gornjem probavnom traktu, ali uz očuvanje morfologije sfinktera, do sada se nije uspio razviti ezofagitis. Jednako tako, ezofagitis se nije uspjelo uzrokovati ni odstranjenjem samog sfinktera (152, 154, 155, 156, 157). Dapače, tek su u nekoliko studija izvršena slična istraživanja na štakorima (156- 27), kao uobičajeno korištenim eksperimentalnim životinjama u istraživanjima eksperimentalnog ezofagitisa. Međutim, operacijskim zahvatima u smislu miektomije ezofagealnog sfinktera ili kruralne miotomije dijafragme, koji u štakora dovode do sniženja tlaka donjega ezofagealnog sfinktera, ali ne i disfunkcije piloričkog sfinktera, u periodu od mjesec dana nije moguće izazvati ezofagitis (156).

Prema tome, sniženje tlaka samog sfinktera, te njegova ireverzibilna disfunkcija mogli bi biti pogodan eksperimentalni model za istraživanje liječenja ezofagitisa u štakora (151, 153). Do sada je dokazano da nakon 12 ili 20 mjeseci kontinuiranog trajanja ezofagitisa, ali i u ranijim intervalima (151, 153), u štakora s kompletnom disfunkcijom sfinktera pentadekapeptid BPC 157 djeluje povišenjem tonusa piloričkoga i ezofagealnog sfinktera. S druge strane, interesantno je da taj peptid u zdravih štakora djeluje povišenjem tlaka donjega ezofagealnog sfinktera, te sniženjem tlaka piloričkog sfinktera. Ti učinci govore u prilog antirefluksnog djelovanja s regulacijom funkcije sfinktera u fiziološkim ili patološkim uvjetima (151, 153). Djelotvornost pentadekapeptida BPC 157 na akutni pankreatitis i pridružene lezije želuca i duodenuma već su ranije opisani (158).

S druge strane, mnogi su mogući mehanizmi na koje bi se moglo pokušati utjecati kako bi se smanjile posljedice enzimske aktivacije pankreasa, koja dovodi do različitih hemodinamskih, metaboličkih, respiratornih i imunoloških promjena (159, 160). Te promjene znatno smanjuju mogućnost cijeljenja lezija nastalih na sluznici, ali i u dubljim slojevima stijenke jednjaka, te povećavaju mogućnost komplikacija. Iako nepoznatim mehanizmom, do sada su opisani brojni profilaktički i terapijski pozitivni utjecaji pentadekapeptida BPC 157 na morfološki i funkcionalni integritet mnogih organa (151, 153, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170). Posebno je interesantan podatak da BPC 157 suprimira djelovanje antagonista nitrooksida, ali i pospješuje djelovanje samog nitrooksida (163). Neki su autori mišljenja da je nitrooksid glavni protektivni čimbenik koji štiti od respiratornih komplikacija u sklopu akutnog pankreatitisa (171). Prema drugim pak autorima, pojačana sinteza nitrooksida dovodi do intenzivnije ozljede pankreasa tijekom akutnog pankreatitisa (172).

Na temelju navedenih podataka, cilj je ovog istraživanja, također ustanoviti potencijalne preventivne i terapijske mogućnosti pentadekapeptida BPC 157 na nastanak disfunkcije DES uslijed primarne disfunkcije piloričkog sfinktera, koja dovodi do povišenja intragastričkog

tlaka i usporenja pražnjenja želuca. Te posljedice dovode do tlačnog opterećenja DES i njegovog popuštanja, što rezultira refluksom duodenalnoga i želučanog sadržaja u jednjak te nastankom upalnih promjena u samoj stijenci jednjaka. Isto tako, intenzitet akutnog pankreatitisa utječe na motilitet probavnog trakta, pa tako i na motilitet želuca te na sfinkternu funkciju piloričkoga i donjeg ezofagealnog sfinktera. Akutni pankreatitis također dovodi do hemodinamskih, metaboličkih, respiratornih i imunoloških promjena koje otežavaju procese cijeljenja.

Preventivni ili terapijski učinak ispitivanog preparata temelji se na učinku na DES, stijenk u jednjaka te na morfologiju i enzimsku aktivnost pankreasa, i to u ranome tijeku bolesti, odnosno prva 24 sata.

4. MATERIJALI I METODE

A) MATERIJALI

1. Eksperimentalne životinje

Istraživanje je provedeno na eksperimentalnim životinjama, tj. na ženka štakora Wistar albino, tjelesne težine od oko 200 g. Te su se životinje i ranije koristile u istraživačke svrhe s tematikom ezofagitisa (151, 153) i akutnog pankreatitisa (150). Sva istraživanja provedena su uz usporedbu rezultata skupine tretiranih životinja s rezultatima kontrolne skupine, a rezultati su ocijenjeni od strane stručnjaka koji nisu imali izravan dodir sa samim izvođenjem istraživanja.

2. Pentadekapeptid BPC 157

Pentadekapeptid BPC 157 (GEPPPGKPADDAGLV, M.W. 1419) (Diagen, Ljubljana, Slovenija), jest djelomična sekvenca proteina BPC, koji se nalazi u želučanom soku čovjeka. Taj je preparat topiv u vodi pri PH 7.0 te u fiziološkoj otopini (0.9 % otopina NaCl). Pripremljen je već ranije opisanom načinom (151, 153, 161- 170), s postignutom čistoćom od 99%, izmjerenom metodom HPLC (High Pressure Liquid Chromatography). U svim postupcima ovog istraživanja korištena je otopina preparata u fiziološkoj otopini (151, 153).

U nedavnim je istraživanjima verificiran povoljni učinak BPC 157 na promjene jednjaka štakora uslijed prolongiranog ezofagitisa uzrokovanoga primarnom disfunkcijom DES i piloričkog sfinktera (153). Jednako tako objavljeni su i uspješni rezultati primjene BPC 157 na promjene jednjaka nastale prolongiranim ezofagitisom kao posljedicom primarne disfunkcije piloričkoga, te sekundarne disfunkcije DES (151). Ovi učinci i ne predstavljaju iznenađenje, s obzirom na do sada već poznate učinke cijeljenja potencirane djelovanjem pentadekapeptida BPC 157 (151, 153, 161- 170).

Nadalje, uzevši u obzir gore navedeno, znanstveno je interesantno vidjeti potencijal učinka cijeljenja pentadekapeptida BPC 157 na promjene jednjaka s obzirom na promijenjen sastav

refluksnog sadržaja, u odnosu na prethodna istraživanja (151, 153). Naime, ligiranjem pankreatičnih vodova, pankreatični enzimi ne mogu ući u duodenum te tako postati sastavni dio refluksnog sadržaja. Međutim, ukoliko dođe do nastanka erozivnih i ulceroznih promjena na sluznici jednjaka, cijeljenje je zbog općega lošeg stanja životinje uzrokovanoga akutnim pankreatitisom, znatno otežano. Već su ranije opisane ulcerogene promjene jednjaka i želuca tijekom akutnog pankreatitisa (122).

Gastrični pentadekapeptid stabilan je antiulcerozni peptid (151, 153), poglavito u želučanom soku (173), a do sada se u tome smislu pokazao učinkovitijim od mnogih standardnih preparata (151, 153- 161, 163, 164, 165). Također, gastrični pentadekapeptid djeluje protektivno na sluznicu jednjaka (151, 153, 154) i regulira funkciju žlijezda slinovnica (174). Gastrični pentadekapeptid BPC 157, pod oznakom PL-10, PLD-116 i PL 14736 (Pliva, Hrvatska), ispituje se u kliničkim istraživanjima u liječenju upalnih bolesti debelog crijeva (167), zatim u procesu cijeljenja rana (164, 165, 175, 176) te u procesu cijeljenja mišića nakon potpune transekcije (168). Do sada nije opisan nikakav toksični učinak pentadekapeptida BPC 15 (168). Mijektomijom jednjaka i miotomijom krakova dijafragme, a bez inducirane disfunkcije piloričkog sfinktera, ni nakon mjesec dana nije došlo do nastanka ezofagitisa u štakora (156).

Sniženje tlaka sfinkternih mišića, njihovo oštećenje i dugotrajna disfunkcija predstavljaju dobar model za istraživanje liječenja ezofagitisa koje dovodi do oporavka funkcije sfinktera. Do sada, u trajanju ezofagitisa u štakora uzrokovanoga potpunom disfunkcijom sfinkera tijekom 12 ili 20 mjeseci (153), ali i u ranijim intervalima (177), pentadekapeptid BPC 157 pokazao se učinkovitim u povišenju tlaka oba sfinktera te u poboljšanju promjena sluznice jednjaka. Također je interesantno da taj peptid u zdravih štakora dovodi do povišenja tlaka DES, ali i do povišenja tlaka piloričkog sfinktera (151, 153). Taj učinak na pilorički sfinker

upućuje na određeni antirefluksni mahanizam, ali i na utjecaj na ravnotežu rada sfinkera, ovisno o tome je li riječ o fiziološkom ili patološkom stanju (151, 153).

U dosadašnjim istraživanjima utjecaja pentadekapeptida BPC 157 na ezofagitis, taj se peptid primjenjivao intraperitonealno i intragastrički, putem vode za piće. Prema posljednjim rezultatima (151, 153), može se postaviti hipoteza da primjena pentadekapeptida BPC 157 dovodi do regresije vrijednosti poremećenih tlakova sfinktera (DES i piloričkoga), nakon relativno kratkog vremena od 1-2 tjedna, ali i tijekom dužeg perioda (12 mjeseci) trajanja neliječenog ezofagitisa.

B) METODE

1. Indukcija ezofagitisa i akutnog pankreatitisa

Kako bi se uzrokovala disfunkcija piloričkog sfinktera, u općoj anesteziji, pokusnim su životinjama transpilorično implantirane plastične cjevčice, koje su fiksirane pojedinačnim neresorbirajućim šavima tenzijske snage 5-0.

Nakon tog zahvata dolazi do duodenogastričkog refluksa, koji dovodi do povećanja intragastričkog tlaka, usporenog pražnjenja želuca, tlačnog opterećenja te na kraju do sekundarne insuficijencije DES i posljedičnoga gastroezofagealnog refluksa. Također, uslijed refluksa alkalnoga duodenalnog sadržaja u želudac, dolazi do reaktivne hipersekrecije kiseloga želučanog soka koji, ukoliko ascendira u jednjak, djeluje agresivno na njegovu sluznicu.

Indukcija akutnog pankreatitisa provedena je podvezivanjem zajedničkoga biliarnoga i pankreatičnog stabla, neposredno prije utoka u duodenum (149, 150, 158). Zajedničko biliopankreatično stablo formira se unutar hepatoduodenalnog ligamenta, utokom pankreatičnog izvodnog kanala u glavni žučni vod (ductus choledochus). Nakon insercije i

fiksacije plastične cjevčice kroz pilorus opisanim postupkom, dijafanoskopijom smo vizualizirali mjesto otvaranja biliopankreatičnog stabla u duodenum, te ga potom podvezali neresorbirajućim šavom tenzijske snage 5-0.

Svi opisani operacijski postupci provedeni su u općoj anesteziji, induciranoj intraperitonealnom aplikacijom ketamina, 20 mg/kg te diazepamom, 6 mg/kg. Primjenom ovih dvaju preparata, zbog njihovoga analgetskog učinka, osigurana je i postoperacijska analgezija.

Pojašnjenje: primjenom navedenih doza ketamina i diazepamom u „pilot“ studiji osigurali smo dobru opću anesteziju i relaksaciju životinja. Iskustvom u radu na prethodnim pokusima s Wistar albino štakorima, veće doze ketamina vrlo bi često dovele do smrti životinje, već pri operacijskom zahvatu. Manje pak doze diazepamom nisu omogućavale dobru relaksaciju i sedaciju životinja, što je otežavalo i postupak indukcije opće anestezije.

2. Protokol tretiranja pokusnih životinja ispitivane i kontrolne skupine

Tretiranje svih pokusnih životinja, prema skupinama, provođeno je prema protokolu korištenom u ranijim istraživanjima (151, 153).

Sukladno navedenom, pentadekapeptid BPC 157 apliciran je pokusnim životinjama intraperitonealno, otopljen u 0,9 % Na Cl, 1 ml/200 g, 30 min nakon operacije, u sljedećim koncentracijama :

- a) 10 ug/kg, i
- b) 10 ng/kg

Drugi način tretiranja temelji se na intragastričkoj (peroralnoj) primjeni BPC 157 (0.16 ug/ml i 0.16 ng/ml) otopljenoga u pitkoj vodi (12 ml dnevno po životinji) te same pitke vode.

U svakoj ispitivanoj skupini, kao i u kontrolnim skupinama, analizirano je po deset eksperimentalnih životinja, a rezultati su evaluirani nakon 24 sata.

Žrtvovanje životinja. Sve ispitivane životinje žrtvovane su 24 sata nakon operacijskog postupka. Postupak žrtvovanja eksperimentalnih životinja proveden je u općoj anesteziji tijekom uzimanja krvi za laboratorijsku analizu, iskrvarenjem iz arteficialnog defetka abdominalne aorte. Opća anestezija inducirana je na istovjetan način kao i za operacijski postupak. Dakle, žrtvovanje životinja provedeno je u općoj anesteziji, uz potpuno isključenje boli.

3. Metode za vizualizaciju oštećenja

Za vizualizaciju oštećenja korištene su makroskopske i mikroskopske analize jednjaka i gušterače.

Jednjak

Za prikaz promjena na jednjaku u obzir su uzete makroskopska i mikroskopska analiza sluznice.

Makroskopska ocjena opisana je u bodovnome rasponu od 0-4, koristeći izravno skeniranje jednjaka (Hewlett Packard C7690B, Sean Maker i900; Microtek, Willich, Germany), kao što je ranije opisano (151, 153), uz sljedeće kriterije:

0. stupanj oštećenja - uredna sluznica jednjaka;
1. stupanj oštećenja - edem stijenke jednjaka s pojedinačnim hemoragičnim promjenama;
2. stupanj oštećenja - multiple erozije stijenke jednjaka;
3. stupanj oštećenja - stanjenje stijenke jednjaka s linearnim hemoragičnim erozivnim promjenama, i
4. stupanj oštećenja - stanjenje stijenke jednjaka s konfluirajućim hemoragičnim promjenama.

Mikroskopska analiza provedena je korištenjem specijalnog računalnog programa ISSA (VAMSTEC, Zagreb, Hrvatska) (151, 153). Neposredno nakon evisceracije, svi su preparati pripremljeni na istovjetan način. Jednjak, želudac i dvanaesnik uzdužno su prerezani,

rašireni i rubovima fiksirani na plohu od stiropora te su fiksirani u 10%-tnom formalinu tijekom 24 sata. U daljnjem tijeku, cijeli su parafinski preparati mikrotomom, u blokovima, rezani s debljinom reza od 4 um, nakon čega su obojeni hematoksilinom i eozinom, a analizirani su svjetlosnim mikroskopom (objektiv pod povećanjem 200x, okular 10x 100). Vidno polje svakog segmeta snimljeno je kamerom (TK 1270; Sony, Tokyo), pohranjeno je u ISSA bazu podataka te analizirano objektivom povećanja d 25 puta. Te snimke korištene su za morfometrijsku analizu debljine epitela jednjaka, kao i debljine rožnatog sloja istog epitela. Dobivene vrijednosti vrednovane su u bodovnom rasponu 1-3, na sljedeći način:

- 1- manje od 10% duljine epitela ima vidljive jezgre kroz cijelu debljinu epitela;
- 2- 10-50% duljine epitela ima vidljive jezgre kroz cijelu debljinu epitela, i
- 3- jezgre kroz cijelu debljinu epitela vidljive u više od 50% duljine epitela).

Gušterača

Tijekom evisceracije jednjaka, želuca i duodenuma, preparirano je i tkivo promijenjene gušterače, koje je potom dalje obrađeno na isti način, kao što je opisano za jednjak.

Analiza intenziteta akutnog pankreatitisa ocijenjena je prema već ranije opisanome protokolu, koji uključuje makroskopsku, patohistološku i biokemijsku analizu (32).

Makroskopski opis izražen je prema sljedećem sustavu bodovanja:

- 0 - pankreas bez nekroze,
- 1- pojedinačne zone nekroze ili hemoragije <1mm promjera;
- 2- zone nekroze ili hemoragije > 3 mm;
- 3- konfluirajuće zone nekroze ili hemoragije >6 mm, i
4. difuzna nekroza ili hemoragija cijelog pankreasa.

Mikroskopske promjene tkiva gušterače bodovane su na sljedeći način:

Nalaz neutrofila: 0 – 3;

- 0- bez neutrofila;
- 1- neutrofilu u manjim nakupinama;
- 2- pojedinačni neutrofilu, i
- 3- neutrofilu u velikim kolekcijama.

Nalaz mononukleara bodovan je na isti način (0-3), dakle, kao i nalaz neutrofila.

Edem je također bodovan bodovima 0-3, na sljedeći način:

- 0- bez edema;
- 1- blagi edem;
- 2- umjereni edem, i
- 3- teški edem.

Nekroza je bodovana na isti način 0-3, kao i edem, dakle:

- 0-bez nekroze;
- 1-nekroza do 5 acinusa;
- 2-nekroza 5-10 acinusa, i
- 3-nekroza više od 10 acinusa.

4. Biokemijska evaluacija

Biokemijska evaluacija akutnog pankreatitisa verificirana je mjerenjem koncentracije amilaza i lipaza u serumu. Uzorci krvi uzeti su iz abdominalne aorte, kao što je ranije opisano (158). Kao referentna vrijednost amilazemije uzeta je serumska koncentracija između 0 do 91 U/L, a lipazemije od 21 do 67 U/L.

Kao dijagnostički kriterij akutnog pankreatitisa u obzir su uzeti trostruki porasti normalnih serumskih vrijednosti koncentracije oba enzima.

5. Manometrijska mjerenja (mjerenja tlaka DES)

Manometrijska mjerenja DES provedena su vodenim manometrom preko Foleyevih katetera postavljenih intraluminalno kroz ezofagogastrični prijelaz, odnosno DES. Foleyevi kateteri bili su postavljeni kroz minimalne incizije na jednjak, a defekti su prije mjerenja zatvoreni šavima oko ulaznog mjesta katetera. Vrijednosti tlaka donjega ezofagealnog sfinktera izražene su u centimetrima vode (cm H₂O)

6. Statistička analiza

Za usporedbu rezultata primijenjenih metoda 1- 5, opaženih u pojedinim skupina životinja, podaci dobiveni istraživanjem statistički su obrađeni neparametrijskom Kruskall-Wallis metodom i Mann-Whitneyevim U testom. Vrijednost $p < 0.05$ smatra se statistički značajnom, a u grafičkim prikazima i tablicama obilježena je simbolom.

5. REZULTATI

Rezultati su prikazani prema redoslijedu primijenjih metoda.

1. Rezultati indukcije ezofagitisa i akutnog pankreatitisa

Nakon implantacije cijevčice kroz pilorički sfinkter i podvezivanja glavnog žučnog voda nisu opažene poslijeoperacijske komplikacije.

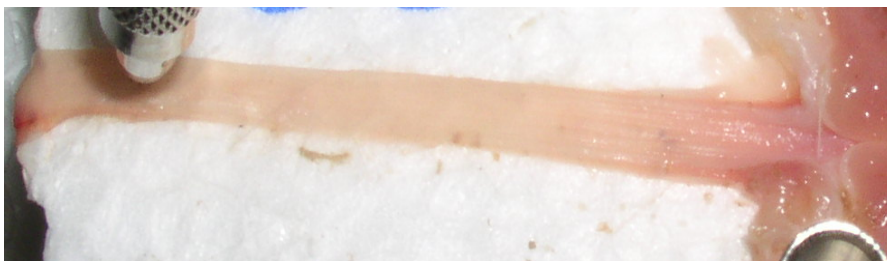
2. Rezultati tretiranja pokusnih životinja ispitivane i kontrolne skupine, prema opisanome protokolu

Nakon aplikacije pentadekapeptida BPC 157 u pokusnih životinja, inspekcijom, nakon buđenja iz anestezije, nisu opažene promjene ponašanja, a životinje su uredno uzimale hranu i vodu.

3. Rezultati primjene metoda za vizualizaciju oštećenja

Jednjak

Makroskopski izgled sluznice ocijenjen na gore navedni način, prikazan je na slikama **2, 3, 4, 5 i 6.**



Slika 2. 0. stupanj oštećenja - uredna sluznica jednjaka



Slika 3. 1. stupanj oštećenja - edem sluznice jednjaka s pojedinačnim hemoragičnim promjenama



Slika 4. 2. stupanj oštećenja - multiple erozije sluznice jednjaka



Slika 5. 3. stupanj oštećenja - stanjenje sluznice jednjaka s linearnim hemoragičnim i erozivnim promjenama



Slika 6. 4. stupanj - stanjenje sluznice jednjaka s konfluirajućim hemoragičnim promjenama

Ocjena makroskopskih promjena sluznice jednjaka s obzirom na način primjene i koncentraciju ispitivanog preparata

Intragastrička primjena pentadekapeptida BPC 157

Skupina ug - intragastričkom primjenom pentadekapeptida BPC 157 u mikrogramskoj koncentraciji, prosječna vrijednost ocjene stijenke jednjaka bila je niža u tretiranih životinja, odnosno 1.1 (raspon 0-3), za razliku od prosječne vrijednosti kontrolne skupine koja je iznosila 3.1 (raspon 2-4).

Skupina ng- u životinja tretiranih nanogramskom koncentracijom intragastričkim putem, prosječna ocjena stijenke jednjaka iznosila je 2.4 (raspon 1-4), za razliku od kontrolne skupine u kojoj je iznosila 3.1 (raspon 2-4).

Intraperitonealna primjena pentadekapeptida BPC 157

Skupina ug - u ovoj je skupini u životinja tretiranih mikrogramskom koncentracijom pentadekapeptida BPC 157 prosječna vrijednost makroskopske ocjene stijenke jednjaka iznosila 1.3 (raspon 0-3), za razliku od kontrolne skupine životinja u kojoj je iznosila 3.2 (raspon 2-4).

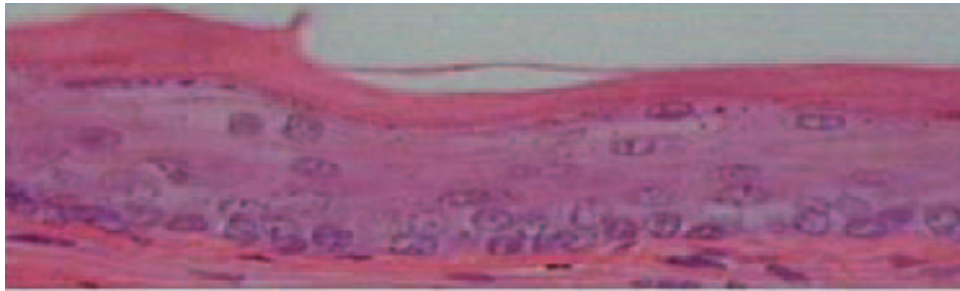
Skupina ng - nakon tretiranja životinja nanogramskom koncentracijom pentadekapeptida BPC 157 intraperitonealnom aplikacijom, prosječna ocjena stijenke jednjaka iznosila je 2.5 (raspon 1-4), dok je u kontrolne skupine bila viša, odnosno 3.2 (raspon 2-4).

Mikroskopske promjene sluznice jednjaka ocijenjene su na gore opisani način, a prikazane su na slikama 6, 7, 8 i 9.

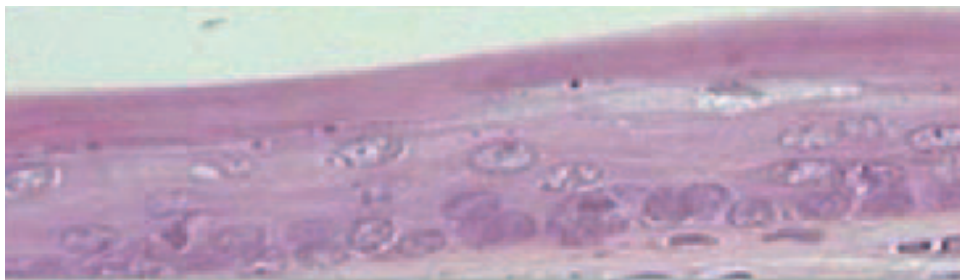
Nakon prvih 24 sata trajanja, ni u tretiranih životinja, niti u životinja kontrolne skupine nisu pronađene razlike u smislu poremećaja stratifikacije epitela. Kod svih su životinja zabilježene promjene 1. stupnja.

Također, opisane su promjene proksimalnog, odnosno distalnog dijela jednjaka te debljina epitela i debljina rožnatog sloja. Vrijednosti debljine obje strukture prikazane su u grafičkim prikazima u mikrometrima (um); grafički prikazi 3- 10

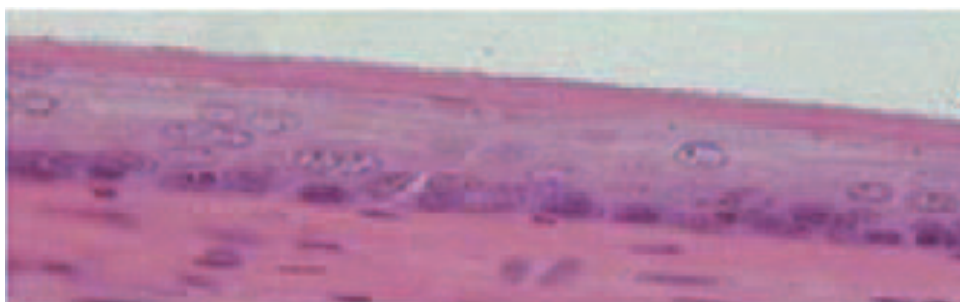
Mikromorfoške promjene sluznice jednjaka prikazane su na slikama 7, 8 ,9 i 10.



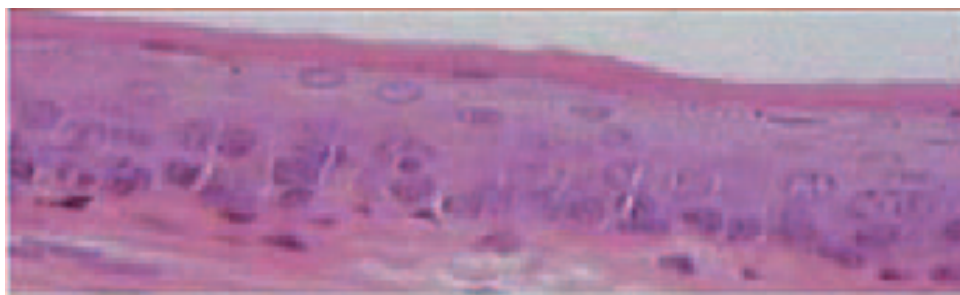
Slika 7. Epitel proksimalnog jednjaka nakon intragastričke aplikacije ispitivanog preparata u mikrogramskoj koncentraciji, hematoksilin i eozin; x 200.



Slika 8. Epitel distalnog jednjaka nakon intragastričke primjene ispitivanog preparata u mikrogramskoj koncentraciji, hematoksilin i eozin; x 200.



Slika 9. Epitel proksimalnog jednjaka životinje kontrolne skupine nakon intragastrične primjene, hematoksilin i eozin; x 200.



Slika 10. Epitel distalnog jednjaka životinje kontrolne skupine nakon intragastrične primjene, hematoksilin i eozin; x 200.

Mikroskopska analiza sluznice jednjaka s obzirom na način primjene i koncentraciju preparata

Utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na debljinu epitela jednjaka

Intragastrička primjena

Debljina epitela u distalnom jednjaku bila je podjednaka, kako u tretiranih životinja, tako i u životinja kontrolne skupine. Iako je najdeblji epitel izmjeren u životinja tretiranih mikrogramskom koncentracijom pentadekapeptida BPC 157, razlike nisu statistički značajne. S druge strane, u proksimalnom dijelu jednjaka u životinja kontrolne skupine izmjerena je manja debljina epitela u odnosu na tretirane životinje. Međutim, ovdje je najdeblji epitel izmjeren u životinja tretiranih nanogramskom koncentracijom pentadekapeptida BPC 157, ali također bez statistički značajne razlike.

Statistička analiza debljine epitela nakon intragastričke primjene pentadekapeptida BPC 157 prikazana je grafičkim prikazima 3 i 4.

Intraperitonealna primjena

U distalnom dijelu jednjaka najdeblji je epitel izmjeren u životinja kontrolne skupine, ali razlika u odnosu na tretirane životinje nije statistički značajna. U proksimalnom dijelu

jednjaka, najdeblji je epitel izmjeren u životinja tretiranih mikrogramskom koncentracijom ispitivanog preparata, ali također bez statistički značajne razlike u odnosu na kontrolnu skupinu i skupinu tretiranu nanogramskom koncentracijom (grafički prikazi 5 i 6).

Utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na debljinu rožnatog sloja epitela jednjaka

Intragastrička primjena

U distalnom dijelu jednjaka u tretiranih životinja izmjeren je deblji rožnati sloj, kako u životinja tretiranih mikrogramskom, tako i u životinja tretiranih nanogramskom koncentracijom ispitivanog preparata, uz statistički značajne razlike u odnosu na kontrolnu skupinu; no, u ovoj se skupini učinak pokazao ovisnim o dozi, jer je deblji epitel izmjeren u životinja tretiranih mikrogramskom koncentracijom. Slični su rezultati debljine rožnatog sloja te ovisnost o dozi opaženi i u proksimalnom dijelu jednjaka, uz također prisutnu statistički značajnu razliku u obje skupine tretiranih životinja (tj. u životinja tretiranih mikrogramskom i nanogramskom koncentracijom ispitivanog preparata), u odnosu na kontrolnu skupinu. Statistička analiza debljine rožnatog sloja epitela jednjaka nakon intragastričke primjene prikazana je grafičkim prikazima 7 i 8.

Intraperitonealna primjena

Nakon ovog načina primjene ispitivanog preparata najdeblji je rožnati sloj izmjeren u životinja tretiranih mikrogramskom koncentracijom pentadekapeptida BPC 157, no bez statistički signifikantne razlike u odnosu na kontrolnu, ili na skupinu životinja tretiranih nanogramskom koncentracijom. Izmjerene vrijednosti i u distalnom i u proksimalnom dijelu jednjaka bile su slične. Statistička analiza debljine epitela rožnatog sloja jednjaka nakon aplikacije ispitivanog preparata intraperitonealnim putem prikazana je grafičkim prikazima 9 i 10.

Gušterača

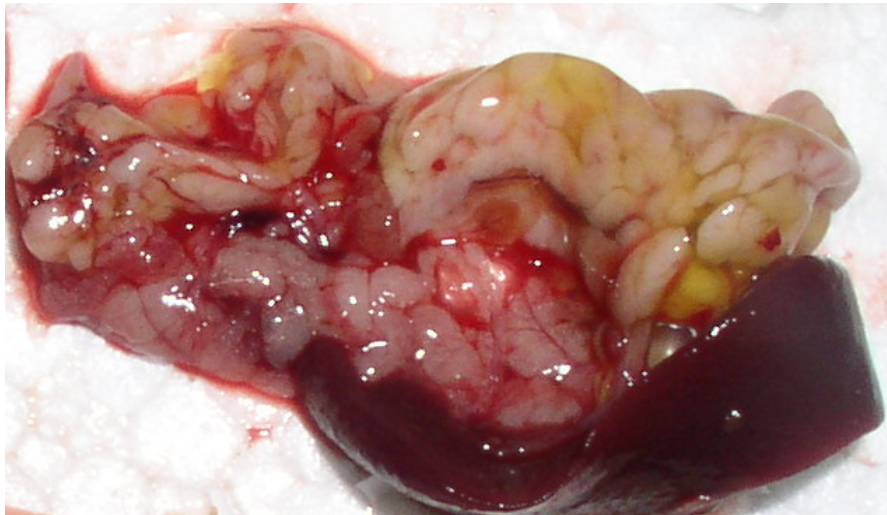
Makroskopski izgled gušterače ocijenjen je na temelju gore navedenog sustava bodovanja, prikazan je na slikama 11, 12, 13 i 14.



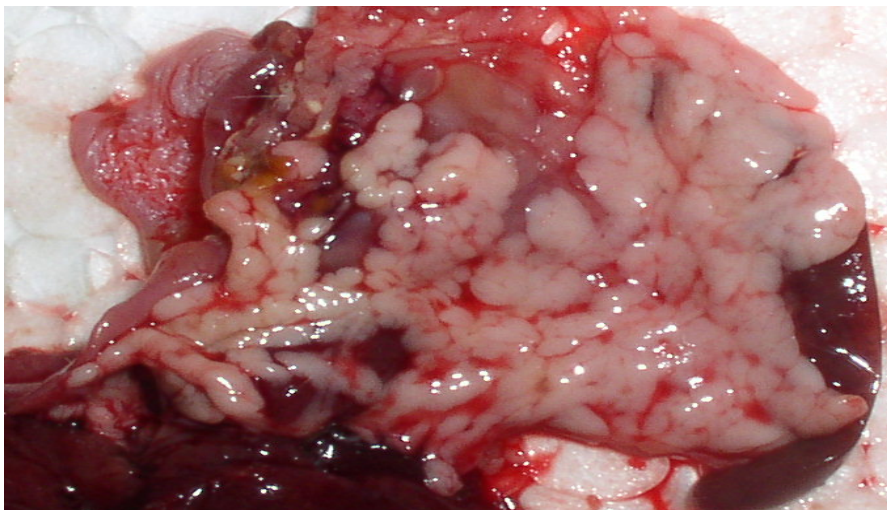
Slika 11. 1. stupanj oštećenja - pojedinačne zone nekroze ili hemoragije promjera < 1mm.



Slika 12. 2. stupanj oštećenja- zone nekroze ili hemoragije promjera > 3 mm.



Slika 13. 3. stupanj oštećenja- konfluirajuće zone nekroze ili hemoragije promjera >6 mm



Slika 14. 4. stupanj oštećenja- difuzna nekroza ili hemoragija pankreasa.

Makroskopski opis pankreasa s obzirom na način primjene i koncentraciju preparata

Intragastrička primjena pentadekapeptida BPC 157

Skupina ug- u životinja kontrolne skupine prosječna ocjena makroskopskog opisa iznosila je 3.2 (raspon 2- 4), a u tretiranih životinja 2.5 (raspon 1- 4).

Skupina ng- nakon tretiranja životinja nanogramskom koncentracijom pentadekapeptida BPC 157 intragastričkom aplikacijom, nešto su bolji rezultati zabilježeni u životinja kontrolne skupine, prosječne ocjene 3.2 (raspon 2- 4), za razliku od tretiranih životinja, u kojih je zabilježena prosječna ocjena 3.4 (raspon 2- 4).

Statistička obrada makromorfoloških promjena pankreasa nakon intragastričke primjene opisana je u tablici 2.

Intraperitonealna primjena pentadekapeptida BPC 157

Skupina ug- makroskopski vidljivo oštećenje tkiva pankreasa bilo je znatno izraženije u životinja kontrolne skupine, i to prosječne ocjene 3.2 (raspon 2- 4). U tretiranih životinja, edem pankreasa, te zone hemoragije i steatonekroze mezenterija tankog crijeva i velikog omentuma bile su slabije izražene, a prosječna ocjena iznosila je 2.1 (raspon 1- 3).

Skupina ng- i nakon ovakve primjene rezultati u tretiranih životinja bili su bolji, iako slabiji od rezultata u životinja tretiranih na isti način mikrogramskom koncentracijom, a prosječna je ocjena makroskopskog opisa iznosila 2.5 (raspon 1- 4). Prosječna ocjena rezultata kontrolne skupine iznosila je 3.2 (raspon 2- 4).

Statistička obrada makromorfoloških promjena pankreasa nakon intraperitonealne primjene opisana je u tablici 3.

Mikroskopska analiza pankreasa s obzirom na način primjene i koncentraciju preparata

Mikroskopska slika nastaloga akutnog pankreatitisa ocijenjena je temelju gore navedenog sustava bodovanja, a opažene promjene izražene su tabelarno (vidi „Rezultati statističke analize“). Analizirani su edem, nekroza, granulocitna i mononuklearna infiltracija.

Učinak pentadekapeptida BPC 157 na edem pankreasa

Intragastrička primjena

Skupina ug - edem tkiva pankreasa bio je izraženiji u životinja kontrolne skupine, prosječna ocjene 2.5 (raspon 2- 3), dok je u tretiranih životinja slabije izražen, a prosječna ocjena iznosi 2.0 (raspon 1- 3).

Skupina ng - edem je bio izraženiji u životinja tretirane skupine, prosječne ocjene 2.6 (raspon 2- 3), nego u životinja kontrolne skupine, prosječne ocjene 2.5 (raspon 2- 3).

Intraperitonealna primjena

Skupina ug - izraziti interacinarni i periferni edem tkiva pankreasa verificiran je u svih životinja kontrolne skupine, prosječne ocjene 2.8 (raspon 2- 3). U tretiranih životinja edem je bio znatno manje izražen, prosječne ocjene 1.6 (raspon 1- 3).

Skupina ng- edem tkiva pankreasa bio je nešto izraženiji u životinja kontrolne skupine, prosječne ocjene 2.8 (raspon 2- 3), nego u tretiranih životinja, prosječne ocjene 2.0 (raspon 1- 3).

Učinak BPC 157 na nekrozu pankreasa

Intragastrička primjena

Skupina ug- u ovoj skupini nekrotične su promjene bile sličnog intenziteta u životinja kontrolne skupine, prosječne ocjene 2.5 (raspon 2- 3), dok su slabije bile izražene u tretiranih životinja, prosječne ocjene 1.9 (raspon 1- 3).

Skupina ng- nekrotične promjene bile su podjednako izražene u obje skupine životinja, prosječne ocjene 2.7 (raspon 2- 3) u skupini tretiranih, te prosječne ocjene 2.5 (raspon 2- 3) u kontrolne skupine.

Intraperitonealna primjena

Skupina ug- u životinja kontrolne skupine redovito prevladavaju brojna i velika područja nekroze, prosječne ocjene 2.8 (raspon 2- 3), dok su u tretiranih životinja nekrotične promjene izražene u znatno manjem broju i veličini, prosječne ocjene 1.5 (raspon 1- 3).

Skupina ng- nekrotične promjene bile su nešto izraženije u životinja kontrolne skupine, prosječne ocjene 2.8 (raspon 2- 3), dok je njihova prosječna ocjena u tretiranih životinja iznosila 2.6 (raspon 2- 3).

Učinak BPC 157 na infiltraciju granulocita

Intragastrička primjena

Skupina ug- granulocitna infiltracija u tretiranih životinja bila je podjednaka onoj u životinja tretiranih intraperitonealnim putem, prosječne ocjene 1.8 (raspon 1- 3), no bila je znatno manja nego u životinja kontrolne skupine, prosječne ocjene 2.5 (raspon 2- 3).

Skupina ng- infiltracija granulocitima bila je podjednako izražena u obje skupine životinja, no nešto jače izraženosti u kontrolne, prosječne ocjene 2.5 (raspon 2- 3), od one u tretirane skupine, prosječne ocjene 2.3 (raspon 1- 3).

Intraperitonealna primjena

Skupina ug- u životinja kontrolne skupine, infiltracija granulocitima kao znak izražene akutne upale bila je znatno izraženija u životinja kontrolne skupine, prosječne ocjene 2.2 (raspon 2- 3). S druge strane, u tretiranih životinja infiltracija granulocitima bila je znatno manje izražena, prosječne ocjene 1.7 (raspon 1- 3).

Skupina ng- infiltracija granulocitima bila je jače izražena u životinja tretirane skupine, prosječne ocjene 2.4 (raspon 2- 3), od one u kontrolnoj skupini životinja, prosječne ocjene 2.2 (raspon 2-3).

Učinak BPC 157 na infiltraciju mononuklearima

Intragastrička primjena

Skupina ug -u ovoj je skupini mononuklearna infiltracija pankreasa također bila podjednaka u životinja tretirane skupine, prosječne ocjene 0.8 (raspon 0- 1), onoj u kontrolne skupine, prosječne ocjene 0.9 (raspon 0- 2).

Skupina ng - mononuklearna infiltracija bila je podjednaka u tretiranoj skupini životinja, prosječne ocjene 0.6 (raspon 0- 2), onoj u kontrolne skupine, prosječne ocjene 0.9 (raspon 0- 2).

Intraperitonealna primjena

Skupina ug - infiltracija mononuklearima nakon 24 sata bila je podjednaka u tretiranih životinja, prosječne ocjene 0.9 (raspon 0- 2), kao i u životinja kontrolne skupine, prosječne ocjene 0.7 (raspon 0- 2).

Skupina ng - mononuklearna infiltracija bila je izraženija u životinja tretirane skupine, prosječne ocjene 1.1 (raspon 0- 2), nego kontrolne skupine, prosječne ocjene 0.7 (raspon 0- 2).

Statistička analiza rezultata mikroskopskih promjena akutnog pankreatitisa nakon intragastričke primjene prikazana je u tablici 4, a nakon intraperitonealne primjene u tablici 5.

4. Rezultati biokemijske evaluacije (biokemijska analiza akutnog pankreatitisa)

Biokemijska evaluacija akutnog pankreatitisa provedena je na temelju kriterija upisanih u „Metode“, a kao dijagnostički kriterij akutnog pankreatitisa u obzir su uzeti trostruki porasti normalnih serumskih vrijednosti koncentracije oba enzima (amilaza, lipaza). Prema navedenome kriteriju, u svih su ispitivanih skupina životinja izmjerene vrijednosti oba enzima, koje ukazuju na akutni pankreatitis. Nakon intragastričke primjene pentadekapeptida BPC 157, bilo u mikrogramsnoj, bilo u nanogramsnoj koncentraciji, serumska koncentracija amilaza bila je signifikantno niža u životinja kontrolne skupine. Nakon intraperitonealne primjene ispitivanog preparata prosječna vrijednost serumske koncentracije amilaza bila je signifikantno niža u tretiranih životinja, bez obzira na koncentraciju preparata. Prosječna serumska koncentracija lipaza, bez obzira na koncentraciju ili na način primjene, bila je signifikantno niža u tretiranih životinja. Rezultati su prikazani tabelarno u tablicama 6 i 7 (vidi „Rezultati statističke analize“).

Biokemijska analiza akutnog pankreatitisa s obzirom na način primjene i koncentraciju preparata

Učinak BPC 157 na serumsku koncentraciju amilaza

Intragastrička primjena

Nakon podvezivanja zajedničkoga bilijarnoga i pankreatičnog voda neposredno ispred otvaranja u duodenum zamijećen je porast vrijednosti amilaza i u tretiranih kao i u životinja kontrolne skupine.

Skupina ug - u ovoj skupini životinja niža vrijednost koncentracije amilaza u serumu izmjerena je u životinja kontrolne skupine, prosječne vrijednosti 7486.5 U/l (raspon 2027-10312), dok je u tretiranih životinja prosječna vrijednost iznosila 8347.6 U/l (raspon 4823-11663).

Skupina ng - u ovoj skupini viša je prosječna vrijednost serumske koncentracije amilaza izmjerena u tretiranih životinja, a prosječna vrijednost iznosila je 8284.2 U/l (raspon 5121-11114), za razliku od životinja kontrolne skupine, u koje je prosječna vrijednost iznosila 7486.5 U/l (raspon 2027-10312).

Intraperitonealna primjena

Skupina ug - nakon mikrogramske aplikacije pentadekapeptida BPC 157 intraperitonealnim putem, prosječna vrijednost koncentracije amilaza u tretiranih životinja iznosila je 4551.4 U/l (raspon 1521-8874), dok je u životinja kontrolne skupine ta vrijednost bila viša, prosječne vrijednosti 8052,9 U/l (raspon 6021-11401).

Skupina ng - niža prosječna vrijednost serumske koncentracije amilaza izmjerena je u tretiranih životinja, prosječne vrijednosti 7103.8 U/l (raspon 2887-12478), dok je njihova prosječna vrijednost u skupine kontrolnih životinja iznosila 8052,9 U/l (raspon 6021-11401).

Učinak BPC 157 na serumsku koncentraciju lipaza

Intragastrička primjena

Skupina ug - nakon intragastričke primjene ispitivanog preparata u mikrogramskoj koncentraciji, niže su vrijednosti izmjerene u tretiranih životinja, prosječne vrijednosti 350.7 U/l (raspon 274-694), za razliku od prosječne vrijednosti od 427 U/l (raspon 155-672), u životinja kontrolne skupine.

Skupina ng - u ovoj je skupini serumska vrijednost lipaza bila viša u životinja kontrolne skupine, prosječne vrijednosti 427 U/l (raspon 155- 672), dok je njena prosječna vrijednost u tretiranih životinja iznosila 416. 8 U/l (raspon 203- 768).

Intraperitonealna primjena

Skupina ug - u ovoj skupini životinja niže koncentracije lipaza u serumu izmjerene su u tretiranih životinja. Prosječna vrijednost iznosila je 295. 6 U/l (raspon 127- 519), dok je u životinja kontrolne skupine iznosila 500. 5 U/l (282- 697).

Skupina ng - u ovoj je skupini u tretiranih životinja prosječna vrijednost lipaza u serumu iznosila 386. 7 (raspon 212- 557) U/l, dok je u kontrolnoj skupini životinja iznosila 500. 5 U/l (282- 697).

Statistička analiza rezultata koncentracije amilaza i lipaza u serumu nakon intragastričke i intraperitonealne primjene prikazana je u tablicama 6 i 7.

5. Rezultati manometrijskog mjerenja (mjerenja tlaka DES)

Mjerenje tlaka DES provedeno je na način opisan u „Metode“. Opisanim načinom mjerenja, i nakon intragastričke i nakon intraperitonealne primjene pentadekapeptida BPC 157, kako u mikrogramskoj, tako i u nanogramskoj koncentraciji, izmjerene su signifikantno više vrijednosti tlakova DES u tretiranih životinja. Učinak se pokazao ovisnim o dozi preparata, tj. nakon oba načina primjene preparata prosječne, vrijednosti tlakova DES bile su više u životinja tretiranih mikrogramskom koncentracijom.

Utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na tlak DES s obzirom na način primjene i na koncentraciju preparata

Intragastrička primjena

Skupina ug - prosječna vrijednost u tretiranih životinja iznosila je 95.3 cm H₂O (raspon 86-104), kontrolne skupine 60.1 cm H₂O (raspon 53- 71).

Skupina ng - prosječna vrijednost u tretiranih životinja iznosila je 82.1 cm H₂O (raspon 76-88), a u životinja kontrolne skupine 60.1 cm H₂O (raspon 53- 71).

Intraperitonealna primjena

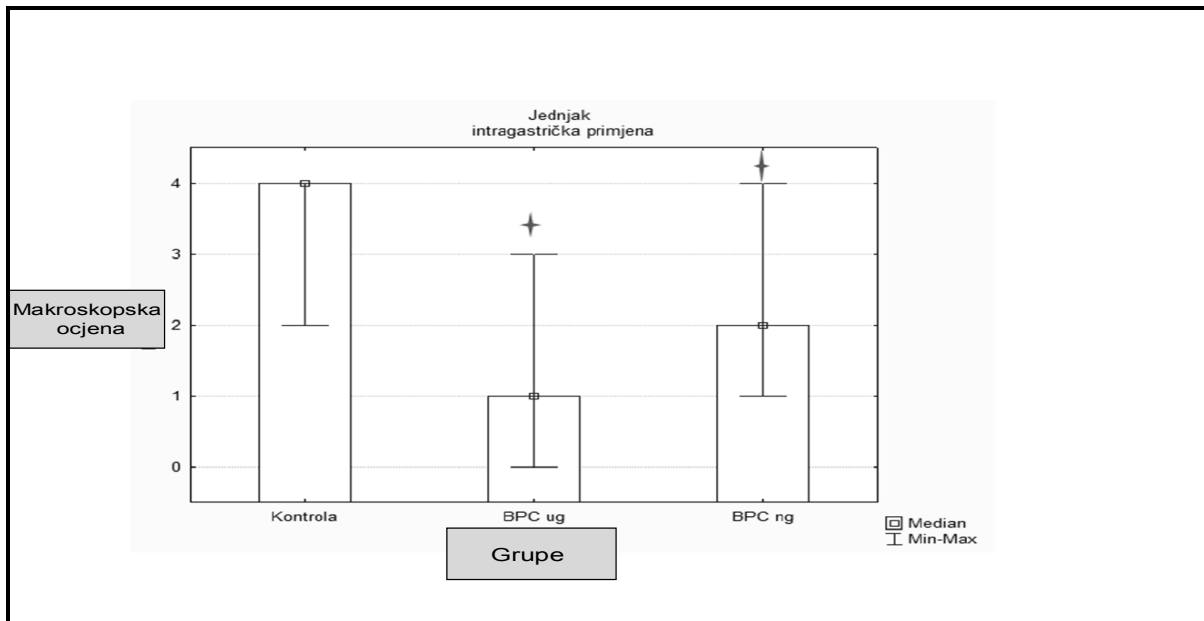
Skupina ug - prosječni tlak DES u tretiranih životinja iznosio je 114.8 cm H₂O (raspon 109-121) , a u kontrolnoj skupini 62. 6 cm H₂O (raspon 55- 70).

Skupina ng- prosječna vrijednost tlaka DES u tretiranih životinja iznosila je 97.2 cm H₂O (raspon 88- 108), a u životinja kontrolne skupine 62. 6 cm H₂O (raspon 55- 70).

Rezultati manometrijskih mjerenja tlakova DES prikazani su u grafičkim prikazima 11 i 12 (vidi „Rezultati statističke analize“)

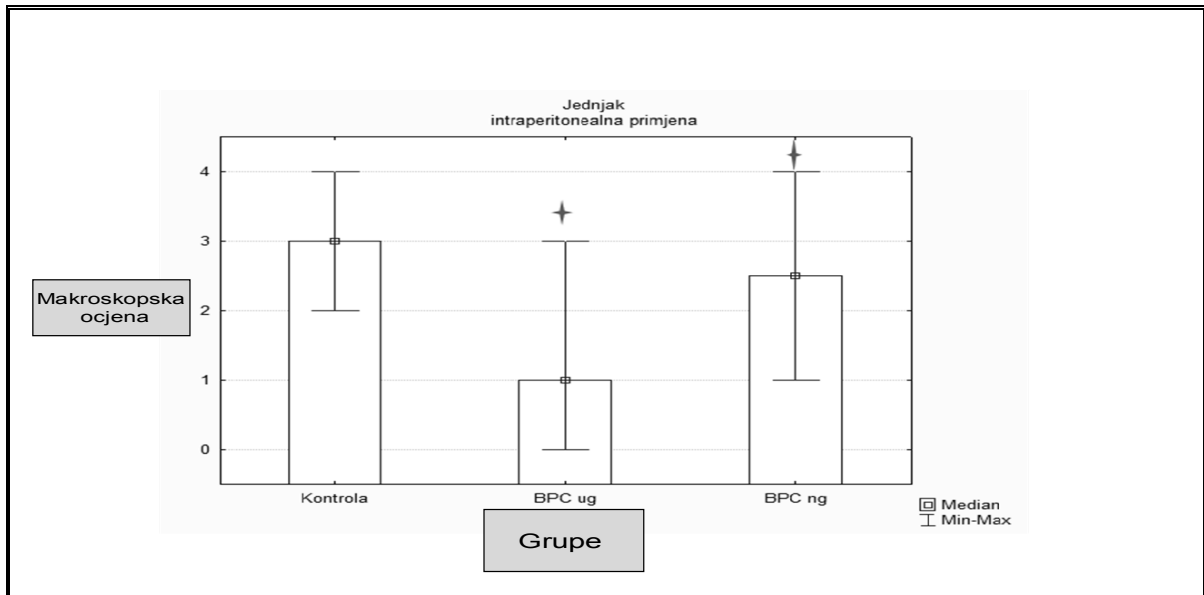
6. Rezultati statističke analize

Makroskopska analiza sluznice jednjaka



* $p < 0.05$

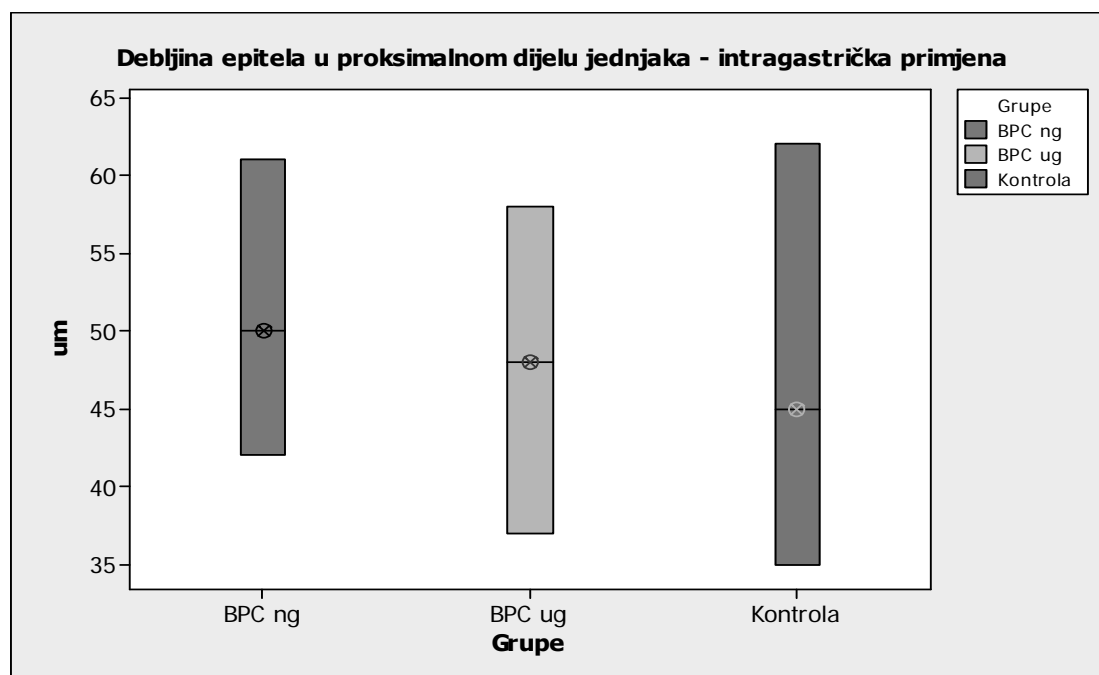
Grafički prikaz 1. Makroskopska ocjena sluznice jednjaka nakon intragastričke primjene pentadekapeptida BPC 157



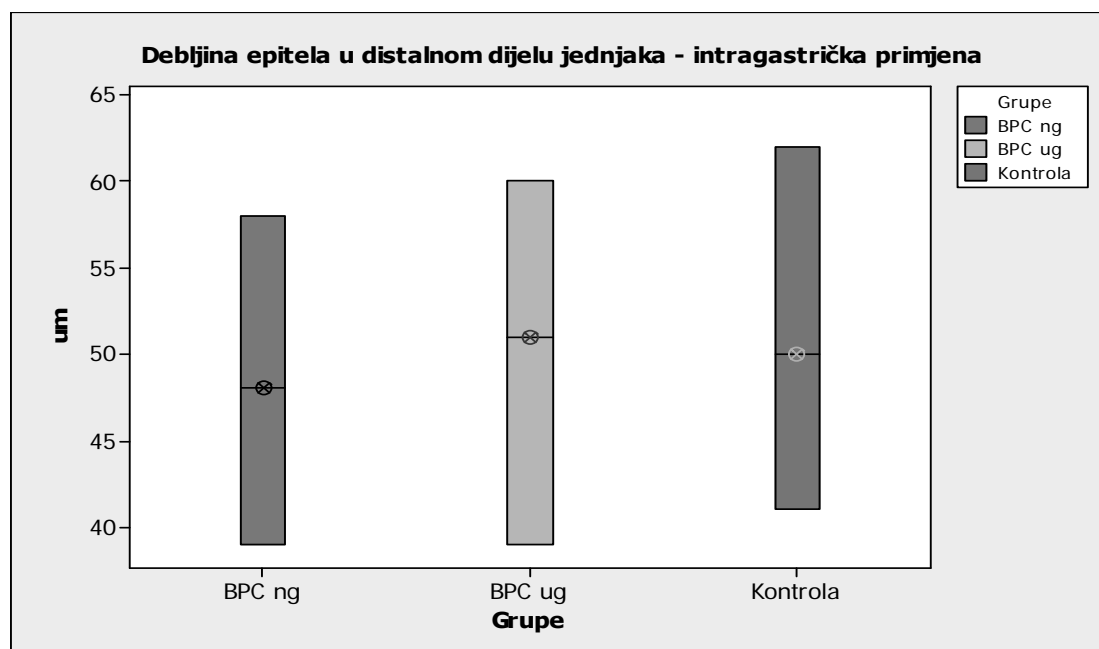
* $p < 0.05$

Grafički prikaz 2. Makroskopska ocjena stijenjke jednjaka nakon intraperitonealne primjene pentadekapeptida BPC 157

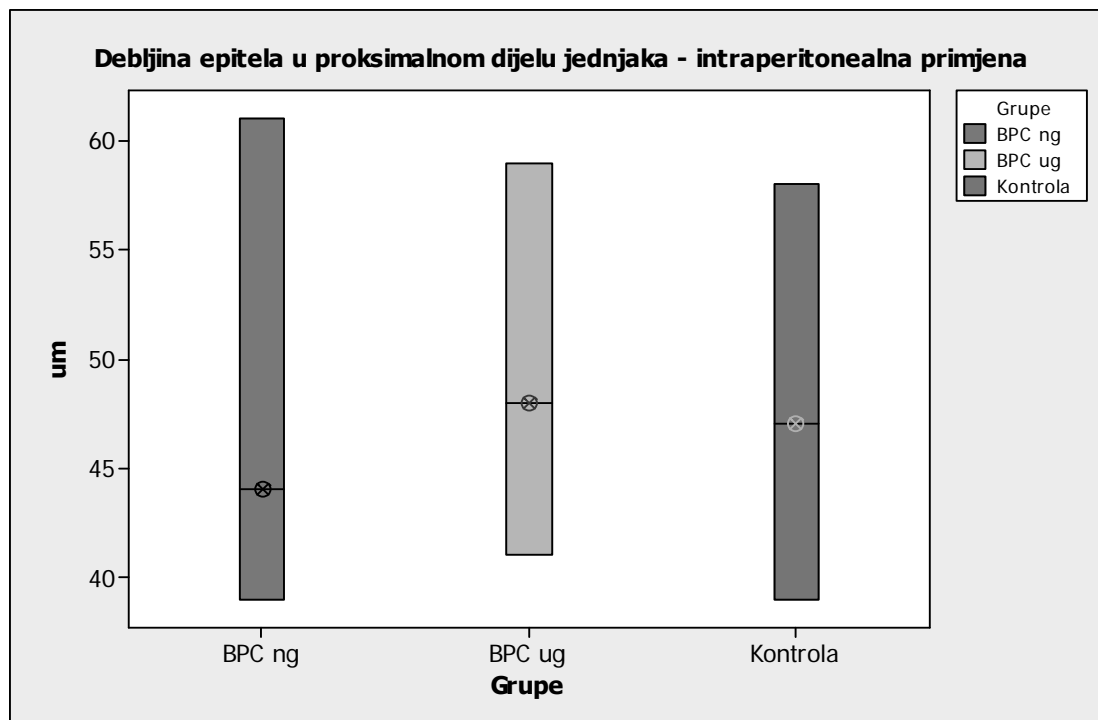
Mikroskopska analiza sluznice jednjaka



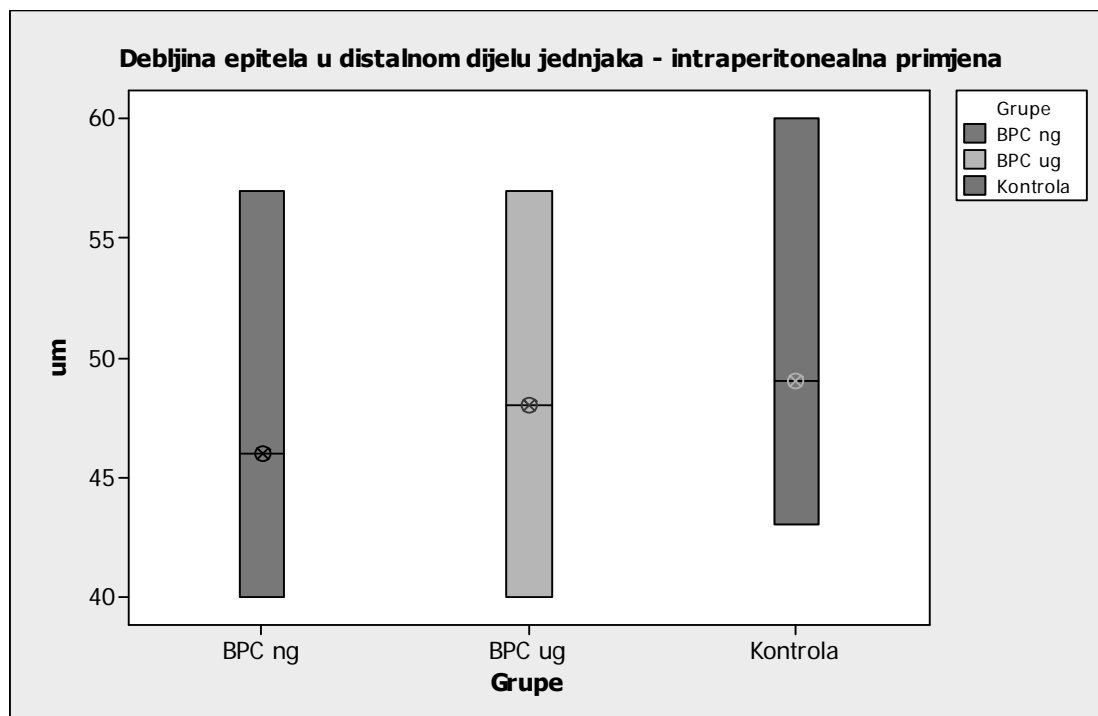
Grafički prikaz 3. Statistička analiza debljine epitela proksimalnog jednjaka nakon intragastričke primjene pentadekapeptida BPC 157



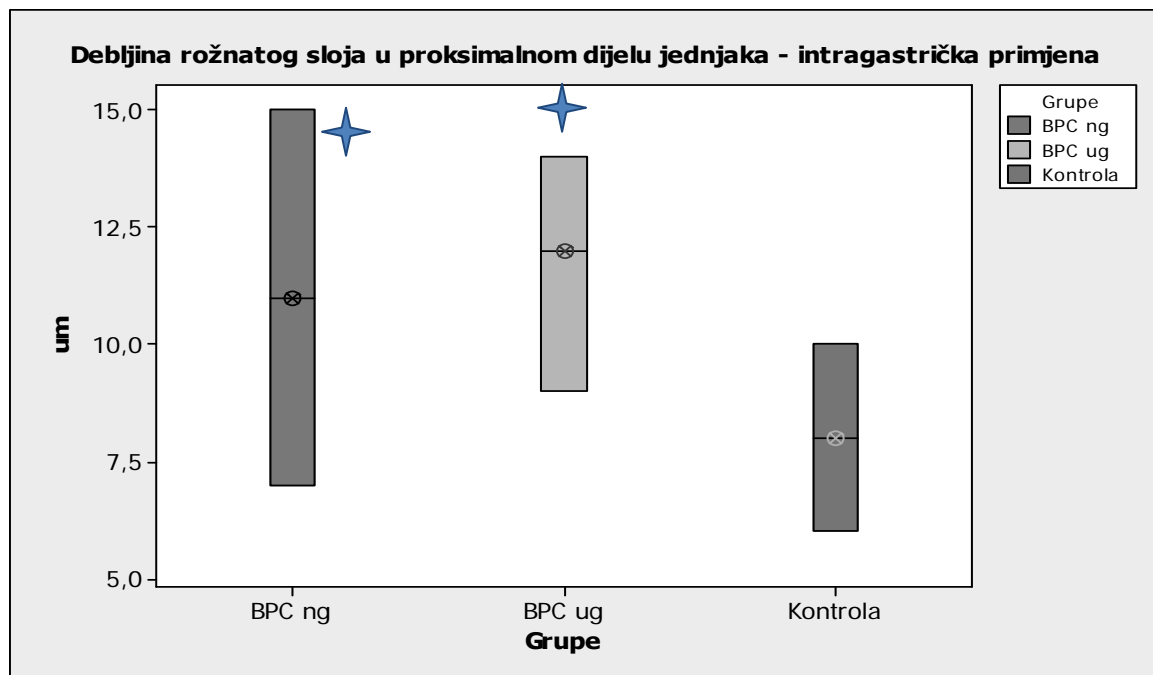
Grafički prikaz 4. Statistička analiza debljine epitela distalnog jednjaka nakon intragastričke primjene pentadekapeptida BPC 157



Grafički prikaz 5. Statistička analiza debljine epitela proksimalnog jednjaka nakon intraperitonealne primjene pentadekapeptida BPC 157

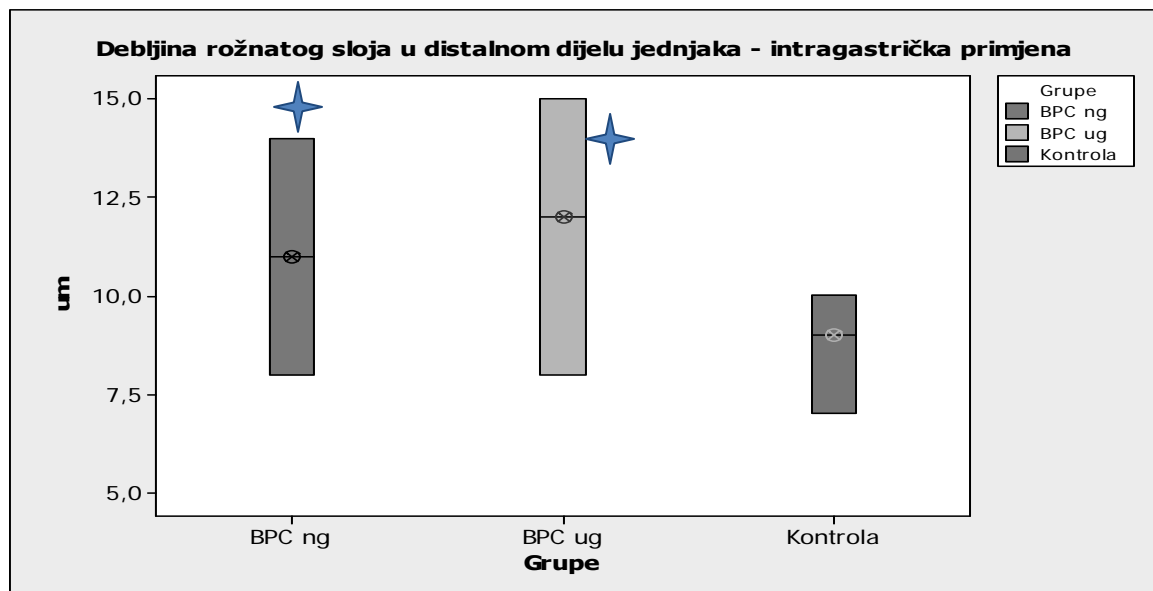


Grafički prikaz 6. Statistička analiza debljine epitela distalnog jednjaka nakon intraperitonealne primjene pentadekapeptida BPC 157



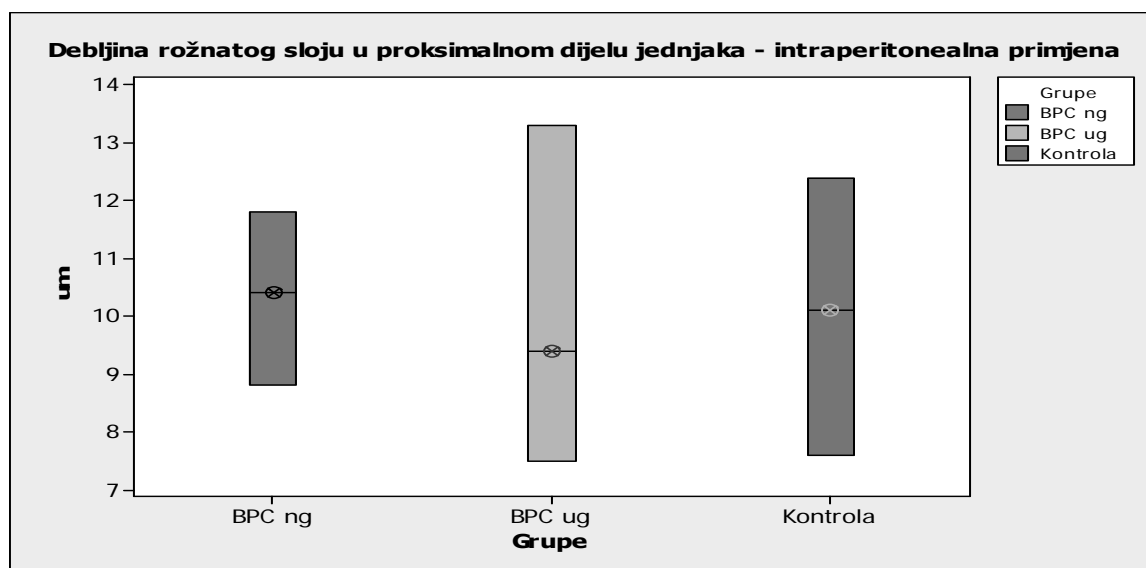
† p < 0.05

Grafički prikaz 7. Statistička analiza debljine rožnatog sloja epitela proksimalnog jednjaka nakon intragastričke primjene pentadekapeptida BPC 157

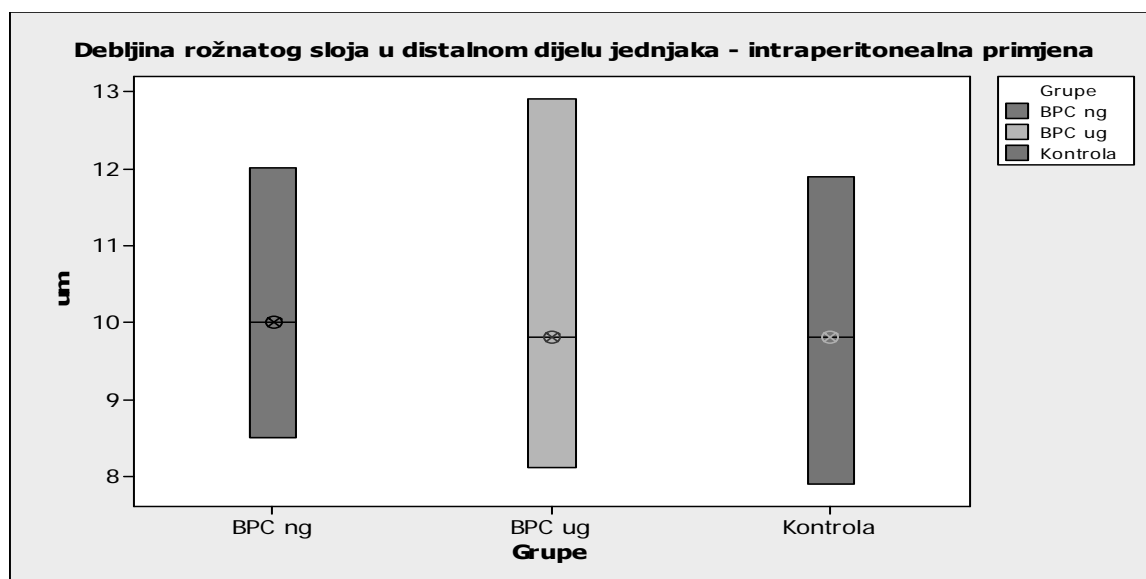


† p < 0.05

Grafički prikaz 8. Statistička analiza debljine rožnatog sloja epitela distalnog jednjaka nakon intragastričke primjene pentadekapeptida BPC 157

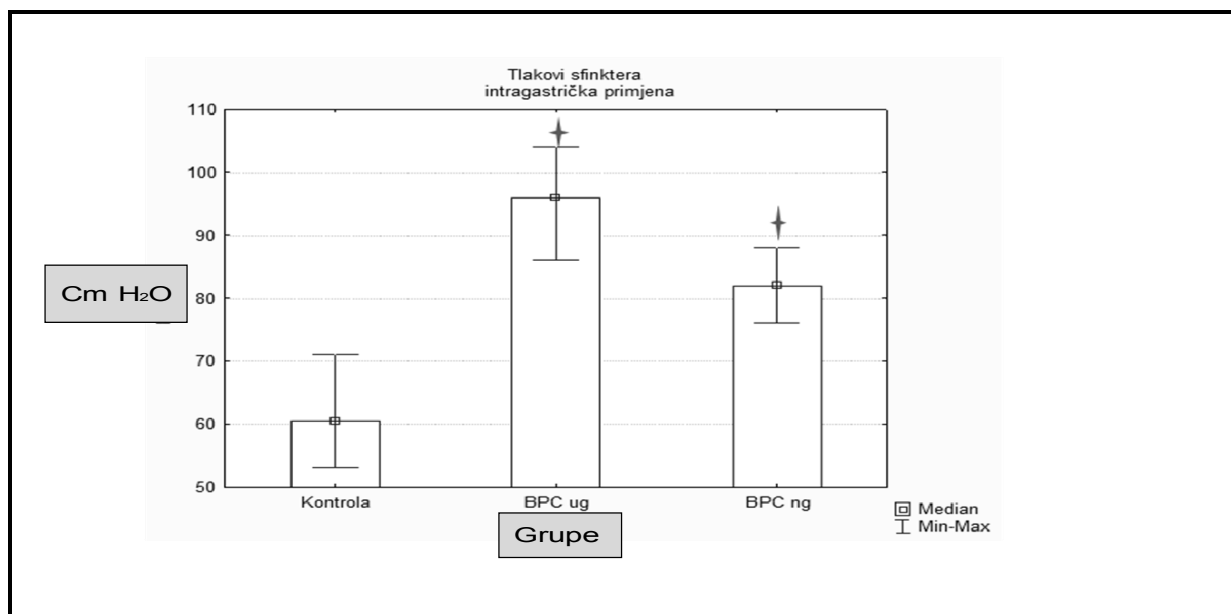


Grafički prikaz 9. Statistička analiza debljine rožnatog sloja epitela proksimalnog jednjaka nakon intraperitonealne primjene pentadekapeptida BPC 157

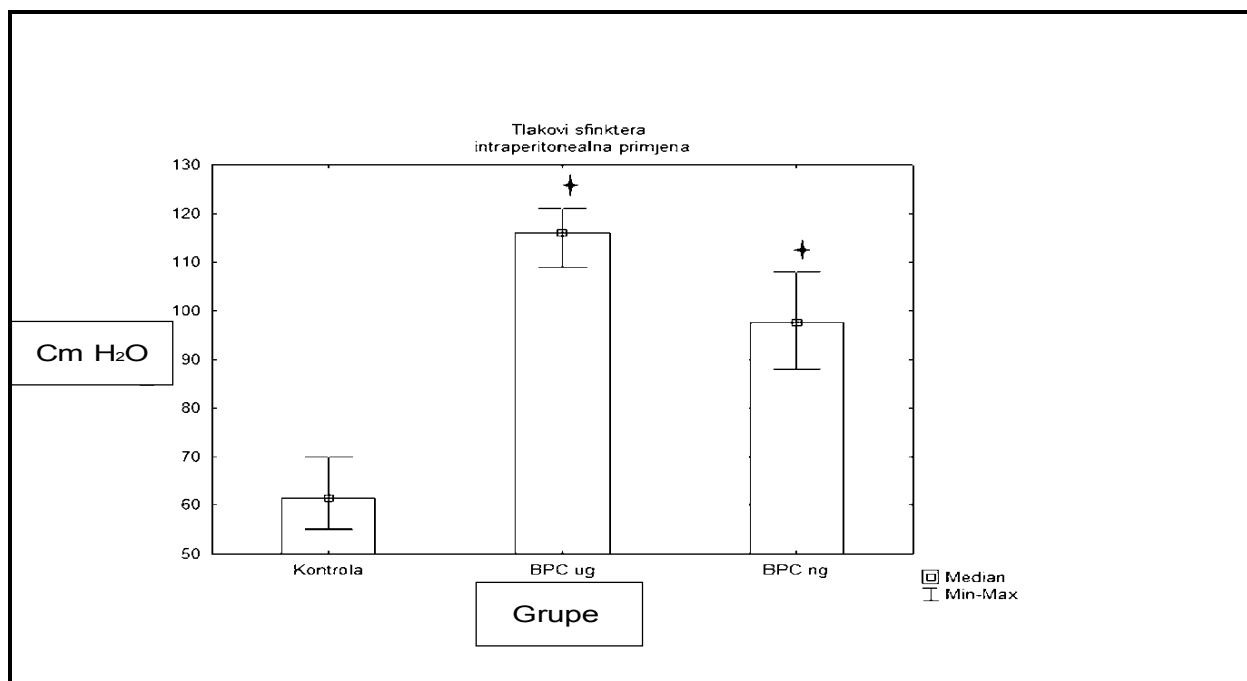


Grafički prikaz 10. Statistička analiza debljine rožnatog sloja epitela distalnog jednjaka nakon intraperitonealne primjene pentadekapeptida BPC 157

Statistička analiza manometrijskih mjerenja tlakova DES



Grafički prikaz 11. Statistička analiza utjecaja pentadekapeptida BPC 157 na tlak DES nakon intragastričke primjene



Grafički prikaz 12. Statistička analiza utjecaja pentadekapeptida BPC 157 na tlak DES nakon intraperitonealne primjene

Statistička analiza makroskopskih promjena pankreasa

Intragastrička primjena	Pankreas (0-4)
Kontrola	2/3/4
BPC μg	1/2/4*
BPC ng	2/3/4

* $p < 0.05$

Tablica 2. Statistička obrada makromorfoloških promjena pankreasa nakon intragastričke primjene

Intraperitonealna primjena	Pankreas (0-4)
Kontrola	2/3/4
BPC μg	1/2/3*
BPC ng	2/3/4

* $p < 0.05$

Tablica 3. Statistička obrada makromorfoloških promjena pankreasa nakon intraperitonealne primjene

Statistička analiza mikroskopskih promjena pankreasa

Intragastrička primjena	Edem (0-3)	Nekroza (0-3)	Granulociti (0-3)	Mononukleari (0-3)
Kontrola	2/3/3	2/3/3	2/2.5/3	0/1/2
BPC μg	1/2/3*	1/2/2*	1/2/3*	0/1/1
BPC ng	1/2/3*	2/2/3	1/2/3	0/1/1

* $p < 0.05$

Tablica 4. Statistička analiza rezultata mikroskopske analize akutnog pankreatitisa nakon intragastričke primjene

Intraperitonealna primjena	Edem (0-3)	Nekroza (0-3)	Granulociti (0-3)	Mononukleari 0-3)
Kontrola	2/3/3	2/3/3	2/2/3	0/1/2
BPC μg	1/2/2*	1/2/3*	1/2/3	0/1/1
BPC ng	1/2/3	2/2/3	2/2/3	0/1/2

* $p < 0.05$

Tablica 5. Statistička analiza rezultata patohistološke analize akutnog pankreatitisa nakon intraperitonealne primjene

Statistička analiza biokemijske analize akutnog pankreatitisa

Intragastrička primjena	Koncentracija amilaza u serumu U/l	Koncentracija lipaza u serumu U/l
Kontrola	7084 \pm 2660	427 \pm 160
BPC μg	8347 \pm 1804*	351 \pm 140*
BPC ng	8284 \pm 2542*	417 \pm 189*

$p < 0.05$

Tablica 6. Statistička analiza rezultata koncentracije amilaza i lipaza u serumu nakon intragastrične primjene

Intraperitonealna primjena	Koncentracija amilaza u serumu U/l	Koncentracija lipaza u serumu U/l
Kontrola	8052 \pm 1650	501 \pm 121
BPC μg	4551 \pm 2287*	296 \pm 135*
BPC ng	7103 \pm 3031*	387 \pm 95*

* $p < 0.05$

Tablica 7. Statistička analiza rezultata koncentracije amilaza i lipaza u serumu nakon intraperitonealne primjene

6. RASPRAVA

Dosadašnja istraživanja učinka pentadekapeptida BPC 157 na razvoj ezofagitisa rezultirala su vrlo povoljnim učincima na sprečavanje nastanka, ali i na liječenje ezofagitisa (151, 153, 154). Rezultati recentnih istraživanja upućuju na povoljan učinak na tonus piloričkoga i DES, odno-sno povišenja vrijednosti njihovog tlaka u uvjetima povišenoga intragastričnog tlaka, s tendencijom gastroezofagealnog refluksa (151, 153). Ovaj, simpatikomimetični učinak na sfinkterni mehanizam pilorusa i ezofagogastričnog prijelaza, mogao bi biti ključan u sprečavanju nastanka oštećenja sluznice i motiliteta jednjaka, kao uzroka duodenogastroezofagealnog refluksa.

U ovome istraživanju ispitivan je učinak pentadekapeptida BPC 157 na tonus DES i jednjak u uvjetima primarne insuficijencije piloričkog sfinketra, sekundarne insuficijencije DES i akutnog pankreatitisa. Indukcijom akutnog pankreatitisa dodatno je pogoršano opće stanje organizma u hemodinamskom, respiratornom, metaboličkom i imunološkom smislu (122). Podvezivanje samoga glavnoga žučnog voda dovelo je do pada tlaka donjega ezofagealnog sfinktera. S druge strane, primjena pentadekapeptida BPC 157 pokazala je povoljan učinak, u smislu povećanja tlaka donjega ezofagealnog sfinktera u ranom tijeku bolesti. To povećanje tlaka dovoljno je da kompenzira povišeni intragastrički tlak uzrokovan disfunkcijom piloričkog sfinktera. Brzi utjecaj pentadekapeptida BPC 157 opisan je i u ranijim istraživanjima (153, 154, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 178).

Poznat je utjecaj pentadekapeptida na tlak piloričkoga i donjega ezofagealnog sfinktera u životinja koje dulje vrijeme konstantno imaju niže vrijednosti tlakova. Naime, nakon intragastrične primjene pentadekapeptida BPC 157 dolazi do povišenja vrijednosti tlakova oba sfinktera (153).

Učinak ovog peptida na sprečavanje regurgitacije duodenogastričnog sadržaja u jednjak mogao bi biti od praktičnog značaja (151, 153, 170). Također, značajno je i antiulcerogeno djelovanje ovog peptida (161, 162, 163, 164, 165). Intragastrički primijenjen učinkovit je nakon nekoliko minuta u sprečavanju nastanka ozljeda sluznice želuca uzrokovanih etanolom (161, 179). U isto vrijeme dolazi i do oporavka AMP- ADP- ATP sustava u sluznici želuca (179). Djelotvornost pentadekapeptida BPC 157 postiže se primjenom samog peptida, bez primjene nosača (carrier) (153, 154, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 178). Pentadekapeptid BPC 157 također kompenzira funkciju žlijezda slinovnica i omogućava integritet gastrointestinalnog sustava nakon sijaloadenektomije (174). Kao što je ranije opisano, nakon sistemske primjene ovaj peptid u roku od 24 sata omogućava potpuni oporavak funkcije oba sfinktera nakon stanja potpune sfinkterne insuficijencije (153). Pored toga, važna su i do sada poznata peptidergička i citoprotektivna svojstva pentadekapeptida BPC 157 (153, 154, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 178).

Za razliku od ispitivanog preparata, nestabilni peptidi, poput epidermalnog čimbenika rasta (EGF- epidermal growth factor) (180), za svoju primjenu i djelovanje zahtijevaju primjenu nosača (carrier). Epidermalni čimbenik rasta pokazuje dobre učinke u protekciji sluznice jednjaka, no primjena s nosačem donosi niz kontroverzi u svezi metodologije i djelovanja (181, 182).

Citoprotektivna svojstva pentadekapeptida BPC 157 obilježena su neovisnošću u djelovanju želučane kiseline, no ovisna su o protekciji endotela (183, 184) i o suficijenciji sfinkternih mehanizama ezofagogastričnog prijelaza i pilorusa (153). Utjecaj ovog peptida na sprečavanje nastanka ili regresiju akutnih lezija sluznice uzrokovanih alkoholom, indometacinom, aspirinom (161, 162, 163, 179, 185, 186), octenom kiselinom (169, 187) ili kroničnom konzumacijom alkohola (188) mogao bi biti povezan s djelovanjem endogenog prostaglandina (PG) na ezofagitis. Poznato je da PGE₂ relaksira DES, dok ga PGF₂ kontrahira (83).

Poznat je i utjecaj pentadekapeptida BPC 157 u smislu poboljšanja cijeljenja ulkusa želuca, što je vjerojatno posljedica bolje prokrvljenosti sluznice želuca na rubovima ulkusnih promjena. Međutim, primjenom indometacina koji inhibira sintezu PGE₂, istovremeno s pentadekapeptidom BPC 157, dolazi do gotovo potpune regresije ovih povoljnih učinaka. Rezultati budućih istraživanja trebali bi dati odgovor o potencijalnom učinku pentadekapeptida BPC 157 na sintezu PGE₂ u sluznici jednjaka (187).

S druge strane, kako je ranije objavljeno (151, 153), primjena ovog peptida dovodi do sprečavanja duodenogastroezofagealnog refluksa, koji može uzrokovati i teža oštećenja od kiseloga gastroezofagealnog refluksa (189). Ovi učinci bi prema tome mogli spriječiti nastajanje ezofagitisa nakon formiranja ezofagojejunalne anastomoze (154). Također, primjena pentadekapeptida BPC 157 u pitkoj vodi tijekom mjesec dana, u štakora dovodi do potpunog prestanka bilijarnog refluksa, čak i kod potpunog gubitka funkcije sfinktera (154).

Kao što je ranije objavljeno, u štakora s ezofagitisom ti povoljni učinci pentadekapeptida BPC 157 su dugotrajni te su jednakog intenziteta nakon tjedan dana ili nakon jedne godine (151, 153). Uporaba ranitidina, potentnog histaminskog H₂ blokatora nije se pokazala učinkovitom u sprečavanju nastanka ezofagitisa, niti je pokazala bilo kakav utjecaj na tlak piloričkoga ili donjega ezofagealnog sfinktera (153). Štoviše, primjena ovog peptida pokazuje različit utjecaj na tlak piloričkog sfinkera ovisno o postojanju ezofagitisa. Dok primjena pentadekapeptida u zdravih životinja dovodi do povišenja tlaka donjeg ezofagealnog sfinktera i sniženja tlaka piloričnog sfinktera, u životinja s već razvijenim ezofagitisom, primjena ovog peptida dovodi do povišenja tlaka oba sfinktera. Dakle, ovaj peptid omogućuje izoperistaltičnu funkciju sfinktera u zdravih, te antirefluksnu funkciju sfinktera u životinja s ezofagitisom (153), što upućuje u mogućnost održavanja fiziološkog stanja, ali i prevenciju patološkoga. Rezultati makroskopske i mikroskopske patohistološke analize potvrđuju

manometrijske rezultate, odnosno djelovanje pentadekapeptida BPC 157 na održanje tlaka sfinktera, a time i duodenogastroezofagealnog refluksa s posljedičnim nastankom ezofagitisa. Kao što je od ranije poznato, utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na sprečavanje nastanka, ali i na liječenje ulkusa (153, 154, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 178), mogao bi biti objašnjen upravo sniženjem tlaka piloričkog sfinktera u zdravih životinja. Ukoliko postoji oštećenje funkcije piloričkog sfinktera zbog duodenogastričkog refluksa, dolazi do povišenja intragastričkog tlaka i pretpostavljene sekundarne insuficijencije donjega ezofagealnog sfinktera. Povišenje intragastričkog tlaka također dovodi i do distenzije želuca te do oštećenja sluznice i vaskularizacije, kao i do oštećenja mišića, uključujući i prstenaste mišiće. Gubitak funkcije želuca uzrokuje stazu želučanog sadržaja, što pogoduje nastanku gastroezofagealnog refluksa. Intragastrička primjena pentadekapeptida BPC 157 u distendirani želudac djeluje preventivno na nastanak oštećenja stijenke duodenuma, želuca i jednjaka uzrokovanih alkoholom. Razlog tome vjerojatno leži u očuvanju integriteta i funkcije krvnih žila stijenke želuca (190).

Ovaj učinak na krvne žile mogao bi biti i razlogom održanja tlaka sfinktera u svrhu sprečavanja gastroezofagealnog refluksa (151, 153). Iz svega navedenog može se zaključiti da primjena pentadekapeptida BPC 157 održava integritet i funkciju sluznice, vaskularizacije, motiliteta, te sfinkternih mehanizama (izoperistaltički i antirefluksni mehanizam). Učinak pentadekapeptida BPC 157 pokazuje da bi ovaj peptid mogao biti vrlo učinkovito sredstvo za istraživanje prevencije, kao i za liječenje raznolikih akutnih i kroničnih patoloških stanja koja dovode do oštećenja sluznice ili motiliteta probavnog trakta. Dok primjena ovog peptida u distendiranom želucu dovodi do očuvanja vaskularne opskrbe želuca, cisteamin uzrokuje usporenje motiliteta i pražnjenja želuca (191). Međutim, primjenom pentadekapeptida BPC 157 dolazi do sprečavanja nastanka lezija duodenuma uzrokovanih cisteaminom (161).

Za razliku od ezofagitisa uzrokovanog intenzivnijim izlučivanjem želučane kiseline (192, 193), kod ezofagitisa uzrokovanog gastrektomijom (154, 156) ili potpunom, piloričkom i ezofagogastričkom sfinkternom insuficijencijom, ranitidin nije djelotvoran u prevenciji ili liječenju ezofagitisa (153). Primjena pentadekapeptida BPC 157 pokazuje prednosti u odnosu na famotidin u sprečavanju nastanka lezija želuca nakon ligature pilorusa (169). Međutim, u istih životinja ovaj peptid ne dovodi do redukcije sekrecije želučanog soka (173, 187, 194). Dakle, ovi su učinci rezultat nekog neseekretornog mehanizma, a osim jednjaka (151, 153, 154), omogućuju i protekciju želuca (161, 162, 163, 164, 165, 169, 178, 185, 186), duodenuma (161, 173) i debelog crijeva (183, 195, 196, 197).

Citoprotektivna uloga pentadekapeptida BPC 157 u održavanju funkcije sfinktera te u sprečavanju nastanka ezofagitisa, čak i u stanjima piloričke, ali i potpune sfinkterne insuficijencije želuca, potpomognuta je interakcijom ovog peptida s ostalim sustavima koji utječu na sfinkternu (151, 153, 163) i citoprotektivnu funkciju (198). Pentadekapeptid BPC 157 mogao bi imati utjecaja na uobičajene poznate i prihvaćene neuralne puteve koji kontroliraju relaksaciju donjega ezofagealnog sfinktera. To se odnosi na tzv. neadrenergičku i nekolinergičku inervaciju (NANC, nonadrenergic, non-cholinergic), u kojoj važnu ulogu ima dušični oksid (NO) (199). Taj peptid također utječe i na crijevne sfinkterne mišiće koji su inervirani peptidergičkim živcima (200). Primjerice, stvaranje dušičnog oksida nakon aplikacije 100 mM L-arginina i 100 mM pentadekapeptida BPC 157 dovodi do homogeniziranja tekućeg sloja iznad sluznice želuca štakora (163, 201), što govori u prilog navedenim učincima. Na temelju ovog učinka na sluznicu želuca, koji se bazira na mogućem utjecaju na sintetazu dušičnog oksida (NOS, nitric oxide synthase) u želucu, ali i u drugim tkivima (202), pentadekapeptid BPC 157 također bi mogao imati i utjecaja na sluznicu i na donji ezofagealni sfinkter, što se temelji na do sada poznatim angiogenim učincima (203), protekciji endotela (161) i modulaciji agonista, ali i antagonista dušičnog oksida u različitim

vrsta (163, 188, 201). Kao što je poznato, ovaj peptid ima i protupalno djelovanje (185), što rezultira redukcijom infiltracije upalnih stanica jednjaka nakon formiranja ezofagojejunalne anastomoze (154), ali i redukcijom sinteze leukotriena B₄ (LT B₄), tromboksana B₂ (TX B₂) i mijeloperoksidaze (MPO) u serumu i tkivu (195). Svi ovi čimbenici mogli bi imati značajan učinak na aferentnu inervaciju (198). U istraživanjima s neurotoksinom kapsaicinom, pentadekapeptid utječe na oporavak somatosenzornih neurona u odraslih, ali i u novorođenih štakora (162). S druge strane, učinak ovog peptida može se, na temelju povoljnih učinaka na sprečavanje i liječenje ezofagitisa, usko povezati s utjecajem na inervaciju gastrointestinalnog trakta. Od ranije je poznato da periferna aplikacija pentadekapeptida BPC 157 (153), utječe na funkciju sfinktera preko serotoninskoga i dopaminskog sustava (204, 205).

Visoko specifična autoradiografska mjerenja, koristeći alfa- metil- L- triptofan ukazuju na to da pentadekapeptid BPC 157 u određenim regijama utječe na sintezu i funkciju neurotransmitora središnjega živčanog sustava, npr na sintezu 5-HT u crnoj tvari (substantia nigra) (204). Nadalje, pentadekapeptid BPC 157 djeluje preventivno i terapijski na katalepsiju zbog disfunkcije centralnoga dopaminskog sustava (204, 205). U jednakoj dozi, sprečava nastanak lezija gastrointestinalnog trakta, uzrokovanih haloperidolom (206), rezerpinom (207) i 1- metil- 4- fenil- 1,2,3,6- tetrahidropropiridinom (MTPT) (208).

Povoljan učinak pentadekapeptida BPC 157 na funkciju mišića (173) vrlo je važan za objašnjenje učinka tog peptida na ozljedu mišića ili na disfunkciju sfinktera. Sistemskom primjenom tog peptida nakon potpune transekcije četveroglavog mišića natkoljenice (musculus quadriceps femoris) dolazi do poboljšanja cijeljenja mišića. Ti su rezultati potvrđeni funkcionalnim, biomehaničkim, makroskopskim, patohistološkim i imunohistokemijskim metodama (168). Rani funkcionalni oporavak usporediv je s učinkom na pilorički i na donji ezofagealni sfinkter u ovome i u ostalim, recentnim istraživanjima (151, 153).

Inhibitori protonске pumpe i blokatori histaminskih H₂ receptora često se koriste u liječenju gastroezofagealne refluksne bolesti (GERB), međutim ni jedan niti drugi ne utječu na funkciju donjega ezofagealnog sfinktera (209, 210). U stanju dugotrajnog ezofagitisa koji nastaje duodenogastroezofagealnim refluksom uzrokovanim disfunkcijom piloričkoga (primarnom) i donjega ezofagealnog (sekundarnom) sfinktera, pentadekapeptid BPC 157 djeluje u profilaktičkom i terapijskom smislu. Također, nakon odstranjenja cjevčice iz piloričkog sfinktera dolazi i do oporavka funkcije samog sfinktera (151, 153). Ti učinci temelje se na povoljnom djelovanju ovog peptida na funkciju sfinktera, ali i na citoprotektivnom učinku, učinku na somatosenzorne neurone te učinku na sintezu i na djelovanje dušičnog oksida, dopamina i serotonina (162, 163, 198, 208).

U ovom istraživanju dokazan je i utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na razvoj ezofagitisa u stanju insuficijencije DES u ranom tijeku bolesti. Uz sfinkternu insuficijenciju, u istraživanju je induciran i akutni pankreatitis, u svrhu pogoršanja općeg stanja organizma, te štetnih hemodinamskih, metaboličkih, respiratornih i imunoloških promjena. Osim toga, pri provođenju istraživanja otkriveno je da nakon podvezivanja glavnoga žučnog voda, neposredno ispred otvaranja u duodenum, dolazi do pada tlaka DES, iako su pilorički i DES bili potpuno anatomske očuvani. Sva navedena stanja negativno utječu i na fiziološke mehanizme, koji su važni za procese reparacije, što rezultate čini znanstveno i praktično značajnima.

Utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na akutni pankreatitis vrlo je važan za rezultate ovog istraživanja. Ovaj eksperimentalni model akutnog pankreatitisa usko korelira s opstruktivskom genezom akutnog pankreatitisa u humanoј patologiji (211, 212). U ranijim istraživanjima dokazan je profilaktički i terapijski učinak pentadekapeptida BPC 157 na akutni pankreatitis uzrokovan podvezivanjem glavnoga žučnog voda, kao i pozitivan učinak na sprečavanje nastanka oštećenja želučane i duodenalne sluznice (158). Ovaj je učinak interesantan, budući

da je poznato da peptidi, općenito, nakon peroralne aplikacije većinom bivaju razgrađeni djelovanjem želučanog soka, a samim time i u vrlo maloj mjeri apsorbirani u sistemsku cirkulaciju (213). S druge strane, stabilnost pentadekapeptida BPC 157 u želučanom soku do sada je dokazana u više istraživanja. U navedenom istraživanju primijećene su i relativno niže, statistički nesignifikantne, serumske koncentracije amilaza u ranom tijeku bolesti, odnosno u prva 24 sata. Slična je dinamika serumske koncentracije amilaza primijećena i u ovom istraživanju, bilo da je riječ o peroralnoj (intragastričkoj) ili o intraperitonealnoj aplikaciji. Istraživanja sa sličnim rezultatima provedena su i ranije (214). Također, važno je napomenuti da do povišenja koncentracije amilaza dolazi i kod bilo kojega drugoga operacijskog zahvata u trbušnoj šupljini, što je posljedica oslobađanja amilaza iz sluznice tankog crijeva (215). Međutim, za razliku od ranijih istraživanja utjecaja pentadekapeptida BPC 157 na akutni pankreatitis, u ovom su istraživanju u skupini životinja tretiranih mikrogramskom koncentracijom pentadekapeptida BPC 157 dokazane signifikantno niže koncentracije lipaza u odnosu na kontrolnu skupinu, a poznato je da je za verifikaciju akutnog pankreatitisa vrijednost lipaza (višestruko) signifikantnija od vrijednosti amilaza (143). Također, vrijednosti lipaza bile su povišene i u svih ostalih životinja kontrolnih skupina, ali je i u svih tretiranih životinja njihova prosječna koncentracija bila trostruko viša od referentnih vrijednosti.

GX Cilj prevencije i liječenja akutnog pankreatitisa temelji se na sprečavanju acidosekretorne funkcije, citoprotekciji te u sprečavanju sinteze slobodnih radikala (216, 217). Međutim, iako se dugi niz godina provode različita istraživanja kako bi se otkrio agens koji bi mogao u potpunosti spriječiti nastanak akutnog pankreatitisa, dosadašnjim rezultatima nisu postignuti željeni ciljevi (211, 218, 219, 220, 221). Rezultati istraživanja djelovanja pentadekapeptida BPC 157 na akutni pankreatitis upućuju na to da bi ovaj peptid mogao biti djelotvoran, kako profilaktički, tako i terapijski (158).

Potrebno je istaknuti da su u životinja kontrolne skupine u patohistološkim preparatima bila prisutni intenzivna infiltracija granulocitima, edem i nekroza, uz kasniju infiltraciju mononuklearima, dok je u tretiranih životinja infiltracija granulocitima bila znatno manje izražena, uz raniju i intenzivniju infiltraciju mononuklearima, kao i uz slabije izražen edem te uz manje opsežnu nekrozu. Iako se istraživanja različitih čimbenika imunološkog odgovora koji određuju intenzitet akutnog pankreatitisa provode dugi niz godina (216, 217), konkretan mehanizam njegova nastanka još je uvijek nepoznat.

Neka istraživanja učinaka pentadekapeptida BPC 157 upućuju na ovaj peptid kao na mogući čimbenik modulacije imunološkog odgovora, u smislu supresije polimorfonuklearne, te progresije mononuklearne infiltracije (173). Međutim, točni mehanizmi antiinflamatornoga, antiedematoznoga i antikemotaksijskog djelovanja na neutrofile, također su nepoznati. Taj peptid također smanjuje serumsku i tkivnu koncentraciju leukotriena B4 (LT B4) i tromboksana B2 (TX B2) (195, 222). Ovaj učinak upućuje na supresiju akutnoga imunološkog odgovora. Snižena koncentracija MPO u upalnom tkivu u životinja tretiranih pentadekapeptidom BPC 157 mogla bi biti razlogom slabije neutrofilne infiltracije (158). Osim opisanih pozitivnih terapijskih učinaka u akutnim i subakutnim upalnim stanjima, slični su učinci također opisani i u nekim kroničnim upalnim stanjima (adjuvantni artritis) (173, 185).

Zajedno s ranije opisanim učincima ovog peptida na smanjenje intenziteta akutnoga upalnog odgovora koji dovodi do progresije akutnog pankreatitisa (edem, nekroza, granulocitna infiltracija), u tretiranih bi životinja sama upalna reakcija mogla biti usmjerena prema ranijoj sanaciji, na što upućuje pojava ranije i intenzivnije mononuklearne infiltracije. Ta je pojava opisana u samom pankreasu, ali i na pridruženim lezijama želuca i duodenuma nastalim u životinja s induciranim akutnim pankreatitisom podvezivanjem glavnog žučnog voda. Analogija prevencije i cijeljenja opisanih lezija stijenke želuca i duodenuma mogla bi biti

razlogom pozitivnih učinaka i na stijenku jednjaka u životinja s primarnom ili sekundarnom insuficijencijom donjega ezofagealnog sfinktera, opisanih u ranijim istraživanjima (151, 153), ali i u ovom istraživanju, u kojemu je osim sekundarne insuficijencije donjega ezofagealnog sfinktera induciran i akutni pankreatitis, što dodatno pogoršava kako lokalno, tako i opće stanje organizma, u smislu imunoloških, metaboličkih, hemodinamskih i respiratornih poremećaja, koji dovode do brojnih komplikacija, među kojima su i oštećenja stijenke probavnog trakta (122). Ranija i intenzivnija mononuklearna infiltracija u ranama štakora tretiranih pentadekapeptidom BPC 157 već je ranije opisana; u istome je istraživanju u tretiranih životinja opisana i pojačana sinteza fibrinogena i fibrina u ranama, kao znak progresije cijeljenja (223). S druge strane, dokazan je i učinak ovog peptida na neutrofile, u smislu sprečavanja adherencije u inflamiranom tkivu (195, 222).

Lokalna ishemija zbog oštećenja mikrocirkulacije pankreasa mogla bi biti ključan čimbenik koji dovodi do progresije akutnog pankreatitisa, od edematoznog do nekrotičnog oblika (216). Također, čini se, da bi pentadekapeptid BPC 157 mogao djelovati u smislu sprečavanja oštećenja mikrocirkulacije pankreasa. Ovaj bi se učinak također mogao objasniti vezano uz pozitivan učinak ovog peptida na lezije stijenke želuca i duodenuma, koji su ranije opisani (173), a poglavito kroz učinak na lezije uzrokovane djelovanjem etanola (161). U ovome je istraživanju, Monastral blue bojom, dokazan i protektivni učinak pentadekapeptida BPC 157 na endotel, a protekcija endotela je, kako se smatra, ključna za citoprotektivnu i organoprotektivnu aktivnost (184). U istraživanju utjecaja pentadekapeptida BPC 157 na cijeljenje lezija uzrokovanih etanolom, ovaj peptid pokazuje sličnost djelovanju neuropeptida Y (NPY) (161), koji ima vrlo značajnu ulogu u živčanom sustavu i gastrointestinalnom traktu. Ovakvi peptidi, koji imaju utjecaj na različite homeostatske mehanizme poznati su dugi niz godina. Ipak, u većine od njih mehanizmi djelovanja su vrlo slabo poznati (213, 224). Osim opisanih učinaka na sprečavanje oštećenja mikrocirkulacije, opisan je i povoljan učinak na

cijeljenje intestinalnih lezija uzrokovanih nesteroidnim antireumaticima i trinitrobenzen-octenom kiselinom (173, 195, 222).

Etiološki čimbenici akutnog pankreatitisa patoanatomski i patofiziološki su različiti od onih koji dovode do oštećenja sluznice, ali i cijele stijenke jednjaka, želuca i duodenuma. Međutim, iz kliničke prakse, ali i iz brojnih eksperimentalnih istraživanja poznato je da akutni pankreatitis dovodi do ozbiljnih hemodinamskih, imunoloških, metaboličkih i respiratornih oštećenja te do smanjenja motiliteta probavnog trakta, što potom često dovodi do oštećenja sluznice probavnog trakta, prije svega želuca i duodenuma (122, 158). Te lezije mogle bi biti posljedica stresa uslijed opisanih općih promjena fiziologije cijelog organizma. Usporeno pražnjenje želuca dovodi do povišenja intragastričkog tlaka, što može dovesti do insuficijencije donjeg ezofagealnog sfinktera, gastroezofagealnog refluksa te na kraju do oštećenja sluznice jednjaka.

Poznavajući dosadašnje preventivne i terapijske povoljne učinke pentadekapeptida BPC 157 na akutni pankreatitis i na lezije jednjaka, želuca i duodenuma (151, 153, 158), učinci dobiveni u ovome istraživanju nisu neočekivani. I u nekim su ranijim istraživanjima s drugim tvarima (glukagon, somatostatin, prostaglandini, dopaminergici) dobiveni povoljni učinci na tijek eksperimentalnoga akutnog pankreatitisa, jetrenih lezija, kao i lezija sluznice probavnog trakta (211, 225, 226, 227, 228, 229). Posebno nam se interesantnom čini moguća analogija ovih učinaka, kao dio gastroenteropankreatičke osovine (230, 231). Naime, dokazano je da sintetski neuropeptidi dovode do normalizacije hormonske aktivnosti gastroenteropankreatičke osovine u štakora u kojih su eksperimentalno inducirane lezije sluznice želuca i duodenuma, uz istovremenu pojačanu funkciju simpatičkoga vegetativnoga živčanog sustava (obostrana vagotomija) (232). Međutim, mehanizmi inervacije i/ili regulacije autonomne inervacije probavnog trakta, još su uvijek slabo istraženi. Kao prilog boljem poznavanju tih mehanizama potrebno je istaknuti da je u štakora s induciranim

kroničnim pankreatitisom opisan i povoljan učinak liposomalnog sandostatina na oporavak parasimpatičke inervacije abdominalnih organa (želudac, duodenum, pankreas) (233).

Na temelju rezultata naših istraživanja, dolazi u obzir pomišljati da bi osim poznatih protuupalnih i endoteloprotektivnih učinaka (161, 173) pentadekapeptid BPC 157, kao peptid želučanog podrijetla, mogao imati i utjecaj na regulaciju autonomne inervacije probavnog trakta, poglavito na temelju poznatih učinaka na oporavak funkcije piloričkoa i donjega ezofagealnog sfinktera, nakon inducirane primarne i sekundarne sfinkterne insuficijencije želuca (151, 153).

S obzirom na to da slobodni radikali kisika imaju važnu ulogu u nastanku akutnog pankreatitisa, kao posljedica opstrukcije izvodnog kanala, ishemije i akutnoga upalnog odgovora (216, 217) dolazi u obzir mogućnost da pentadekapeptid BPC 157 ima važnu ulogu u sprečavanju bilo sinteze slobodnih radikala kisika, bilo destrukcije tkiva druge, još nerazjašnjene etiologije (161, 234). Ta se pretpostavka temelji na poznatim povoljnim učincima ovog peptida na sanaciju oštećenja nastalih nekim spojevima, kao npr. na leziju jetre uzrokovanu tetraklorugljikom (234).

S obzirom na to da je naglasak u ovome istraživanju stavljen na akutni pankreatitis, treba navesti da brojni poznati čimbenici mogu dovesti do neadekvatne aktivacije pankreatičkog zimogena i autodigestije, što je temelj nastanka akutnog pankreatitisa, kako u kliničkoj, tako i u eksperimentalnoj medicini (216). Iako mehanizam nastanka nekontrolirane autodigestije nije do kraja objašnjen, svi danas poznati čimbenici dovode do pojačane permeabilnosti membrane lizosoma, te potom do oslobađanja hidrolaza iz stanica acinusa pankreasa (216). Nadalje, ti enzimi dovode do progresivne autodigestije i destrukcije tkiva pankreasa. Daljnji tijek bolesti dovodi do poremećaja lokalne cirkulacije samog pankreasa, ali i do poremećaja sistemske cirkulacije, što dalje dovodi do vazokonstrikcije, hipoperfuzije, povećanja viskoznosti krvi, poremećaja koagulacije, te progresije bolesti od edematoznoga do

nekrotičkog oblika (235). S druge strane, imunološki odgovor tijekom akutnog pankreatitisa ima za cilj sprečavanje lokalnog oštećenja. Međutim, progresijom bolesti, monocitne infiltracije i sinteze različitih medijatora upale, poglavito IL- 6, dolazi do progresije imunološke reakcije te ne samo lokalnih, nego i sistemskih oštećenja organizma (236).

Kako je naglasak ovoga istraživanja na ranome tijeku akutnog pankreatitisa (u prvih 24 sata), iznosimo i naša mišljenja o mogućnosti usporenja tijeka progresije bolesti, kao posljedicom djelovanja navedenog pentadekapeptida.

Iako je na temelju makroskopske, patohistološke i biokemijske analize došlo do nastanka akutnog pankreatitisa i u životinja kontrolne skupine, kao i u onih tretiranih pentadekapeptidom BPC 157, u svih tretiranih životinja vrijednost lipaza bila je niža nego u životinja kontrolne skupine. Posebno je važno spomenuti da u nekih životinja tretiranih mikrogramske koncentracijama pentadekapeptida BPC 157 intraperitonealno srednja vrijednost lipaza nije prelazila trostruko višu vrijednost od normalne vrijednosti. U tretiranih životinja dominirao je edem tkiva pankreasa, uz znatno manje nekrotičnih promjena nego u životinja kontrolne skupine. Vrijednost amilaza bila je više nego trostruko viša od normalnih vrijednosti u obje skupine životinja. Ti rezultati upućuju na to da bi pentadekapeptid BPC 157 mogao imati ulogu u usporenju progresije akutnog pankreatitisa, odnosno u zadržavanju stanja bolesti u intersticijsko- edematoznoj fazi, a time i u smanjenju intenziteta sistemskih komplikacija, uključivši i motilitet probavnog trakta.

Prvenstveni cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na nastanak duodenogastroezofagealnog refluksa uslijed primarne insuficijencije piloričkog, te sekundarne insuficijencije DES zbog povišenoga intragastričkoga tlaka. Istovremeno s indukcijom refluksa, arteficialno je induciran i akutni pankreatitis, podvezivanjem glavnoga žučnog voda neposredno prije otvaranja u duodenum. Poznavajući brojne komplikacije akutnog pankreatitisa (122), interesantno je da do sada nije opisan utjecaj tog stanja na

nastanak gastroezofagealnog refluksa, odnosno na antirefluksnu barijeru. U ovom istraživanju naglasak je prije svega stavljen naglasak na tlak DES, te je tijekom osmišljavanja istraživanja ispitan i učinak podvezivanja glavnog žučnog voda na tlak DES, čime je otkriven pad tlaka DES. Taj učinak do sada nije zabilježen u literaturi.

Prema tome, proizlazi da rezultati provedenog istraživanja jasno upućuju na utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na prevenciju nastanka duodenogastroezofagealnog refluksa u uvjetima primarne insuficijencije piloričkog sfinktera, sekundarne insuficijencije DES uslijed povišenoga intragastričkog tlaka, ali i podvezanoga glavnoga žučnog voda, čime se ne inducira samo akutni pankreatitis sa svim svojim lokalnim i sistemskim komplikacijama, nego i smanjenje tlaka DES, što pogoduje nastanku refluksa, odnosno ezofagitisa. Utjecaj ovog peptida na sprečavanje duodenogastroezofagealnog refluksa, kao i njegovo izoperistaltičko djelovanje poznati su iz novijih istraživanja (151, 153). Slično je djelovanje pentadekapeptid BPC 157 pokazao i u stanju insuficijencije DES, komplicirane akutnim pankreatitisom. Interesantno je da ovaj peptid pozitivne učinke pokazuje u ranom tijeku bolesti, kako u insuficijencije DES, tako i u akutnog pankreatitisa. Učinak pentadekapeptida BPC 157 na tlak DES i na razvoj refluksa, odnosno ezofagitisa, do sada je također bio nepoznat u ranom tijeku bolesti, odnosno u prva 24 sata.

Utjecaj peptida na tlak DES iskazan je povišenjem vrijednosti, i to najviše u intraperitonealne primjene u mikrogramskoj koncentraciji. Nanogramska koncentracija pentadekapeptida BPC 157 također dovodi do povišenja tlaka DES, ali znatno manje nego mikrogramska. Također, intragastričkom primjenom dolazi do slabijeg djelovanja tog peptida na tlak DES nego intraperitonealnom primjenom, bilo da je riječ o mikrogramskoj ili o nanogramskoj koncentraciji. Nanogramskom koncentracijom primijenjenom intraperitonealnim putem čak su izmjerene neznatno više vrijednosti tlaka DES, nego nakon primjene mikrogramske koncentracije intragastričkim putem. S druge strane, intragastričkom

primjenom postignuti su nešto bolji rezultati makroskopske ocjene sluznice jednjaka, nego intraperitonealnom primjenom. Učinak je ovisan o dozi, odnosno bolji rezultati dobiveni su primjenom mikrogramske koncentracije BPC 157.

Dosadašnja istraživanja histoloških promjena jednjaka tijekom bolesti gastroezofagealnog refluksa nisu rezultirala nekim široko prihvaćenim smjernicama. Iako se u bolesnika s gastroezofagealnom refluksnom bolešću mogu odrediti promjene koje će se ispitivati u svrhu dobivanja relevantnih rezultata, te se promjene ne mogu smatrati specifičnima (237). U ovom istraživanju, na temelju poremećaja stratifikacije epitela nije pronađena nikakva razlika između tretiranih životinja i životinja kontrolne skupine. Međutim, važno je naglasiti da je riječ o ranom stadiju bolesti (u prvih 24 sata). Ispitivane životinje tretirane pentadekapeptidom BPC 157 u mikrogramskoj koncentraciji intragastričkom aplikacijom imale su tanji epitel proksimalnog dijela jednjaka u odnosu na kontrolnu skupinu, ali bez statistički značajne razlike. Također, sličan je učinak opažen nakon intragastričke primjene ovog peptida u nanogramskoj koncentraciji. S druge strane, nakon intragastričke primjene ispitivanog preparata debljina rožnatog sloja sluznice jednjaka bila je statistički značajno veća u tretiranih životinja, kako u distalnom, tako i u proksimalnom dijelu jednjaka bez obzira na koncentraciju ispitivanog preparata, a učinak se pokazao i ovisnim o dozi. Kako je spomenuto, histološke promjene jednjaka uslijed gastroezofagealnog refluksa smatraju se nespecifičnima, međutim, postoje istraživanja u kojih se kod refluksa opisuju promjene u smislu duljih papila lamine proprije, hiperplazije bazalnog sloja i odsutnosti hiperkeratoze (238); upravo promjene slične takvima prevladavale su među životinjama kontrolne skupine, dok su u životinja tretiranih intragastričkim putem prevladavale hiperplastične promjene karakterizirane urednom maturacijom i hiperkeratozom.

Pri kraju rasprave, potrebno je iznijeti i bitne podatke o zaštitnim barijerama sluznice jednjaka. Sluz, sastavljena od sline i sekreta submukoznih žlijezda proksimalnoga i distalnog

dijela jednjaka, uz adekvatnu peristaltiku omogućuju zaštitu sluznice jednjaka od iritirajućih tvari. Nadalje, propusnost epitelne barijere predstavlja također važan čimbenik u sprečavanju progresije upale kroz stijenku jednjaka. InterCelularna lamelarna tjelešca, koja su bogata lipidima, djeluju kao međustanični cement koji sprečava destrukciju stanica od strane vodikovih iona (239). Također, dokazano je da u vrlo ranom tijeku ezofagitisa dolazi do stvaranja novih kapilara u sluznici jednjaka (240) te da se povećava njihova propusnost (241). Ta bi pojava mogla biti odgovorna za subepitelni protektivni mehanizam jednjaka, gdje hidrogenkarbonatni ioni iz cirkulirajuće krvi djeluju neutralizacijski na vodikove ione, koji su prošli opisane barijere.

Međutim, svi opisani mehanizmi protekcije sluznice od djelovanja vodikovih iona bolje su objašnjeni na sluznici i stijenci želuca, a kao što je poznato, pentadekapeptid BPC 157 do sada je u više navrata pokazao povoljan učinak na sprečavanje nastanka, ali i na liječenje oštećenja stijenke želuca različitim škodljivim tvarima (161, 173, 190).

Gubitak integriteta i funkcije DES, epitela jednjaka i mikrovaskularizacije dovode u konačnici do endoskopski i makroskopski vidljivih promjena, a osnovna je podjela na erozivni i neerozivni oblik bolesti (2, 4). Međutim, nema sigurne povezanosti između simptomatologije bolesti i makroskopskih promjena neerozivnog, odnosno erozivnog ezofagitisa. Simptomatski bolesnici u velikom broju slučajeva mogu imati potpuno urednu sluznicu jednjaka, ali i asimptomatski bolesnici mogu imati razvijene erozije i ulceracije (242). U ovom istraživanju prema eksperimentalnome modelu koji se i ranije pokazao učinkovitim (151), nakon izvedenog operacijskog postupka uspješno je induciran ezofagitis. Uzrok ezofagitisa je duodenogastroezofagealni refluks koji nastaje zbog primarne insuficijencije piloričkog sfinktera, s posljedičnim povećanjem intragastričkog tlaka, poremećajem motiliteta gornjeg dijela probavnog trakta i konačno, sekundarnom insuficijencijom DES. Intragastrička primjena mikrogramske koncentracije pentadekapeptida BPC 157 pokazala je najbolje

rezultate nakon ocjene makroskopskog izgleda stijenke jednjaka, iako tek neznatno bolje od rezultata dobivenih nakon intraperitonealne primjene. Učinak je ovisan o dozi, odnosno i nanogramska koncentracija tog peptida također pokazala se učinkovitom, no slabije od mikrogramske. Ozbiljnost ezofagitisa na temelju vidljivih promjena klasificira se na različite načine pomoću različitih prihvaćenih sustava bodovanja, no oni mogu biti korisni samo za klasifikaciju erozivnog ezofagitisa (243). Takve klasifikacije temelje se na veličini, broju i proširenosti promjena, te na prisutnosti ili odsutnosti komplikacija ezofagitisa. Tek novijim istraživanjima i napretkom endoskopije pridaje se važnost i drugim promjenama, poput eritema, koje su se ranije smatrale nevažnima (244).

Kao što je do sada u više navrata navedeno, pentadekapeptid BPC 157 pokazao se djelotvornim u očuvanju integriteta i funkcije probavnog trakta, poglavito želuca, a jednako tako i parenhimatoznih organa probavnog trakta, uključujući i pankreas. Također, pokazao se djelotvornim i u sprečavanju nastanka GERB i posljedičnog ezofagitisa kod piloričke, ali i kod potpune sfinkterne insuficijencije.

Znanstveno značenje ovog istraživanja jesu rezultati učinka ovog peptida u sprečavanju nastanka ezofagitisa zbog sekundarne insuficijencije DES, potencirane akutnim pankreatitisom. Naime, do sada nema objavljenih radova o utjecaju samoga akutnog pankreatitisa na tlak DES, motilitet jednjaka i na sluznicu jednjaka, dok su, s druge strane, poznate brojne komplikacije akutnog pankreatitisa koje utječu na probavni trakt.

Istraživanje je zanimljivo, jer je utvrđeno da samo stanje akutnog pankreatitisa dovodi do sniženja vrijednosti DES i kod životinja s intaktnim piloričkim i DES, što čini znanstveni doprinos. Također, rezultati istraživanja opisuju učinak pentadekapeptida BPC 157 na sami početak i GERB i akutnog pankreatitisa. Ispitivani preparat pokazao se djelotvornim u održanju, odnosno povišenju tlaka DES te u protekciji sluznice jednjaka. Iako je u svih ispitivanih životinja induciran i akutni pankreatitis, u tretiranih životinja primijećena je

redukcija edema pankreasa, kao i niže vrijednosti koncentracije lipaza, čak i ispod vrijednosti dijagnostičkih kriterija za akutni pankreatitis. Moguće je da ovaj peptid dulje zadržava tijekom akutnog pankreatitisa u intersticijsko-edematoznoj fazi bolesti. Točan mehanizam ili mehanizmi djelovanja ovog pentadekapeptida ostaju nepoznati, kao i mehanizmi sprečavanja ili umanjenja komplikacija akutnog pankreatitisa na sluznicu jednjaka i funkciju DES. Zbog toga navedena problematika predstavlja temelj za daljnja eksperimentalna i klinička istraživanja.

7. ZAKLJUČAK

Pentadekapeptid BPC 157 pokazao se djelotvornim u sprečavanju nastanka makroskopski vidljivih promjena stijenke jednjaka uslijed duodenogastroezofagealnog refluksa. Povoljan učinak pokazao se ovisnim o dozi ispitivanog preparata i o načinu primjene. Bolji su rezultati postignuti intragastričkom primjenom.

Patohistološkom analizom sluznice jednjaka nije verificiran poremećaj stratifikacije ni u jedne životinje. Neki pozitivni učinci pentadekapeptida BPC 157 zabilježeni su analizom debljine epitela jednjaka i njegovog rožnatog sloja, no oni zahtijevaju daljnja istraživanja na većem uzorku.

Primjena pentadekapeptida BPC 157 pokazala se djelotvornom u povišenju i održanju tlaka DES te time i u sprečavanju nastanka ezofagitisa, a ti su učinci ovisni o dozi i načinu primjene peptida, uz napomenu da su bolji rezultati postignuti njegovom intraperitonealnom primjenom.

Mikrogramske doze ispitivanog preparata pokazale su se djelotvornima u smislu smanjenja hemoragije i nekroze pankreasa nakon indukcije akutnog pankreatitisa, no u svih skupina životinja došlo je do razvoja akutnog pankreatitisa i do teških patoanatomskih promjena.

Također, mikrogramske doze ovog peptida pokazale su se učinkovitima u smislu redukcije edema, nekroze i granulocitne infiltracije, iako su teške promjene zabilježene u svim ispitivanim skupinama.

Vrijednosti serumske koncentracije amilaza ne daju konkretne podatke o eventualnom učinku pentadekapeptida BPC 157 na razvoj akutnog pankreatitisa; s druge strane, opažene su signifikantno značajne razlike u korist tretiranih životinja analizom serumske koncentracije lipaza, u kojih se učinak pokazao ovisnim o dozi.

Istraživani eksperimentalni model pokazao se primjenjivim i učinkovitim u indukciji ezofagitisa i pankreatitisa te u verifikaciji mogućih posljedica komplikacija akutnog pankreatitisa na DES i na jednjak, što svakako upućuje na potrebu daljnjih istraživanja.

Kako do sada nije provedeno slično istraživanje, osmišljavanje i provođenje samog istraživanja te rezultati učinka pentadekapeptida BPC 157 svakako čine znanstveni doprinos.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja bio je pojava i progresija duodenogastroezofagealnog refluksa te njegova pogoršanja uslijed induciranog pankreatitisa te istraživanje potencijelnih terapijskih mogućnosti pentadekapeptida BPC 157. Do sada su u više navrata opisane sistemske komplikacije akutnog pankreatitisa. Osim opisanih, akutni pankreatitis dovodi i do komplikacija vezanih uz integritet i motilitet probavnog trakta, od kojih su do sada najčešće opisane one vezane za želudac i duodenum, dok su komplikacije na jednjaku vrlo slabo poznate.

Istraživanje je provedeno na ženama Wistar Albino štakora. Duodenogastroezofagealni refluks induciran je implantacijom cjevčice u pilorički sfinkter, dok je akutni pankreatitis induciran podvezivanjem glavnoga žučnog voda ispred otvaranja u duodenum.

Istraženi su i opisani učinci pentadekapeptida BPC 157 na makroskopske i histološke promjene sluznice jednjaka te na tlak donjega ezofagealnog sfinktera, kao i na makroskopske, histološke i biokemijske promjene uslijed akutnog pankreatitisa. Rezultati su evaluirani nakon 24 sata.

Bez obzira na akutni pankreatitis, pentadekapeptid BPC 157 održava tonus DES, sprečava nastanak makroskopski vidljivih promjena jednjaka i oštećenja integriteta rožnatog sloja sluznice jednjaka. Bez obzira na to što je kod svih životinja došlo do pojave akutnog pankreatitisa, u tretiranih je životinja verificirana niža serumska koncentracija lipaza, a opažen je i povoljan učinak u sprečavanju nastanka edema i nekroze pankreasa.

9. SUMMARY

The effect of pentadecapeptide BPC 157 on reflux esophagitis during acute pancreatitis

The development of of duodenogastroesophageal reflux, it's worsening related to acute pancreatitis, and potential therapeutic effect of pentadecapeptide BPC 157 were the main goals of this research. Systemic complications of acute pancreatitis were described in numerous articles. The acute pancreatitis also badly influences digestive integrity and motility. This effects are mostly known to be developed in stomach and duodenum, while esophagus complications are poorly described and understood.

The female Wistar albino rats were used in this research. Duodenogastroesophageal reflux was induced by implanting the plastic tube through pylorus, and acute pancreatitis by ligating main bile duct just proximally to it's entering into duodenum. The results were evaluated after 24 hours.

The effect of pentadecapeptide BPC 157 is described through the results describing macroscopical and hystological changes, the lowers esophageal sphyncter pressure, as well as macroscopic, hystologic and biochemical changes caused by acute pancreatitis.

Despite the acute pancreatitis developed, pentadecapeptide BPC 157 keeps the lower esophageal sphyncter strenght, prevents macroscopically identified esophageal changes, and protects corneal layer integrity. Although all the animals developed acute pancreatitis, the lipase serum level concentration was lower in treated animals, as well as edema and necrosis.

10. POPIS LITERATURE

1. Castell DO, Murray JA, Tutuian R, Orlando RC, Arnold R. Review article: the pathophysiology of gastroesophageal reflux disease- oesophageal manifestations. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20(9):14–25.
2. Balaji NS, Blom D, DeMeester TR, Peters JH. Redefining gastroesophageal reflux (GER). *Surg Endosc* 2003;17:1380–1385.
3. Vaezi MF, Richter JE. Role of acid and duodenogastroesophageal reflux in gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 1996;111:1192–1199.
4. Pandolfino JE, Howden CW, Kahrilas PJ. *H. pylori* and GERD: is less more? *Am J Gastroenterol* 2004;99:1222–1225.
5. Armstrong D. Review article: gastric pH-the most relevant predictor of benefit in reflux disease? *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20(5):19–26; discussion 38–39.
6. Muramatsu A, *et al.* Evaluation of treatment for gastro-oesophageal reflux disease with a proton pump inhibitor, and relationship between gastro-oesophageal reflux disease and *Helicobacter pylori* infection in Japan. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20(1):102–106.
7. Hirschowitz BI. A critical analysis, with appropriate controls, of gastric acid and pepsin secretion in clinical esophagitis. *Gastroenterology* 1991;101:1149–1158.
8. Shimatani T, *et al.* Gastric acid normosecretion is not essential in the pathogenesis of mild erosive gastroesophageal reflux disease in relation to *Helicobacter pylori* status. *Dig Dis Sci* 2004;49:787–794. |
9. Abe Y, *et al.* The prevalence of *Helicobacter pylori* infection and the status of gastric acid secretion in patients with Barrett's esophagus in Japan. *Am J Gastroenterol* 2004;99:1213–1221.

10. Abe Y, *et al.* The prevalence of *Helicobacter pylori* infection and the status of gastric acid secretion in patients with Barrett's esophagus in Japan. *Am J Gastroenterol* 2004;99:1213–1221.
11. Koike T, *et al.* Increased gastric acid secretion after *Helicobacter pylori* eradication may be a factor for developing reflux oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:813–820.
12. El-Serag HB, *et al.* Corpus gastritis is protective against reflux oesophagitis. *Gut* 1999;45:181–185.
13. Schultze V, *et al.* Differing patterns of *Helicobacter pylori* gastritis in patients with duodenal, prepyloric, and gastric ulcer disease. *Scand J Gastroenterol* 1998;33:137–142.
14. Calam J. The somatostatin-gastrin link of *Helicobacter pylori* infection. *Ann Med* 1995;27:569–573.
15. Sipponen P, Hyvarinen H, Siurala M H. *pylori* corpus gastritis-relation to acid output. *J Physiol Pharmacol* 1996;47:151–159.
16. Koike T, *et al.* *Helicobacter pylori* infection inhibits reflux esophagitis by inducing atrophic gastritis. *Am J Gastroenterol* 1999;94:3468–3472.
17. Graham DY, Yamaoka Y. *H. pylori* and *cagA*: relationships with gastric cancer, duodenal ulcer, and reflux esophagitis and its complications. *Helicobacter* 1998;3:145–151.
18. Leodolter A, *et al.* *Helicobacter pylori* genotypes and expression of gastritis in erosive gastro-oesophageal reflux disease. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:498–502.
19. Sharma P, Vakil N. Review article: *Helicobacter pylori* and reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:297–305.
20. Guliter S, Kandilci U. The effect of *Helicobacter pylori* eradication on gastroesophageal reflux disease. *J Clin Gastroenterol* 2004;38:750–755.
21. Moayyedi P, *et al.* *Helicobacter pylori* eradication does not exacerbate reflux symptoms in gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 2001;121:1120–1126.

22. Calleja JL, Suarez M, De Tejada AH, Navarro A. Helicobacter pylori infection in patients with erosive esophagitis is associated with rapid heartburn relief and lack of relapse after treatment with pantoprazole. *Dig Dis Sci* 2005;50:432–439.
23. Vaezi MF, Singh S, Richter JE. Role of acid and duodenogastric reflux in esophageal mucosal injury: a review of animal and human studies. *Gastroenterology* 1995;108:1897–1907.
24. Vaezi MF, Richter JE. Contribution of acid and duodenogastro-oesophageal reflux to oesophageal mucosal injury and symptoms in partial gastrectomy patients [see comment]. *Gut* 1997;41:297–302.
25. Stein HJ, Barlow AP, DeMeester TR, Hinder RA. Complications of gastroesophageal reflux disease. Role of the lower esophageal sphincter, esophageal acid and acid/alkaline exposure, and duodenogastric reflux. *Ann Surg* 1992;216:35–43.
26. Tack J, Fass R. Review article: approaches to endoscopic-negative reflux disease: part of the GERD spectrum or a unique acid-related disorder? *Aliment Pharmacol Ther* 2004;19(1):28–34.
27. Siddiqui A, Rodriguez-Stanley S, Zubaidi S, Miner PBJr. Esophageal visceral sensitivity to bile salts in patients with functional heartburn and in healthy control subjects. *Dig Dis Sci* 2005;50:81–85.
28. Vela MF, *et al.* Simultaneous intraesophageal impedance and pH measurement of acid and nonacid gastroesophageal reflux: effect of omeprazole. *Gastroenterology* 2001;120:1599–1606.
29. Todd JA, Basu KK, de Caestecker JS. Normalization of oesophageal pH does not guarantee control of duodenogastro-oesophageal reflux in Barrett's oesophagus. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:969–975.
30. Mittal RK, Balaban DH. The esophagogastric junction. *N Engl J Med* 1997;336:924–932.

31. Kwok H, Marriz Y, Al-Ali S, Windsor JA. Phrenoesophageal ligament re-visited. *Clin Anat* 1999;12:164–170.
32. Stein HJ, Liebermann-Meffert D, DeMeester TR, Siewert JR. Three-dimensional pressure image and muscular structure of the human lower esophageal sphincter. *Surgery* 1995;117:692–698.
33. Miolan JP, Roman C. Activity of vagal efferent fibres innervating the smooth muscle of the dog's cardia [French]. *J Physiologie* 1978;74:709–723.
34. Liebermann-Meffert D, Allgower M, Schmid P, Blum AL. Muscular equivalent of the lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* 1979;76:31–38.
35. Muinuddin A, Xue S, Diamant NE. Regional differences in the response of feline esophageal smooth muscle to stretch and cholinergic stimulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;281:G1460–G1467.
36. Preiksaitis HG, Diamant NE. Regional differences in the cholinergic activity of muscle fibers from the human gastroesophageal junction. *Am J Physiol* 1997;272:G1321–G1327.
37. Muinuddin A, Kang Y, Gaisano HY, Diamant NE. Regional differences in L-type Ca²⁺ channel expression in feline lower esophageal sphincter. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004;287:G772–G781.
38. Muinuddin A, Neshatian L, Gaisano HY, Diamant NE. Calcium source diversity in feline lower esophageal sphincter circular and sling muscle. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004;286:G271–277.
39. L'Heureux M-C, Muinuddin A, Gaisano HY, Diamant NE. Feline lower esophageal sphincter sling and circular muscles have different functional inhibitory neuronal responses. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006;290(1):G23–G29.
40. Hill LD, *et al.* The gastroesophageal flap valve: in vitro and in vivo observations. *Gastrointest Endosc* 1996;44:541–547.

41. Poudroux P, Verdier E, Kahrilas PJ. Patterns of esophageal inhibition during swallowing, pharyngeal stimulation, and transient LES relaxation. Lower esophageal sphincter. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;284:G242–247.
42. Mittal RK, McCallum RW. Characteristics and frequency of transient relaxations of the lower esophageal sphincter in patients with reflux esophagitis. *Gastroenterology* 1988;95:593–599.
43. Dodds WJ, *et al.* Mechanisms of gastroesophageal reflux in patients with reflux esophagitis. *N Engl J Med* 1982;307:1547–1552.
44. Mittal RK, Holloway RH, Penagini R, Blackshaw LA, Dent J. Transient lower esophageal sphincter relaxation. *Gastroenterology* 1995;109:601–610.
45. Sears VWJr, Castell JA, Castell DO. Comparison of effects of upright versus supine body position and liquid versus solid bolus on esophageal pressures in normal humans. *Dig Dis Sci* 1990;35:857–864.
46. Dent J, Dodds WJ, Sekiguchi T, Hogan WJ, Arndorfer RC. Interdigestive phasic contractions of the human lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* 1983;84:453–460.
47. Nebel OT, Castell DO. Inhibition of the lower oesophageal sphincter by fat—a mechanism for fatty food intolerance. *Gut* 1973;14:270–274.
48. Wright LE, Castell DO. The adverse effect of chocolate on lower esophageal sphincter pressure. *Am J Dig Dis* 1975;20:703–707.
49. Hogan WJ, DeAndrade SRV, Winship DH. Ethanol-induced acute esophageal motor dysfunction. *J Appl Physiol* 1972;32:755–760.
50. Dennish GW, Castell DO. Caffeine and the lower esophageal sphincter. *Am J Dig Dis* 1972;17:993–996.

51. Piche T, *et al.* Modulation by colonic fermentation of LES function in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiology* 2000;278:G578–584.
52. Dennish GW, Castell DO. Inhibitory effect of smoking on the lower esophageal sphincter. *N Engl J Med* 1971;284:1136–1137.
53. Baron TH, Richter JE. Gastroesophageal reflux disease in pregnancy [Review]. *Gastroenterol Clin North Am* 1992;21:777–791.
54. Campos GM, *et al.* The pattern of esophageal acid exposure in gastroesophageal reflux disease influences the severity of the disease. *Arch Surg* 1999;134:882–887; discussion 887–888.
55. Orr WC, Heading R, Johnson LF, Kryger M. Review article: sleep and its relationship to gastro-oesophageal reflux. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;(20):39–46.
56. Cohen S, *et al.* The pathogenesis of esophageal dysfunction in scleroderma and Raynaud's disease. *J Clin Invest* 1972;51:2663–2668.
57. Holloway RH, Penagini R, Ireland AC. Criteria for objective definition of transient lower esophageal sphincter relaxation. *Am J Physiol* 1995;268:G128–133.
58. Penagini R, *et al.* Motor function of the proximal stomach and visceral perception in gastro-oesophageal reflux disease. *Gut* 1998;42:251–257.
59. Kahrilas PJ, Shi G, Manka M, Joehl RJ. Increased frequency of transient lower esophageal sphincter relaxation induced by gastric distention in reflux patients with hiatal hernia. *Gastroenterology* 2000;118:688–695.
60. Zhang Q, *et al.* Effect of hyperglycemia on triggering of transient lower esophageal sphincter relaxations. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004;286:G797–803.
61. Lidums I, Checklin H, Mittal RK, Holloway RH. Effect of atropine on gastro-oesophageal reflux and transient lower oesophageal sphincter relaxations in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Gut* 1998;43:12–16.

62. Fang JC, Sarosiek I, Yamamoto Y, Liu J, Mittal RK. Cholinergic blockade inhibits gastro-oesophageal reflux and transient lower oesophageal sphincter relaxation through a central mechanism. *Gut* 1999;44:603–607.
63. Gilbert R, Rattan S, Goyal RK. Pharmacologic identification, activation and antagonism of two muscarine receptor subtypes in the lower esophageal sphincter. *J Pharmacol Exp Ther* 1984;230:284–291.
64. Farrell RL, Roling GT, Castell DO. Cholinergic therapy of chronic heartburn. A controlled trial. *Ann Intern Med* 1974;80:573–576.
65. Holloway RH. Systemic pharmacomodulation of transient lower esophageal sphincter relaxations. *Am J Med* 2001;111(8A):178S–185S.
66. Fujiwara Y, *et al.* Gastroesophageal reflux after distal gastrectomy: possible significance of the angle of His. *Am J Gastroenterol* 1998;93:11–15.
67. Kahrilas PJ, Lin S, Chen J, Manka M. The effect of hiatus hernia on gastro-oesophageal junction pressure. *Gut* 1999;44:476–482.
68. Mittal RK, Rochester DF, McCallum RW. Electrical and mechanical activity in the human lower esophageal sphincter during diaphragmatic contraction. *J Clin Invest* 1988;81:1182–1189.
69. Mittal RK, *et al.* Human lower esophageal sphincter pressure response to increased intra-abdominal pressure. *Am J Physiol* 1990;258:G624–G630.
70. Bombeck CT, Dillard DH, Nyhus LM. Muscular anatomy of the gastroesophageal junction and role of phrenoesophageal ligament; autopsy study of sphincter mechanism. *Annals of Surgery* 1966;164:643–654.
71. Sloan S, Rademaker AW, Kahrilas, PJ. Determinants of gastroesophageal junction incompetence: hiatal hernia, lower esophageal sphincter, or both? *Ann Intern Med* 1992;117:977–982.

72. Jones MP, *et al.* Hiatal hernia size is the dominant determinant of esophagitis presence and severity in gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2001;96:1711–1717.
73. Sloan S, Kahrilas PJ. Impairment of esophageal emptying with hiatal hernia. *Gastroenterology* 1991;100:596–605.
74. Bahmeriz F, Dutta S, Allen CJ, Pottruff CG, Anvari M. Does laparoscopic antireflux surgery prevent the occurrence of transient lower esophageal sphincter relaxation? *Surg Endosc* 2003;7:1050–1054.
75. Csendes A, *et al.* 'Carditis': an objective histological marker for pathologic gastroesophageal reflux disease. *Dis Esoph* 1998;11:101–105.
76. Kahrilas PJ, Dodds WJ, Hogan WJ. Effect of peristaltic dysfunction on esophageal volume clearance. *Gastroenterology* 1988;94:73–80.
77. Achem AC, Achem SR, Stark ME, DeVault KR. Failure of esophageal peristalsis in older patients: association with esophageal acid exposure. *Am J Gastroenterol* 2003;98:35–39.
78. Ogilvie AL, James PD, Atkinson M. Impairment of vagal function in reflux oesophagitis. *Q J Med* 1985;54:61–74.
79. Salapatek AM, Diamant NE. Assessment of neural inhibition of the lower esophageal sphincter in cats with esophagitis. *Gastroenterology* 1993;104:810–818.
80. Tomita R, Tanjoh K, Fujisaki S, Fukuzawa M. Physiological studies on nitric oxide in the lower esophageal sphincter of patients with reflux esophagitis. *Hepatogastroenterology* 2003;50:110–114.
81. Rich H, Dong Song U, Behar J, Kim N, Biancani P. Experimental esophagitis affects intracellular calcium stores in the cat lower esophageal sphincter. *Am J Physiol* 1997;272:G1523–G1529.

82. Sohn UD, *et al.* Acute experimental esophagitis activates a second signal transduction pathway in cat smooth muscle from the lower esophageal sphincter. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;283:1293–1304.
83. Cheng L, Cao W, Behar J, Biancani P, Harnett KM. Inflammation induced changes in arachidonic acid metabolism in cat LES circular muscle. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005;288:G787–G797.
84. Cao WB, *et al.* Group I secreted PLA2 and arachidonic acid metabolites in the maintenance of cat LES tone. *Am J Physiol* 1999;277:G585–598.
85. Cheng L, *et al.* In vitro model of acute esophagitis in the cat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005;289:G860–869.
86. Cheng L, *et al.* Platelet-activating factor and prostaglandin E₂ impair esophageal ACh release in experimental esophagitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005;289:G418–428.
87. Cheng L, *et al.* Hydrogen peroxide reduces lower esophageal sphincter tone in human esophagitis. *Gastroenterology* 2005;129:1675–1685.
88. Eastwood GL, Beck BD, Castell DO, Brown FC, Fletcher JR. Beneficial effect of indomethacin on acid-induced esophagitis in cats. *Dig Dis Sci* 1981;26:601–608.
89. Isomoto H, *et al.* Enhanced expression of interleukin-8 and activation of nuclear factor kappa-B in endoscopy-negative gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2004;99:589–597.
90. Paterson WG. Role of mast cell-derived mediators in acid-induced shortening of the esophagus. *Am J Physiol* 1998;37:G385–G388.
91. Zhang Y, Paterson WG. Nitric oxide contracts longitudinal smooth muscle of opossum esophagus via excitation-contraction coupling. *J Physiol* 2001;536:133–140.

92. Barlow WJ, Orlando RC. The pathogenesis of heartburn in nonerosive reflux disease: a unifying hypothesis. *Gastroenterology* 2005;128:771–778.
93. Shi G, Bruley des Varannes S, Scarpignato C, LeRhun M, Galmiche J-P. Reflux related symptoms in patients with normal oesophageal exposure to acid. *Gut* 1995;37:457–464.
94. Byrne PJ, Mulligan ED, O'Riordan J, Keeling PW, Reynolds J. V. Impaired visceral sensitivity to acid reflux in patients with Barrett's esophagus. The role of esophageal motility*. *Dis Esoph* 2003;16:199–203.
95. Sarkar S, *et al.* Central neural mechanisms mediating human visceral hypersensitivity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;281:G1196–1202.
96. Takeda T, Nabae T, Kassab G, Liu J, Mittal RK. Oesophageal wall stretch: the stimulus for distension induced oesophageal sensation. *Neurogastroenterol Motil* 2004;16:721–728.
97. Lin M, Gerson LB, Lascar R, Davila M, Triadafilopoulos G. Features of gastroesophageal reflux disease in women. *Am J Gastroenterol* 2004;99:1442–1447.
98. Fass R, Pulliam G, Johnson C, Garewal HS, Sampliner RE. Symptom severity and oesophageal chemosensitivity to acid in older and young patients with gastro-oesophageal reflux. *Age Ageing* 2000;29:125–130.
99. Bradley LA, Richter JE, Scarinci IC, Haile JM, Schan CA. Psychosocial and psychophysical assessments of patients with unexplained chest pain. *Am J Med* 1992;92(5A):65S–73S.
100. Buckles DC, Sarosiek I, McMillin C, McCallum RW. Delayed gastric emptying in gastroesophageal reflux disease: reassessment with new methods and symptomatic correlations. *Am J Med Sci* 2004;327:1–4.
101. Holloway RH, Hongo M, Berger K, McCallum RW. Gastric distention: a mechanism for postprandial gastroesophageal reflux. *Gastroenterology* 1985;89:779–784.

102. Yamashita Y, Mason RJ, Demeester TR. Postprandial acid reflux is reduced by delayed gastric emptying. *J Smooth Muscle Res* 2003;39:87–93.
103. Demirbilek S, *et al.* Delayed gastric emptying in gastroesophageal reflux disease: the role of malrotation. *Pediatr Surg Int* 2005;21:423–427.
104. Helm JF, *et al.* Effect of esophageal emptying and saliva on clearance of acid from the esophagus. *N Engl J Med* 1984;310:284–288.
105. Sonnenberg A, *et al.* Salivary secretion in reflux esophagitis. *Gastroenterology* 1982;83:889–895.
106. Helm JF, Dodds WJ, Hogan WJ. Salivary response to esophageal acid in normal subjects and patients with reflux esophagitis. *Gastroenterology* 1987;93:1393–1397.
107. Mang F-W, *et al.* Primary biliary cirrhosis, sicca complex, and dysphagia. *Dysphagia* 1997;12:167–170.
108. Korsten MA, *et al.* Chronic xerostomia increases esophageal acid exposure and is associated with esophageal injury. *Am J Med* 1991;90:701–706.
109. Johnson LF, DeMeester TR. Twenty-four-hour pH monitoring of the distal esophagus. A quantitative measure of gastroesophageal reflux. *Am J Gastroenterol* 1974;62(4):325–332.
110. Fackler WK, Ours TM, Vaezi MF, Richter JE. Long-term effect of H2RA therapy on nocturnal gastric acid breakthrough. *Gastroenterology* 2002;122:625–632.
111. Orr WC, Elsenbruch S, Harnish MJ, Johnson LF. Proximal migration of esophageal acid perfusions during waking and sleep. *Am J Gastroenterol* 2000;95:37–42.
112. Kahrilas PJ, *et al.* Effect of sleep, spontaneous gastroesophageal reflux, and a meal on upper esophageal sphincter pressure in normal human volunteers. *Gastroenterology* 1987;92:466–471.

113. Schneyer LH, Pigman W, Hanahan L, Gilmore RW. Rate of flow of human parotid, sublingual, and submaxillary secretions during sleep. *J Dent Res* 1956;35:109–114.
114. Elsenbruch S, Orr WC, Harnish MJ, Chen JD. Disruption of normal gastric myoelectric functioning by sleep. *Sleep* 1999;22:453–458.
115. Wilson LJ, Ma W, Hirschowitz BI. Association of obesity with hiatal hernia and esophagitis. *Am J Gastroenterol* 1999;94:2840–2844.
116. Orenstein SR, Shalaby TM, Barmada MM, Whitcomb DC. Genetics of gastroesophageal reflux disease: a review. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;34:506–510.
117. Locke GRI, Talley NJ, Fett SL, Zinsmeister AR, Melton LJI. Prevalence and clinical spectrum of gastroesophageal reflux: a population-based study in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology* 1997;112:1448–1546.
118. Cameron AJ, *et al.* Gastroesophageal reflux disease in monozygotic and dizygotic twins. *Gastroenterology* 2002;122:55–59.
119. Hu FZ, *et al.* Fine mapping a gene for pediatric gastroesophageal reflux on human chromosome 13q14. *Hum Genet* 2004;114:562–572.
120. Bradley EL: A clinically based classification system for acute pancreatitis. *Arch Surg* 1993;128:586
121. DiMagno EP, Chari S: Acute pancreatitis. Sleisinger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management, 7th ed. Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH, Eds. WB Saunders Co, Philadelphia, 2002
122. Forsmark CE, Grendell JH: Complications of pancreatitis. *Semin Gastrointest Dis* 1991;12:165.
123. Tenner S: Initial management of acute pancreatitis: critical issues during the first 72 hours. *Am J Gastroenterol* 2004; 99:2489.

124. DeFrances CJ, Hall MJ, Podgornik MN: 2003 National Hospital Discharge Survey. Advance data from vital and health statistics (No. 359). National Center for Health Statistics, Hyattsville, Maryland, 2005.
125. Hanck C, Whitcomb DC: Alcoholic pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2004; 33:751- 65.
126. Klein SD, Affronti JP: Pancreas divisum, an evidence-based review: part I, pathophysiology. *Gastrointest Endosc* 2004; 60:419.
127. Klein SD, Affronti JP: Pancreas divisum, an evidence-based review: part II, patient selection and treatment. *Gastrointest Endosc* 2004;60:585.
128. Lans JJ, Geenen JE, Johanson JF, et al: Endoscopic therapy in patients with pancreas divisum and acute pancreatitis: a prospective, randomized, controlled clinical trial. *Gastrointest Endosc* 1992; 38:430.
129. Lankisch PG, Droege M, Gottesleben F: Drug-induced acute pancreatitis: incidence and severity *Gut* 1995; 37:565.
130. Trivedi CD, Pitchumoni CS: Drug-induced pancreatitis: an update. *J Clin Gastroenterol* 2005; 239:709.
131. Reisler RB, Murphy RL, Redfield RR, et al: Incidence of pancreatitis in HIV-1-infected individuals enrolled in 20 adult AIDS clinical trials group studies: lessons learned. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 39:159.
132. Yadav D, Pitchumoni CS: Issues in hyperlipidemic pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2005; 36:54.
133. Glueck CJ, Lang J, Hamer T, et al: Severe hypertriglyceridemia and pancreatitis when estrogen replacement therapy is given to hypertriglyceridemic women. *J Lab Clin Med* 1994; 123:59.

134. Freeman ML, DiSario JA, Nelson DB, et al: Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective, multicenter study. *Gastrointest Endosc* 2001; 54:425.
135. Etemad B, Whitcomb DC: Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments. *Gastroenterology* 2001; 20:682.
136. Hamano H, Kawa S, Horiuchi A, et al: High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med* 2001; 344:732.
137. Ros E, Navarro S, Bru C, et al: Occult microlithiasis in “idiopathic” acute pancreatitis: prevention of relapses by cholecystectomy or ursodeoxycholic acid therapy. *Gastroenterology* 1991; 101:1701.
138. Lee SP, Nichols JF, Park HZ: Biliary sludge as a cause of acute pancreatitis. *N Engl J Med* 1992; 326:589- 93.
139. Bhatia M, Wong FL, Cao Y, et al: Pathophysiology of acute pancreatitis. *Pancreatology* 2005; 5:132.
140. Raraty MG, Connor S, Criddle DN, et al: Acute pancreatitis and organ failure: pathophysiology, natural history, and management strategies. *Curr Gastroenterol Rep* 2004; 6:99.
141. Steinberg WM, Schlesselman SE: Treatment of acute pancreatitis: comparison of animal and human studies. *Gastroenterology* 1987; 93:1420.
142. Johnson CD, Kingsnorth AN, Imrie CE, et al: A double blind, randomized, placebo controlled study of a platelet activating factor antagonist lexipafant in the treatment and prevention of organ failure in predicted severe acute pancreatitis. *Gut* 2001; 48:62.
143. Al-Bahrani AZ, Ammori BJ: Clinical laboratory assessment of acute pancreatitis. *Clin Chim Acta* 2005; 362:26.
144. Lankisch PG, Schirren CA, Kunze E: Undetected fatal pancreatitis. Why is the disease so frequently overlooked? *Am J Gastroenterol* 1991; 86:322.

145. Baillargeon JD, Orav J, Ramagopal V, et al: Hemoconcentration as an early risk factor for necrotizing pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1998; 93:2130.
146. Tenner S, Dubner H, Steinberg W: Predicting gallstone pancreatitis with laboratory parameters: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:1863.
147. Schmid SW, UhlW, Kidd M, Modlin IM, BuchlerMW: Experimental models of acute pancreatitis and their clinical significance. In Markus WB, Uhl W, Malfertheiner P (eds): *Acute Pancreatitis: Novel Concepts in Biology and Therapy*. Malden, MA: Blackwell Science, 1998, pp 52–62.
148. Foitzik T, Hotz HG, Eibl G, Buhr HJ: Experimental models of acute pancreatitis: are they suitable for evaluating therapy? *Int J Colorectal Dis* 2000; 15:127–135.
149. Granger J, Remick D: Acute pancreatitis: models, markers and mediators, *Shock* 2005; 1:45-51.
150. Mitsuo Y, Yoshifumi T, Masayuki S, Harumasa O: Pancreatic and bile duct obstruction exacerbates rat caerulein-induced pancreatitis: a new experimental model of acute hemorrhagic pancreatitis, *J Gastroenterol* 2006; 41:352–360.
151. Dobric I, Drvis P, Petrovic I, Shejbal D, Brcic L, Boban Blagaic A, Batelja L , Sever M, Kokic N, Tonkic A, Zoricic I, Mise S, Staresinic M, Radic B, Jakir A, Babel J, Ilic S, Vuksic T, Jelic I, Anic T, Seiwerth S, and Sikiric P. Prolonged Esophagitis After Primary Dysfunction of the Pyloric Sphincter in the Rat and Therapeutic Potential of the Gastric Pentadecapeptide BPC 157. *J Pharmacol Sci* 2007; 104, 7 – 18.
152. Fass R. Gastroesophageal reflux disease revisited. *Gastroenterol Clin N Am* 2002; 31:S1–S10.
153. Petrovic I, Dobric I, Drvis P, Shejbal D, Brcic L, Boban Blagaic A, et al. An experimental model of prolonged esophagitis with sphincter failure in rat and therapeutic potential of gastric pentadecapeptide BPC 157. *J Pharmacol Sci* 2006;102:269–277.

154. Sikiric P, Jadrijevic S, Seiwerth S, Sosa T, Deskovic S, Perovic D, et al. Long-lasting cytoprotection after pentadecapeptide BPC 157, ranitidine, sucralfate or cholestyramine application in reflux oesophagitis in rats. *J Physiol (Paris)*1999;93:467–477.
155. Vicente Y, Rocha C, Yu J, Hernandez Peredo G, Martinez L, Perez Mies B, et al. Individual inactivation of the sphincteric component of the gastroesophageal barrier causes reflux esophagitis in piglets. *J Ped Surgery* 2002;37:40–46.
156. Montedonico S, Diez-Pardo JA, Tovar JA. Gastroesophageal reflux after combined lower esophageal sphincter and diaphragmatic crural sling inactivation in the rat. *Dig Dis Sci* 1999;44:2283–2289.
157. Nagahama K, Yamato M, Kato S, Takeuchi K. Protective effect of lafutidine, a novel H₂-receptor antagonist on reflux esophagitis in rats through capsaicin-sensitive afferent neurons. *J Pharmacol Sci* 2003;93:55–6.
158. Sikirić, P., Seiwerth S, Grabarević Ž, Ručman R, Petek M, Jagić V, Turković B, Rotkvić I, Miše S, Zoričić I, Jurina Lj, Konjevoda P, Hanževački M, Ljubanović D, Šeparović J, Gjurašin M, Bratulić M, Artuković B, Jelovac N, Buljat G: Salutary and Prophylactic Effect of Pentadecapeptide BPC 157 on Acute Pancreatitis and Concomitant Gastroduodenal Lesions in Rats. *Dig Dis Sci* 1996; 41:1518-1526.
159. De Dios I, Perez M, De la Mano A,Sevillano S, Orfao A, Ramudo L, Manso MA. Leukocytes to cytokine production in pancreatic duct obstruction-induced acute pancreatitis in rats. *Cytokine* 2002; 20(6): 295–303.
160. Uruñuela A, Sevillano S, De la Mano A, Manso MA, Orfao A, De Dios I. Time-course of oxygen free radical production in acinar cells during acute pancreatitis induced by pancreatic duct obstruction. *Biochimica et Biophysica Acta* 2002; 1588: 159–164.
161. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic, Z, Petek M, Rucman R, Turkovic B, et al. The beneficial effect of BPC 157, a 15 amino acid peptide BPC fragment, on gastric and

- duodenal lesion induced by restraint stress, cysteamine and 96% ethanol in rats. A comparative study with H₂ receptor antagonists, dopamine promoters and gut peptides. *Life Sci* 1994; 54: PL63–PL68.
162. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, et al. Beneficial effect of novel pentadecapeptide BPC 157 on gastric lesions induced by restraint stress, ethanol, indomethacin, and capsaicin neurotoxicity. *Dig Dis Sci* 1996; 41:1604–1614.
163. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, et al. The influence of a novel pentadecapeptide BPC 157 on NG-nitro-L-arginine methylester and L-arginine effect on stomach mucosal integrity and blood pressure. *Eur J Pharmacol* 1997; 332:23–33.
164. Mikus D, Sikiric P, Seiwerth S, Petricevic A, Aralica G, Druzijancic N, et al. Pentadecapeptide BPC 157 cream improves burn-wound healing and attenuates burn-gastric lesions in mice. *Burns* 2001;27:817–827.
165. Sikiric P, Seiwerth S, Mise S, Staresinic M, Bedekovic V, Zarkovic N, et al. Corticosteroids-impairment healing and gastric pentadecapeptide BPC 157 creams in burned mice. *Burns* 2003;29:323–334.
166. Veljaca M, Chan K, Guglietta A. Digestion of h-EGF, h-TGF alpha and BPC-15 in human gastric juice. *Gastroenterology* 1995;108:A761.
167. Ruenzi M, Stolte M, Veljaca M, Oreskovic K, Peterson J, Ulcerative Colitis Study Group. A multicenter, randomized, double blind, placebo-controlled phase II study of PL 14736 enema in the treatment of mild-to-moderate ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2005 ;128:A584.
168. Staresinic M, Petrovic I, Novinscak T, Jukic I, Pevec D, Suknaic S, et al. Effective therapy of transected quadriceps muscle in rat: gastric pentadecapeptide BPC 157. *J Orthop Res* 2006;24:1109– 1117.

169. Xue XC, Wu YJ, Gao MT, Li WG, Zhao N, Wang ZL, et al. Protective effects of pentadecapeptide BPC 157 on gastric ulcer in rats. *World J Gastroenterol* 2004;10:1032–1036.
170. Wood JD. The first Nobel prize for integrated systems physiology: Ivan Petrovich Pavlov, 1904. *Physiology* 2004;19: 326–330.
171. Bedurlu A, Sozuer EM, et al. Protective Effect of Nitric Oxide in Lung Injury Associated with Cerulein-Induced Acute Pancreatitis, *Turk J Med Sci* 2002; 32: 463- 468.
172. Um SH, Kwon YD, Kim CD, et al. The Role of Nitric Oxide in Experimental Cerulein Induced Pancreatitis, *J Korean Med Sci* 2003; 18: 520-6.
173. Sikiric P, Petek M, Rucman R, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rotkvic I, et al. A new gastric peptide BPC. An overview of stomach – organoprotection hypothesis and beneficial effect of BPC. *J Physiol (Paris)*1993; 87:313–327.
174. Bedekovic V, Mise S, Anic T, Staresinic M, Gjurasin M, Kopljar M, et al. Different effect of antiulcer agents on rat cysteamineinduced duodenal ulcer after sialoadenectomy, but not gastrectomy. *Eur J Pharmacol* 2003; 477:73–80.
175. Seveljevic Jaran D, Cuzic S, Dominis Kramaric M, Glojnaric I, Ivetic V, Radosevic S, et al. Accelerated healing of excisional skin wound by PL 14736 in alloxan-hyperglycemic rats. *Skin Pharmacol Physiol* 2006; 19:266–274.
176. Xue XC, Wu YJ, Gao MT. Study of the protective effects of pentadecapeptide BPC 157 on wounds in small type pigs. *Chin New Drugs J* 2004; 12:602–604.
177. Petrovic I, Drvis P, Dobric I, Kopljar M, Shejbal D, Batelja L, et al. Pentadeca-peptide BPC 157 combines lower esophageal and pyloric sphincter pressure and reflux esophagitis attenuation in rat. *Gastroenterology* 2004; 126:336.
178. Sikiric P, Separarovic J, Buljat G, Anic T, Stancic-Rokotov D, Mikus D, et al. Gastric mucosal lesions induced by complete dopamine system failure in rats. The effects of

- dopamine agents, ranitidine, atropine, omeprazole and pentadecapeptide BPC 157. *J Physiol (Paris)* 2000; 94:105–110
179. Mozsik G, Sikiric P, Seiwerth S. Pentadecapeptide BPC 157 (PLD116, PL14736, Pliva) influences ATP energy system and antagonizes 0.6 M HCl- and 96% ethanol-gastric lesion in rat. *Digestion* 2005; 73:41.
180. Konturek SJ, Brzozowski T, Konturek PK, Majka J, Dembinski A. Role of salivary glands and epidermal growth factor (EGF) in gastric secretion and mucosal integrity in rats exposed to stress. *Regul Pept* 1991; 32:203–215.
181. Urist MR. The first three decades of bone morphogenetic protein. *Osteologie* 1996; 4:207–233.
182. Mustoe TA, Pierce GF, Thomason A, Gramates P, Sporn MB, D'Amico TF. Accelerated healing of incisional wounds in rats induced by transforming growth factor- β . *Science* 1987; 237: 1333–1336.
183. Sikiric P, Seiwerth S, Deskovic S, Grabarevic Z, Marovic A, Rucman R, et al. New model of cytoprotection/adaptive cytoprotection in rats: endogenous small irritants, antiulcer agents and indomethacin. *Eur J Pharmacol* 1999; 364:23–31.
184. Szabo S, Trier JS, Brown A, Schnoor J. Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. *Gastroenterology* 1985; 88:228–236.
185. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, et al. Pentadecapeptide BPC 157 positively affects both non-steroidal anti-inflammatory agent-induced gastrointestinal lesions and adjuvant arthritis in rats. *J Physiol (Paris)*. 1997; 91:113–122.
186. Prkacin I, Aralica G, Perovic D, Separovic J, Gjurasin M, Lovric-Bencic M, et al. Chronic cytoprotection: pentadecapeptide BPC 157, ranitidine and propranolol prevent,

- attenuate and reverse the gastric lesions appearance in chronic alcohol drinking rats. *J Physiol (Paris)* 2001; 95:295–301.
187. Pawlik WW, Sikiric P, Brzozowski T, Seiwerth S, Drozdowicz D, Pajdo R, et al. Acceleration of ulcer healing by pentadecapeptide BPC 157 in rats. Involvement of endogenous prostaglandins and gastric secretion. *Gastroenterology* 2004; 126:A541.
188. Grabarevic Z, Tisljar M, Artukovic B, Bratulic M, Dzaja P, Seiwerth S, et al. The influence of BPC 157 on nitric oxide agonist and antagonist induced lesions in broiler chicks. *J Physiol (Paris)* 1997; 91:139–149.
189. Wetscher GJ, Perdakis G, Kretchmar DH, Stinson RG, Bagchi D, Redmond EJ, et al. Esophagitis in Spreague-Dawley rats is mediated by free radicals. *Dig Dis Sci* 1995; 40:1297–1305.
190. Sikiric P, Seiwerth S, Brcic L, Boban Blagaic A, Zoricic I, Sever M, et al. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 in trials for inflammatory bowel disease (PL-10, PLD-116, Pliva, Croatia). Full and distended stomach, and vascular response. *Inflammopharmacology* 2006; 14:1–8.
191. Szabo S, Neumeyer JL. Dopamine agonists and antagonists in duodenal ulcer disease. In: Kaiser C, Kebackian W, editors. *ACS Symposium Series Vol. 224*. Washington: American Chemical.
192. Okabe S, Takinami Y, Iwata K, Yanagawa T. Mucosal protective effect of leminoprazole on reflux esophagitis induced in rats. *Jpn J Pharmacol* 1995;69:317–323.
193. Nakamura K, Ozawa Y, Furuta Y, Miyazaki H. Effects of sodium polyacrylate (PANa) on acute esophagitis by gastric juice in rats. *Jpn J Pharmacol* 1982; 32:445–456.
194. Erceg D, Simicevic VN, Kolega M, Dohoczky C. Some aspects of the effects of PL-10.AK-15 on the gastrointestinal tract. *J Physiol* 1997;91:179–181.

195. Veljaca M, Lesch CA, Pllana R, Sanchez B, Chan K, Guglietta A. BPC-15 reduces trinitrobenzene sulfonic acid-induced colonic damage in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 272:417–422.
196. Sikiric P, Seiwerth S, Aralica G, Perovic D, Staresinic M, Anic T, et al. Therapy effect of antiulcer agents on new chronic cysteamine colon lesion in rat. *J Physiol (Paris)* 2001; 95:295–301.
197. Sandor Z, Vincze A, Jadus MR, Brajsa K, Kolega M, Szabo S. The protective effect of newly isolated peptide PL-10 in the iodoacetamide colitis in rats. *Gastroenterology* 1997; 112:A400.
198. Holzer P. Capsaicin: Cellular targets, mechanisms of action and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol Rev* 1991;43: 143–201.
199. Tomita R, Tanjoh K, Fujisaki S, Fuzukawa M. Physiological studies on nitric oxide in the lower esophageal sphincter of patients with reflux esophagitis. *Hepatogastroenterology* 2003; 50:110–114.
200. DeValult K, Rattan S. Physiological role of neuropeptides in gastrointestinal smooth muscle sphincters: Neuropeptide and VIF-nitric oxide interaction. In: Walsh JH, Dockray GJ, editors. *Gut peptides: biochemistry and physiology*. New York: Raven Press, Ltd.; 1994. p. 715–747.
201. Turkovic B, Sikiric P, Seiwerth S, Mise S, Anic T, Petek M, et al. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 studied for inflammatory bowel disease (PLD-116, PL14736, Pliva) induces nitric oxide synthesis. *Gastroenterology* 2004; 126:A287.
202. Whittle BJR, Boughton-Smith NK, Moncada S. Biosynthesis and role of the endothelium-derived vasodilator, nitric oxide in gastric mucosa. *Ann N Y Acad Sci* 1992; 664:126–139.

203. Sikiric P, Separovic J, Anic T, Buljat G, Mikus D, Seiwerth S, et al. The effect of pentadecapeptide BPC 157, H₂-blockers, omeprazole and sucralfate on new vessels and new granulation tissue formation. *J Physiol (Paris)* 1999; 93:479–485.
204. Tohoyama Y, Sikiric P, Diksic M. Effects of antiulcer pentadecapeptide BPC157 on regional serotonin synthesis in rat brain: α -methyl-L-tryptophan autoradiographic measurements. *Life Sci* 2004; 76:345–357.
205. Boban Blagaic A, Blagaic V, Mirt M, Jelovac N, Dodig G, Rucman R, et al. Gastric pentadecapeptide BPC 157 effective against serotonin syndrome in rats. *Eur J Pharmacol* 2005; 512: 173–179.
206. Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, Petek M, Marovic A, Perovic D, et al. Pentadecapeptide BPC 157 attenuates disturbances induced by neuroleptics: the effect on catalepsy and gastric ulcers in mice and rats. *Eur J Pharmacol* 1999; 379:19–31.
207. Sikiric P, Separarovic J, Buljat G, Anic T, Stancic-Rokotov D, Mikus D, et al. Gastric mucosal lesions induced by complete dopamine system failure in rats. The effects of dopamine agents, ranitidine, atropine, omeprazole and pentadecapeptide BPC 157. *J Physiol (Paris)* 2000; 94:105–110.
208. Sikiric P, Marovic A, Matoz W, Anic T, Buljat G, Mikus D, et al. A behavioural study of the effect of pentadecapeptide BPC 157 in Parkinson's disease models in mice and gastric lesions induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *J Physiol (Paris)* 1999; 93:505–512.
209. Cucchiara S, Minella R, Campanozzi A, Salvia G, Borrelli O, Ciccimarra E, et al. Effects of omeprazole on mechanisms of gastroesophageal reflux in childhood. *Dig Dis Sci* 1997; 42:293–299.

210. Smout AJ, Bogaard JW, van Hattum J, Akkermans LM. Effects of cimetidine and ranitidine on interdigestive and postprandial lower esophageal sphincter pressures and plasma gastrin levels in normal subjects. *Gastroenterology* 1985; 88:557–563.
211. Baxter JN, Jenkens SA, Day DW, Roberts DC, Cowelt DC, Mackie CR, Shields R: Effects of somatostatin and long-acting somatostatin analogue on the prevention and treatment of experimentally induced acute pancreatitis in rats. *Br J Surg* 1985; 72: 382-385.
212. Sikiric P, Rotkvic I, Mise S, Krizanac S, Gjuris V, Jagic V, Suchanek E, Petek M, Udovicic I, Geber J, Tucan- Foretic M, Cvitanovic B, Ivanovic D, Marovic A: The influence of dopamine receptor agonists and antagonists on acute pancreatitis in rats. *Eur J Pharmacol* 1988; 147: 321- 326.
213. Guglietta A: Possible clinical use of peptide growth factors in the GI tract: Perspectives and obstacles. *Exp Clin Gastroenterol* 1993; 3: 1- 6.
214. Eastham RD: *Biochemical values in clinical medicine*. London, John Wright & Son, 1978.
215. Sakanoue Y, Kusunoki M, Shoji Y, Janagi H, Yamamura T, Utsunomiya J: Transitory elevation of serum amylase levels after restorative proctocolectomy. *Int J Colorect Dis* 1992; 7: 210- 213.
216. Geokas MC, Baltaxe HA, Banks PA, Silva J, Frey CF: Acute pancreatitis. *Ann Intern Med* 1985; 103: 86- 100.
217. Chvanov M*, Petersen OH, Tepikin A: Free radicals and the pancreatic acinar cells: role in physiology and pathology. *Phil. Trans R Soc* 2005; B 360: 2273–2284.
218. Durr GHK: Therapeutic trials in acute pancreatitis. German experience. *Gastroenterol Clin Biol* 1978; 11: 951- 954.
219. MCR Multicentre Trial: Death from acute pancreatitis. *Lancet* 1977; 2: 632.

220. Papp M: Pancreatic cytoprotection: new approaches. *In* Cell injury and protection in the Gastrointestinal Tract. From basic sciences to clinical perspectives. Gy Mozsik, A Par, G Csomos, M Kitajima, M Kondo, CJ Pfeiffer, KD Rainsford, P Sikiric, S Szabo (eds). Budapest, Akademiai Kiado 1992; 399- 406.
221. Kusterer K, Enghofer M, Poschmann T, Usadel KH: The effect of somatostatin, gabexate mesilate and dextran 40 on the microcirculation in sodium taurocholate- induced pancreatitis. *In* Cell injury and protection in the Gastrointestinal Tract. From basic sciences to clinical perspectives. Gy Mozsik, A Par, G Csomos, M Kitajima, M Kondo, CJ Pfeiffer, KD Rainsford, P Sikiric, S Szabo (eds). Budapest, Akademiai Kiado 1992; 407- 415.
222. Veljaca M, Lesch CA, Sanchez B, Low J, Guglietta A. Protection of BPC 157 ob TNBS- induced colitis in rats: Possible mechanisms of action. *Gastroenterology* 1995; 108: 936.
223. Seiwerth S, Grabarevic Z, Danilovic Z, Djacic S, Sikiric P, Cviko A, Kolega M: The influence of BPC 157 on incisional wound healing. *Pathol Res Pract* 189: 809- 810, 1993
224. Krieger DT: Brain peptides: What, where and why? *Science* 222: 975- 985, 1983
225. Imrie CW, Blumgart LH: Glucagon therapy an acute pancreatitis. *Br Med J* 1974; 11: 38- 39.
226. Manabe T, Steer ML: Protective effect of PGE₂ on diet induced acute pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 1980; 78: 777- 781.
227. Szabo S, Usadel KH: Cytoprotection- organoprotection by somatostatin: Gastric and hepatic lesions. *Experientia* 1982; 38: 254- 256.
228. Senecic I, Sikiric P, Giljanovic S: The effects of somatostatin on stress induced gastric lesion in mice. *Exp Clin Gastroenterol* 1991; 1: 171- 173.

229. Schmidt KL, Miller TA: Cytoprotection: Fact or fancy? The morphologic basis of gastric protection by prostaglandins. *Exp Clin Gastroenterol* 1991; 1: 119- 132.
230. Thompson J, Greeley GH Jr, Rayford PL, Twonsed CM Jr: *Gastrointestinal Endocrinology*. New York, McGraw- Hill, 1987.
231. Liu EH, Oberg K. The history and development of the gastroenteropancreatic endocrine axis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010 Dec; 39(4):697-711.
232. Demidov VM , Demidov SM, Tsipovyaz SV et al.: On the problem of the mechanisms of realization of a correcting effect of liposomal forms of analogs of neuropeptides under experimental conditions of various forms upon modulation of the activity of the sympathetic and parasympathetic parts of the autonomic nervous system. *Arkh. Klin. Eksp 2000 Med* 9; 1: 119-122.
233. A. G. Guyton and J. E. Hall, *Medical Physiology*, Probson and Sons Publish Agency, Delhi, 1997.
234. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Ručman R, Petek M, Rotkvic I, Turkovic B, Jagic V, Mildner B, Duvnjak M, et al.: Hepatoprotective effect of BPC 157, a 15-amino acid peptide, on liver lesions induced by either restraint stress or bile duct and hepatic artery ligation or CCl₄ administration. A comparative study with dopamine agonists and somatostatin. *Life Sci* 1993; 53(18): PL291- 6.
235. Cuthbertson CM, Christophi C: Disturbances of the microcirculation in acute pancreatitis. *British Journal of Surgery* 2006; 93: 518–530.
236. Bhatnagar A, Vig JD, Majumdar S: Immunological findings in acute and chronic pancreatitis. *ANZ J. Surg* 2003; 73: 59–64.
237. Takubo K, Honma N, Aryal G, Sawabe M, Arai T, Tanaka Y, Mafune K, Iwakiri K: Is there a set of histologic changes that are invariably reflux associated? *Arch Pathol Lab Med*. 2005 Feb; 129(2):159-63.

238. Fein M, Peters JH, Chandrasoma P, Ireland A, Oberg S, Ritter MP, 211. D., Cedric G. Bremner CG, Hagen JA, DeMeester TR: Duodeno-esophageal Reflux Induces Esophageal Adenocarcinoma Without Exogenous Carcinogen *J Gastrointest Surg* 1998; 2:260-268.
239. Tobey NA, Powell DW, Schreiner VJ, Orlando RC. Serosal bicarbonate protects against acid injury to rabbit esophagus. *Gastroenterology* 1989; 96:1466-1477.
240. Geboes K, Desmet V, Vantrappen G, Mebis J. Vascular changes in the esophageal mucosa: an early histologic sign of esophagitis. *Gastrointest Endosc* 1980; 26:29-32.
241. Zijlstra FG, Hynna-Liepert TT, Dinda PK, Beck IT, Paterson WC. Microvascular permeability increases early in the course of acid-induced esophageal injury. *Gastroenterology* 1991; 101:295-302.
242. Ronkainen J, Aro P, Storskrubb T, Johansson SE, Lind T, Bolling-Sternevald E, Graffner H, Vieth M, Stolte M, Engstrand L, Talley NJ, Agréus L. High prevalence of gastroesophageal reflux symptoms and esophagitis with or without symptoms in the general adult Swedish population: a Kalixanda study report. *Scand J Gastroenterol* 2005 Mar; 40(3):275-85.
243. Armstrong D. Endoscopic evaluation of gastro-esophageal reflux disease. *Yale J Biol Med* .1999 Mar-Jun; 72(2-3):93-100.
244. Nakamura T, Shirakawa K, Masuyama H, Sugaya H, Hiraishi H, Terano A. Minimal change oesophagitis: a disease with characteristic differences to erosive oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2005 Jun; 21 (2):19-26.

11. ŽIVOTOPIS AUTORA

Ivan Dobrić, dr. med. rođen je u Zagrebu, 1. ožujka 1973. godine. U Zagrebu je završio osnovnu, a nakon toga 1991. godine i srednju školu. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao je 1991. godine, a diplomirao je 1997. godine. Obvezni liječnički staž obavio je Kliničkoj bolnici Dubrava. Tijekom 1999. i 2000. godine u istoj je bolnici, radio kao liječnik u Klinici za kirurgiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Godine 2001. započinje specijalizaciju iz opće kirurgije u Klinici za kirurgiju KBC Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Specijalistički ispit iz kirurgije položio je 2006. godine. Zaposlen je u istoj Klinici na Zavodu za traumatologiju i koštano-zglobnu kirurgiju, Godine 2009. položio je subspecijalistički ispit iz traumatologije. Završio je i doktorski studij Medicinske znanosti na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Godine 2008. izabran je u Katedri za kirurgiju u suradničko zvanje naslovnog asistenta, te sudjeluje u izvođenju obvezne i izborne dodiplomske nastave. Međunarodni je instruktor AO fondacije (Davos, Švicarska), kroz koju izravno, kao predavač redovito sudjeluje u edukaciji traumatologa i ortopeda širom Hrvatske i Europe.

Objavio je više stručnih i znanstvenih radova, od kojih su četiri objavljena u časopisima indeksiranim u Current Contents. Aktivno je sudjelovao je na brojnim kongresima u zemlji i inozemstvu, kako iz kliničke, tako i iz problematike eksperimentalne kirurgije. Oženjen je. Ima jednu kćer. Stalno živi u Zagrebu.