

# Neuroleptici, donji jednjačni i pilorički sfinkter, sustav dušik oksida i pentadekapeptid BPC 157

---

**Belošić Halle, Željka**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2015**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:801405>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-23**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Željka Belošić Halle**

**Učinak antipsihotika i  
pentadekapeptida BPC-157 na donji  
ezofagusni i pilorusni sfinkter u  
štakora**

**DISERTACIJA**



**Zagreb, 2015.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Željka Belošić Halle**

**Neuroleptici, donji jednjačni i  
pilorički sfinkter, sustav dušik oksida  
i pentadekapeptid BPC 157**

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2015.**

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

Mentor: prof. dr. sc. Predrag Sikirić

*Zahvaljujem svom mentoru, prof. dr.sc. Predragu Sikiriću na beskrajnom strpljenju, upornosti, stručnom vodstvu, razumijevanju i podršci tijekom realizacije ovog rada.*

*Također zahvaljujem mojoj obitelji što su se odricali i oduvijek me samo podržavali u onom što sam željela.*

*i Deanu, a on najbolje zna zašto,,,*

## SADRŽAJ

1.0. Uvod i svrha rada.....	1
1.1. Definicija problema.....	2
1.2. Svrha rada.....	3
1.3. Pregled dosadašnjih spoznaja .....	4
1.3.1. Antipsihotici.....	4
1.3.1.1. Klasifikacija antipsihotika .....	4
1.3.1.2. Klinički učinci.....	6
1.3.1.3. Nepoželjni učinci .....	7
1.3.1.3.1. Akutne distonične reakcije.....	8
1.3.1.3.2. Tardivna diskinezija.....	8
1.3.1.4. Antipsihotici u oštećenju sluznica, utjecaj dopamina .....	12
1.3.2. Peptidergička citoprotekcija (protekcija i citoprotekcija) i pentadekapeptid BPC-157.....	25
1.3.3. Dušični oksid i gastrointestinalni sustav .....	26
1.3.4. Pentadekapeptid BPC-157 i peptidni lijekovi.....	29
1.3.4.1. Općenito o BPC-157 i peptidnim lijekovima .....	29
1.3.4.2. Pentadekapeptid BPC-157 i NO sustav .....	31
1.3.5. Pentadekapeptid BPC-157, gastrointestinalne lezije, interakcija s dopaminergičkim sustavom .....	32
1.3.6. Donji ezofagusni i pilorusni sfinkter .....	33
1.3.7. BPC-157, utjecaj na sfinktere .....	38
2.0. Hipoteza.....	39
3.0. Ciljevi rada .....	41
3.1. Opći cilj:.....	42
3.2. Specifični ciljevi: .....	42
4.0. Materijali i metode.....	43
4.1. Pokusne životinje .....	44
4.2. Pentadekapeptid BPC-157.....	44
4.3. Lijekovi .....	44
4.4. Protokol primjene lijekova .....	45

4.5. Tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera .....	48
4.6. Usmrcivanje životinja.....	49
4.7. Statistička obrada.....	49
5.0. Rezultati .....	50
5.1. Utjecaj centralnih dopaminskih antagonista na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera .....	51
5.1.1. Haloperidol.....	51
5.1.2. Klorpromazin, levomepromazin, flufenazin, klozapin, olanzapin, kvetiapin, sulpirid .....	53
5.2. Utjecaj perifernih dopaminskih antagonista na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera .....	62
5.3. Utjecaj sustava dušičnog oksida na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera .....	63
6.0. Rasprava.....	67
6.1. Utjecaj centralnih dopaminskih antagonista na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera .....	68
6.2. Utjecaj perifernih dopaminskih antagonista na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera .....	71
6.3. Utjecaj doze BPC-157 na antagonizaciju pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera izazvanu primjenom centralnih i perifernih antagonista dopaminskih receptora .....	72
6.4. Utjecaj sustava dušičnog oksida na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera .....	72
7.0. Zaključci .....	75
8.0. Sažetak .....	77
9.0. Summary.....	79
10.0. Životopis.....	81
11.0. Literatura.....	85

## Popis oznaka i kratica

DA	dopamin
DES	donji ezofagusni sfinkter
GABA	$\gamma$ -aminobutrična kiselina
GERB	gastroezofagealna refluksna bolest
i.p.	intraperitonealna primjena
i.v.	intravenska primjena
L-NAME	N-dušik-L-arginin-metilester
L-NMMA	N-monometil-arginin
MPTP	1-metil-4-fenil1,2,3,6-tetrahidropiridin
NANC	neadrenergički nekolinergički sustav
NO	dušični oksid
NOS	sintetaza dušičnog oksida
nNOS	neuronalna sintetaza dušičnog oksida
eNOS	endotelijalna sintetaza dušičnog oksida
iNOS	inducibilna sintetaza dušičnog oksida
NSAR	nesteroidni antireumatici
PS	pilorusni sfinkter
VIP	vazointestinalni peptid
5-HT	5-hidroksitriptamin

## **1.0. Uvod i svrha rada**



## 1.1. Definicija problema

Do sada ne postoji istovremeno istraživanje učinka antipsihotika na tlak donjeg ezofagusnog (DES) i pilorusnog sfinktera (PS). Općenito, utjecaj lijekova na tlak DES-a te poglavito na tlak PS-a nije do kraja poznat. Različiti lijekovi mogu uzrokovati ozljedu ezofagusa, dovesti do gastroezofagealne refluksne bolesti (GERB) snižavanjem tonusa DES-a ili mogu poremetiti perceptivnu funkciju ezofagusa s poremećajem motiliteta (1). Navedeno je do sada najčešće opisivano u pojedinačnim slučajevima ili kod manjih skupina bolesnika. Poznato je da poremećaj motiliteta ezofagusa raste proporcionalno s porastom stupnja GERB-a što upućuje na ulogu oštećenja sluznice u učinkovitosti mišićne kontrakcije i koordinacije (2). S druge strane, primjena nekih lijekova, kao što su na primjer nesteroidni antireumatici (NSAR) i acetilsalicilna kiselina, koji uzrokuju oštećenja ne samo sluznice želuca već i sluznice ezofagusa, može dovesti do nastanka GERB-a snižavajući tonus DES-a (3).

Dosadašnji ograničeni broj istraživanja je redovito fokusiran na učinak na DES, dok u navedenom kontekstu, učinak na pilorusni sfinkter nije bio predmet istraživanja. Općenito, mehanizam regulacije tonusa pilorusnog sfinktera nije do kraja poznat. Čini se da je pilorusni sfinkter dio gastroduodenalnog kontinuiteta, ali nedavna istraživanja antropilorusne transpozicije na aboralni dio sigmoidne kolostome ukazuju da pilorus može funkcionirati i kao tonički sfinkter (4). S druge strane, mehanizam inervacije, odnosno čimbenici koji utječu na održavanje tonusa sfinktera je također predmet intenzivnog istraživanja kao i receptori koji se nalaze u sfinkterima. Poznato je da, izuzev autonomnog živčanog sustava, u relaksaciji i kontrakciji sfinktera ulogu ima i neadrenergički nekolinergički sustav (NANC) s dušičnim oksidom (NO) kao finalnim transmitterom. Do sada je uloga NO sustava vezana uglavnom za utvrđivanje relaksacije DES-a kod primjene inhibitora sintetaze dušičnog oksida (NOS), N dušik-L-arginin-metilestera (L-NAME). Uočeno je, međutim da NO sustav igra ulogu i u želučanom motilitetu inhibirajući želučani motilitet preko nervusa vagusa (5).

Od posebne je važnosti spomenuti da do sada ne postoje istraživanja koja istovremeno istražuju učinak blokade NOS i/ili primjene supstrata NOS - L-arginina na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera.

Antipsihotici blokiraju periferne i centralne dopaminske receptore, a dovode i do oštećenja sluznice želuca, dvanaesnika i ezofagusa (6). Uloga dopamina u zaštiti sluznice odnosno u citoprotekciji je dobro poznata (7). Dopamin smanjuje lučenje agresivnih čimbenika poput želučane kiseline, pepsina, gastrina, dok, s druge strane, potiče lučenje zaštitnih faktora poput sluzi, bikarbonata i prostanglandina (8, 9).

Pentadekapeptid BPC-157 je aktivni dio želučanog peptida BPC. BPC-157 ima učinak na sfinktere, antirefluksni učinak u zdravih životinja, dok u životinja sa smanjenim tonusom sfinktera povećava tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera (10). BPC-157 smanjuje nastanak želučanih i duodenalnih lezija (ulceracija i erozija) u gastrointestinalnom sustavu eksperimentalnih životinja izazvanih primjenom različitih ulcerogenih tvari uključujući i antipsihotike, dovodi do oslobađanja NO u želučanoj sluznici štakora, umanjuje katalepsiju izazvanu primjenom antipsihotika (haloperidola), te somatosenzorne poremećaje nakon primjene sulpirida i klozapina (6, 11).

Imajući u vidu navedeno, bilo bi vrijednim spoznati na koji su način lijekovi za koje je prije pokazano da dovode do nastanka ulceracija, a koji su ujedno blokatori centralnih i perifernih dopaminskih receptora, uključeni u tonus navedenih sfinktera, odnosno koja je uloga sustava dušičnog oksida u kontrakciji i relaksaciji DES-a i pilorusnog sfinktera.

Potencijalne nove terapijske mogućnosti liječenja insuficijencije donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera, a koje su još uvijek relativno ograničene, bi dale značajnu znanstvenu novost i doprinos.

## **1.2. Svrha rada**

Svrha ovog istraživanja je provjeriti da li antipsihotici dovode do istovremenog pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera. Učinak će se pokazati kod primjene različitih doza haloperidola te pojedinačnih doza kvetiapina, olanzapina, sulpirida, flufenazina, klorpromazina, klozapina, levomepromazina, odnosno antiemetika metoklopramida i domperidona.

Utvrđiti će se mogućnost antagoniziranja pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera uzrokovanog s antipsihoticima primjenom BPC-157 (antagonizirajući učinak BPC-157).

Nadalje će se ispitati da li je terapijski učinak BPC-157 ovisan o primjenjenoj dozi samog BPC-157 kao i da li je učinak posredovan sustavom dušičnog oksida primjenom L-NAME i/ili L-arginina.

### **1.3. Pregled dosadašnjih spoznaja**

#### **1.3.1. Antipsihotici**

Antipsihotici ili neuroleptici su lijekovi koji se najčešće upotrebljavaju u liječenju shizofrenije, ali i drugih psihotičnih stanja. Povratak psihotičnog bolesnika u stvarnost postiže se otklanjanjem sumanutih ideja, halucinacija i reorganizaciji psihičkih funkcija. Budući da imaju sposobnost izazivanja psihomotorne sedacije i emocionalno-afektivne relaksacije, stanja poznatog kao neurolepsija ili neuroleptički sindrom, su na početku bili nazvani neuroleptici. Antipsihotici smanjuju dopaminergičku i/ili serotoninergičku neurotransmisiju, odnosno antagonisti su dopaminskih receptora. Mnogi od njih djeluju i na druge neurotransmitske receptore, osobito na receptore za 5-hidroksitriptamin (5-HT). Danas je u kliničkoj upotrebi više od 20 različitih antipsihotika (12, 13).

##### **1.3.1.1. Klasifikacija antipsihotika**

Postoji nekoliko različitih klasifikacija antipsihotika. Najčešće upotrebljavana je podjela na tradicionalne ili tipične antipsihotike koji su antipsihotici prve generacije i antipsihotike druge generacije ili atipične antipsihotike. Razlika između tipičnih i atipičnih antipsihotika nije jasno definirana već se temelji na razlici u vezanju za različite receptore, razlici u incidenciji izazivanja ekstrapiramidnih nuspojava, razlici u djelotvornosti kod bolesnika otpornih na terapiju i razlici u djelovanju na negativne simptome shizofrenije.

Tipični antipsihotici su kompetitivni inhibitori različitih receptora, ali prvenstveno djeluju na dopaminergičke D<sub>2</sub> receptore u nigrostrijatalnom sustavu, češće uzrokuju ekstrapiramidne nuspojave i nemaju učinak na negativne simptome shizofrenije.

Atipični antipsihotici, osim na dopaminske receptore, djeluju i na serotoninske 5-HT receptore. Iz tog razloga je pojava ekstrapiramidnih simptoma kod njih rjeđa.

Prema afinitetu za pojedine neurotransmitske receptore razlikujemo:

- selektivne dopaminske antagoniste (sulpirid);
- antipsihotike u kojih prevladava blokada dopaminskih (DA) receptora nad blokadom 5-HT receptora (haloperidol);
- serotoninsko-dopaminske antagoniste ili SDA antipsihotike u kojih prevladava blokada 5-HT<sub>2</sub> receptora nad blokadom DA receptora (risperidon);
- antagoniste više vrsta receptora ili MARTA antipsihotike (klozapin, olanzapin);
- dopaminske stabilizatore (aripiprazol).

U zaključku, razlikujemo tri generacije antipsihotika:

- antipsihotici prve generacije (klorpromazin, promazin, perazin, flufenazin, haloperidol) koji djeluju prvenstveno na pozitivne simptome shizofrenije. Bolesnici ih slabije podnose jer je primjena praćena kardiovaskularnim te ranim i kasnim ekstrapiramidnim nuspojavama;
- antipsihotici druge generacije (sulpirid, klozapin, tioridazin) sa proširenim terapijskim učinkom koji obuhvaća i negativne simptome shizofrenije koji imaju manje ekstrapiramidnih nuspojava u odnosu na prvu generaciju antipsihotika;
- antipsihotici treće generacije (risperidon, olanzapin, kvetiapin, ziprasidon) su rezultat ciljane potrage za antipsihotikom s što manje nuspojava radi povećanja sigurnosti i podnošljivosti antipsihotične terapije (13, 14, 15).

Općenito, mehanizam djelovanja antipsihotika je blokada centralnih i perifernih dopaminskih receptora te blokada serotoninskih receptora u mozgu. Izuzev na navedene, antipsihotici u različitoj mjeri djeluju i na mnoge druge receptore kao što su: kolinergički,  $\alpha$ -adrenergički, histaminski (slika 1).

Do sada je identificirano više podvrsta dopaminskih receptora; D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub>, D<sub>5</sub>. Antipsihotici prve generacije imaju najveći afinitet prema D<sub>2</sub> receptorima dok antipsihotici druge generacije kao npr. klozapin imaju veći afinitet prema D<sub>4</sub> receptorima čime se može objasniti manja pojavnost ekstrapiramidnih

nuspojava. Jedinstveno obilježje antipsihotika druge generacije je blokada i serotoninskih receptora u mozgu te manja pojavnost ekstrapiramidnih nuspojava. Naime, inhibitorni efekt dopaminergičkih neurona je u ravnoteži s ekscitatornim djelovanjem kolinergičkih neurona. Blokada dopaminskih receptora dovodi do prevage kolinergičkog utjecaja zbog čega se pojavljuju distonične reakcije, simptomi slični parkinsonovoj bolesti, tardivna diskinezija te akatizija (slika 2).

Izuzev aripiprazola i tioridazina, antipsihotici se zbog blokade D<sub>2</sub> dopaminskih receptora u kemoreceptorskoj okidačkoj zoni u produženoj moždini, upotrebljavaju i kao antiemetici.

Unatoč brojnim dokazima, veza između njihove specifičnosti za receptore i terapijskih učinaka i dalje ostaje nerazjašnjena (16).

### **1.3.1.2. Klinički učinci**

Antipsihotici kod ljudi izazivaju apatiju i smanjuju inicijativu. Osobe koje ih upotrebljavaju pokazuju malo emocija i sporo odgovaraju na vanjske podražaje, ali nije uočeno znatnije oštećenje intelektualne funkcije. Učinci antipsihotika se razlikuju od učinaka sedativa i hipnotika koji izazivaju pospanost i konfuznost uz euforiju, ali bez apatije. Zbog antagonizma na dopaminskim receptorima, brojni antipsihotici imaju i antiemetski učinak. Budući da antipsihotici smanjuju spontanu motoričku aktivnost, u većim dozama dovode do katalepsije, stanja u kojem eksperimentalne životinje ostaju nepomične kad ih se smjesti u neprirodan položaj. Prvi učinak je najvjerojatnije posljedica blokade D<sub>2</sub> receptora u mezokortikalnim i/ili mezolimbickim putevima, a drugi u nigrostrijatalnim putevima.

Kliničke učinke antipsihotika možemo svrstati u nekoliko skupina:

*antipsihotični učinak* – najvažniji učinak ove skupine lijekova. Očituje se otklanjanjem sumanutih ideja i halucinacija uspostavljanjem sklada psihičkih funkcija i povratkom bolesnika u realnost;

*antimanični učinak* – za pojedine se antipsihotike, poput haloperidola, tvrdi da imaju i dobar antimanični učinak. U kontroliranim kliničkim pokusima je potvrđeno da noviji antipsihotici, kao npr. olanzapin, mogu stabilizirati raspoloženje;

*anksiolitički učinak* – najčešće kao alternativa benzodiazepinima ili u kombinaciji s njima;

*antidepresivni učinak* – pojedini antipsihotici (sulpirid, klozapin, risperidon, olanzapin) imaju antidepresivni učinak dok drugi (haloperidol, flufenazin) mogu uzrokovati tzv. depresivni pomak;

*sedativni učinak* – prisutan je u nekih antipsihotika zbog čega se još nazivaju i veliki trankvilizatori. U agitiranih bolesnika ovakav učinak je poželjan, ali u terapiji održavanja kod mnogih bolesnika može predstavljati nepoželjni učinak;

*antiagresivni učinak* – navodi se da antipsihotici poput klozapina, risperidona i olanzapina imaju specifični antiagresivni učinak koji se ne može objasniti samo sedacijom i općim antipsihotičnim učinkom;

*antiemetički učinak* – povijesno najstariji učinak antipsihotika koji je najjače izražen kod klorpromazina, sulpirida i haloperidola;

*antivertiginozni učinak* – iako je mehanizam nepoznat, uočeno je da pojedini antipsihotici poput npr. sulpirida uspješno otklanjaju ili ublažavaju vrtoglavicu. Češće je riječ o psihogenoj nego organskoj vrtoglavici (13, 14, 17).

### **1.3.1.3. Nepoželjni učinci**

Akutne distonične reakcije i tardivna diskinezija su vrste motoričkih poremećaja koje antipsihotici izazivaju kod ljudi. Nazivamo ih ekstrapiramidnim nuspojavama, a mogu biti izravna ili neizravna posljedica blokade D<sub>2</sub> receptora. Ovi učinci su među glavnim nedostacima svih „tipičnih“ antipsihotika. „Atipični“ antipsihotici imaju mnogo manju sklonost izazivanja ekstrapiramidnih nuspojava.

### **1.3.1.3.1. Akutne distonične reakcije**

Akutne distonične reakcije su nevoljni pokreti kao što su spazam mišića, plaženje jezika, fenomen otvorenih usta, lateralna devijacija mandibule, retrokolis, tortikolis, opistotonus i simptomi nalik na Parkinsonovu bolest. Uglavnom se pojavljuju u prvih nekoliko tjedana, smanjuju se s vremenom i nestaju po završetku terapije. Razlog nastanka je blokada dopaminergičnog nigrostrijatalnog puta. Postoje dokazi da je relativna selektivnost atipičnih antipsihotika za mezolimbički/mezokortikalni put zaslužna za manji rizik od nastanka akutnih distoničnih reakcija.

### **1.3.1.3.2. Tardivna diskinezija**

Tardivnu diskineziju čine nevoljni pokreti lica i jezika, ali također i trupa i udova što može teško onesposobiti bolesnika. Incidencija uvelike ovisi o dozi, dobi bolesnika i o vrsti lijeka koji je korišten. Razvija se nakon nekoliko mjeseci ili godina u 20-40% bolesnika liječenih tipičnim antipsihoticima. Ubraja se među najteže nuspojave koje prate terapiju antipsihoticima jer dovodi do invaliditeta, često je ireverzibilna, pogoršava se kod prestanka uzimanja antipsihotika i ne reagira na liječenje.

Postoji nekoliko teorija o mehanizmu nastanka tardivne diskinezije. Prema jednoj od teorija, kronična blokada inhibitornih dopaminskih neurona pojačava otpuštanje katekolamina i/ili glutamata u strijatumu što dovodi do ekscitotoksične degeneracije. Prema drugoj, tardivna diskinezija nastaje zbog postupnog porasta broja D<sub>2</sub> receptora u strijatumu, što je manje izraženo prilikom primjene atipičnih antipsihotika. Nejasno je zašto atipični antipsihotici imaju manju sklonost izazivanja ove nuspojave. Mogući razlog je u razlici i brzini kojom lijekovi disociraju s D<sub>2</sub> receptora (18).

Akinezija se očituje siromaštvom i usporenošću pokreta.

Rigor je karakteriziran mišićnom ukočenošću pri čemu može biti izražen fenomen zupčanika, a može se pojaviti izolirano ili u sklopu neuroleptičkog parkinsonizma.

Tremor su nevoljne mehaničke oscilacije dijelova tijela koje nastaju kao rezultat kontrakcija recipročno inerviranih antagonističkih mišića.

Neuroleptički parkinsonizam se sastoji od hipokinezije, gubitka manualne spretnosti, tremora, rigora mišića, hoda sitnim koracima, pojačanog slinjenja te „lica poput maske“ koji u potpunosti imitiraju Parkinsonovu bolest.

Akatizija predstavlja subjektivni osjećaj nelagode i nemira u mišićima zbog čega bolesnik može biti agitiran. Ako se ne prepoznaju akatizija, nemir i agitacija mogu biti pogrešno protumačeni kao simptomi pogoršanja bolesti zbog čega se bolesniku može povećati doza antipsihotika što će samo još više pogoršati navedeno stanje. Moguće su i vegetativne nuspojave djelovanjem na adrenergički, a osobito na kolinergički sustav. Blokada muskarinskih receptora izaziva različite periferne učinke uključujući zamućenje vida, povećanje očnog tlaka, suhoću usta i očiju, retenciju urina i konstipaciju.

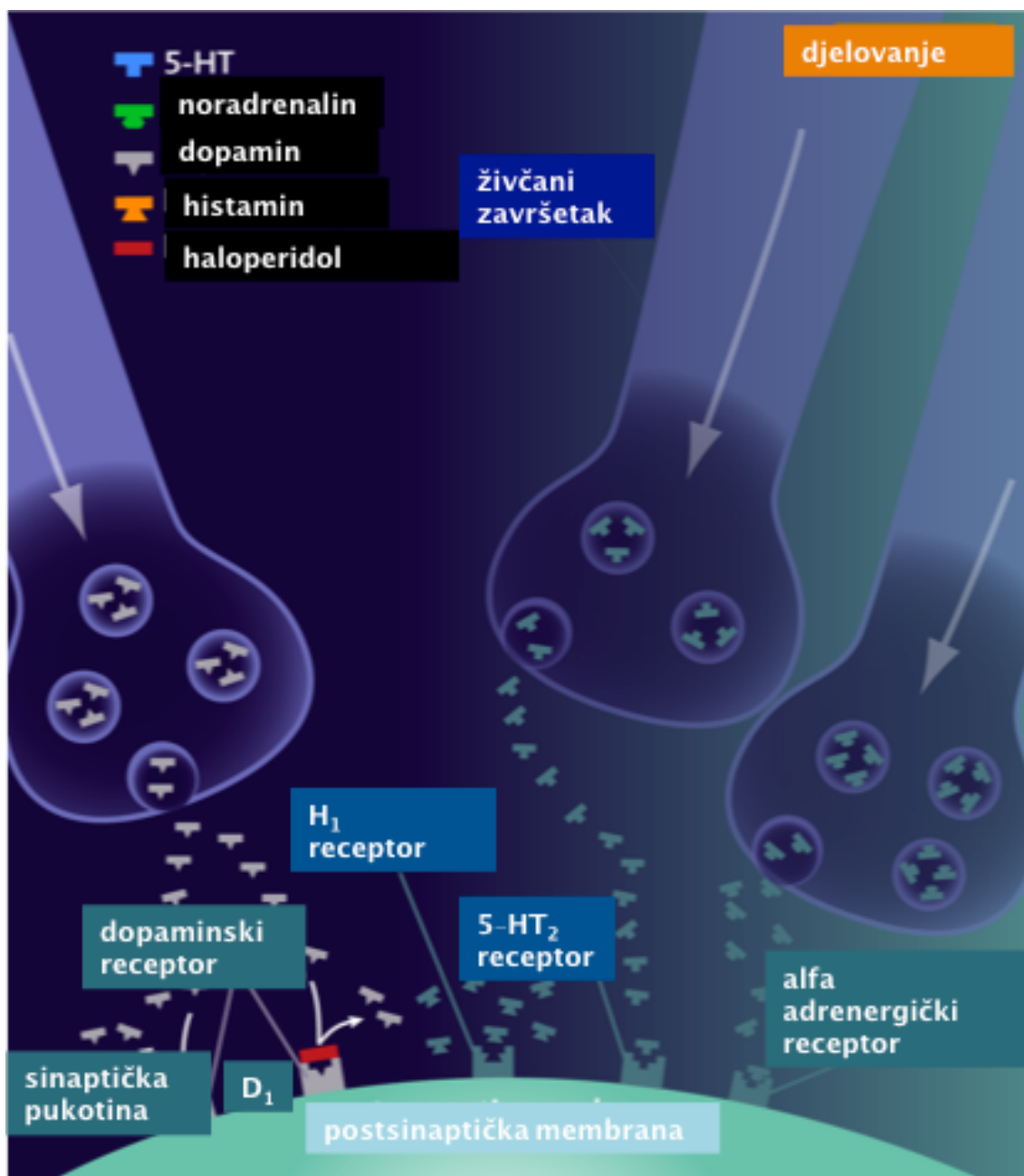
Antipsihotici mogu izazvati i gastrointestinalne nuspojave. Može doći do prolaznog porasta aminotransferaza, a ukoliko je porast dugotrajan mogu izazvati kolestatski ikterus i cirozu jetre. Ipak, žutica je obično blaga i nestaje ubrzo nakon obustavljanja lijeka ili nakon zamjene s lijekom iz druge klase antipsihotika.

Kardiovaskularne nuspojave uključuju ortostatsku hipotenziju, iznenadnu smrt bolesnika koja može biti posljedica kardiotsičnog djelovanja antipsihotika. Opisane su i promjene u elektrokardiogramu kao što su: produljenje QT i PR intervala, zaravnjanje T-vala i depresija ST-segmenta.

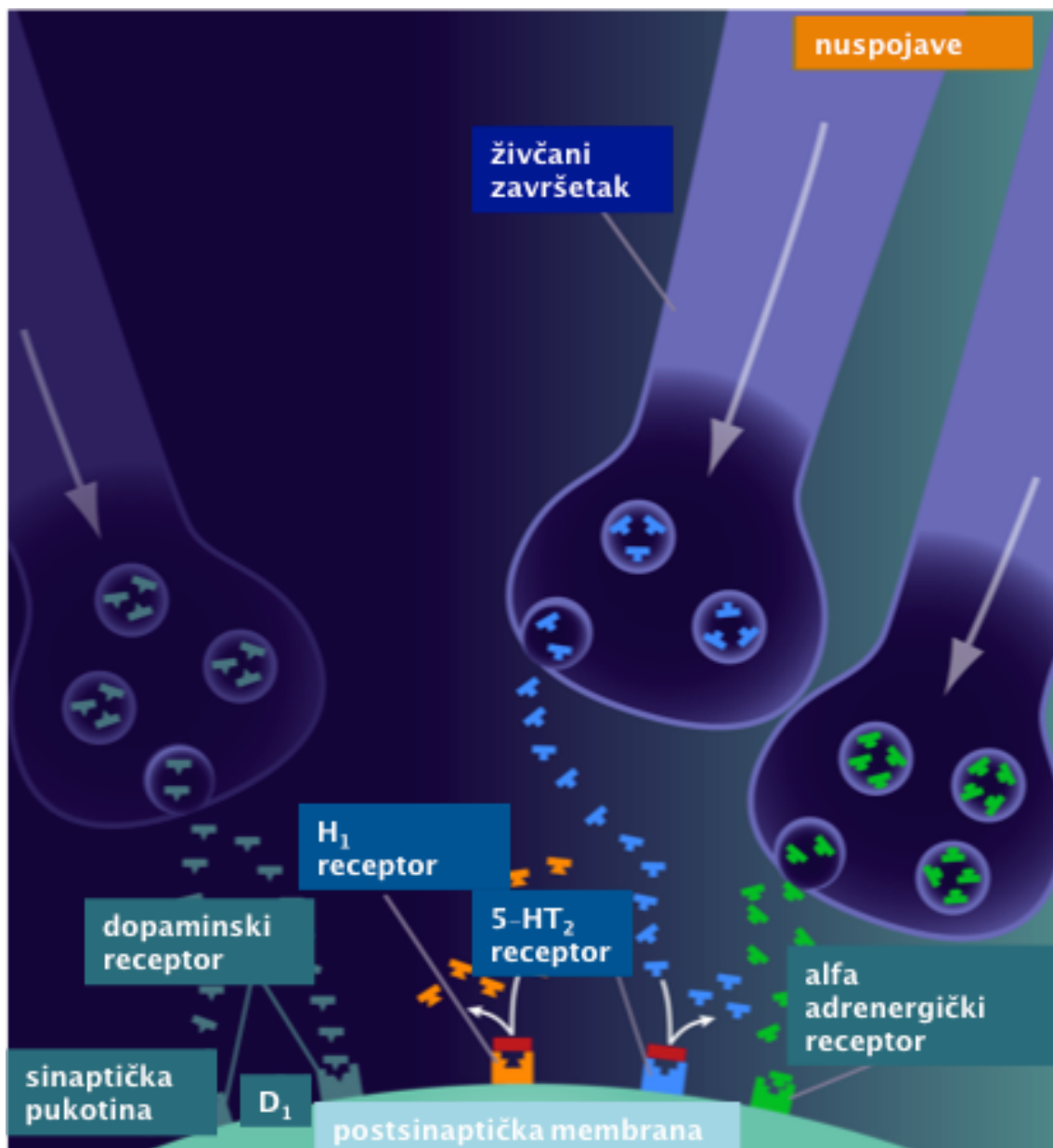
Blokada D<sub>2</sub> receptora antipsihoticima povećava koncentraciju prolaktina u plazmi što može dovesti do oticanja dojki, boli i laktacije kako u muškaraca tako i u žena. U žena se mogu javiti i amenoreja i anorgazmičnost.

Porast tjelesne težine je česta i neugodna nuspojava češća za atipične antipsihotike, a vjerojatno je posljedica antagonizacije 5-HT receptora. Od idiosinkratičnih reakcija i reakcija preosjetljivosti najvažnije su leukopenija, agranulocitoza, promjene na koži u vidu urtikarije te sindrom maligne hipertermije.





Slika 1. Neselektivni antipsihotici se vežu za široki raspon receptora u mozgu; dopaminske D<sub>1</sub> i D<sub>2</sub>, serotoninske 5-HT<sub>2</sub>, histaminske H<sub>1</sub> i α<sub>2</sub>-adrenergičke receptore.



Slika 2. Mehanizam nastanka ekstrapiramidnih nuspojava antipsihotika.

#### 1.3.1.4. Antipsihotici u oštećenju sluznica, utjecaj dopamina

Dopamin je važan enterički neuromodulator. Primjena dopamina i dopaminergičkih lijekova utječe na gastrointestinalni sustav budući da je primjena nekih visoko selektivnih dopaminskih agonista pokazala zaštitni učinak na sluznicu gastrointestinalnog sustava kod parenteralne ili centralne primjene (19). Na osnovi takvih opažanja je postavljena uloga dopamina kao centralnog neuromodulatora u interakciji "mozak-crijevo" (7).

U eksperimentalnom se modelu ulceracije sluznice želuca i dvanaesnika izazivaju na različite načine kao npr: primjenom 100%-og etanola, rezerpina, cisteamina te izlaganjem eksperimentalnih životinja stresu odnosno izlaganjem hladnoći uz rastezanje. Lučenje želučane kiseline se može mjeriti nakon podvezivanja pilorusa (20, 21).

Studije na životinjama i ljudima su pokazale da centralni i periferni dopaminski receptori imaju ulogu u zaštiti želučane sluznice (22, 23, 24). Intravenska ili intraperitonealna primjena antipsihotika s blokadom centralnih dopaminskih receptora, haloperidola, klozapina, metklopramida te primjena domperidona koji blokira periferne dopaminske receptore, dovodi do pogoršavanja stres ulceracija u eksperimentalnih životinja. Zamijećeno je i povećano bazalno lučenje želučane kiseline. S druge strane, primjena agonista dopamina kao što su bromokriptin, L-dopa te apomorfin smanjuje ili sprečava nastanak stres ulceracija (25).

U sluznici želuca i dvanaesnika su identificirana mjesta vezanja dopamina što je potaknulo istraživanje vezanja dopamina u bolesnika s vrijedom dvanaesnika u odnosu na zdrave ispitanike.

Povećano vezanje obilježenog dopamina u sluznici dvanaesnika također pokazuje ulogu dopamina u nastanku vrijeda (26). Obzirom na prisustvo više vrsta dopaminskih receptora, postavilo se pitanje koji su receptori dominantni u nastanku vrijeda želuca i dvanaesnika. Selektivni agonisti D<sub>1</sub> dopaminskih receptora smanjuju nastanak ulceracija želučane sluznice izazvanih stresom i primjenom etanola te smanjuju lučenje želučane kiseline, dok ih, s druge strane, selektivni D<sub>1</sub> antagonisti pogoršavaju kao što dovode i do povećanog lučenja želučane kiseline (27). Centralni dopaminski receptori u mezolimbickom dijelu mozga su najvažniji u zaštiti želučane sluznice, ali dosadašnja istraživanja

podupiru važnost kako centralnih tako i perifernih receptora dopamina u nastanku ulceracija (28).

Uloga D<sub>2</sub> dopaminskih receptora nešto manje utječe na nastanak ulkusa budući da D<sub>2</sub> agonisti pokazuju manju učinkovitost u smanjenju eksperimentalnih želučanih lezija (29). S druge strane, primjena haloperidola koji je prvenstveno inhibitor centralnih dopaminskih receptora dovodi do pojave ulceracija želučane sluznice i sluznice dvanaesnika (6). Međutim, postoje opažanja koja govore kako neki antipsihotici kao npr. sulpirid štite želučanu sluznicu. Sulpirid je blokator centralnih D<sub>2</sub> receptora. Postoje jasna opažanja koja pokazuju da primjena sulpirida značajno smanjuje lučenje želučane kiseline, pepsina i histamina u štakora s podvezanim pilorusom (27). Primjena sulpirida sprečava nastanak želučanih lezija (ulceracija i erozija) izazvanih akutnim ili kroničnim izlaganjem štakora stresu (30, 31). Čini se da je upravo uloga sulpirida u smanjenju psihološkog stresa bitna u zaštiti želučane sluznice, jer će sulpirid smanjiti nastanak lezija izazvanih prvenstveno psihološkim stresom, ali neće smanjiti nastanak i mehaničkih lezija koje su eksperimentalno izazvane npr. primjenom NSAR. Navedeni učinak sulpirida je u skladu s ranijim opažanjima o poremećajima lučenja dopamina u eksperimentalnom modelu depresije (anksioznosti) (32).

Ureaza i ugljična anhidraza su ključni enzimi za opstanak bakterije *Helicobacter pylori* u kiseloj želučanoj sredini. Enzimi omogućavaju održavanje neutralnog pH u bakterijskoj citoplazmi i periplazmi. Obje klase ugljične anhidraze - citoplazmatska i periplazmatska su inhibirane određenim lijekovima uključujući i sulpirid (33). To je dodatni mogući mehanizam zaštite želučane sluznice od nastanka ulceracija.

Klozapin je atipični antipsihotik novije generacije. Ima veći afinitet prema D<sub>4</sub> dopaminskim receptorima u odnosu na D<sub>2</sub> receptore. Blokada D<sub>4</sub> receptora također štiti želučanu sluznicu. Naime, primjena klozapina u eksperimentalnom modelu izazivanja stres ulceracija, smanjuje lučenje želučane kiseline kao i nastanak želučanih ulceracija (34).

Zaštita želučane sluznice sulpiridom i klozapinom bi se mogla objasniti blokadom i alfa-adrenergičkih receptora odnosno simpatikusa.

Primjena dopaminergičkog neurotoksina 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) dovodi do simptoma nalik Parkinsonovoj bolesti te do pojave

želučanih ulceracija (35). Shizofrenija je stanje obilježeno pretjerano aktivnim dopaminergičnim sustavom. Rizik za pojavu ulkusa želuca i dvanaesnika je smanjen u bolesnika s shizofrenijom (36). Zanimljivo je da nema studija koje prate pojavnost ulkusa želuca i dvanaesnika u bolesnika s Parkinsonovom bolešću uzevši u obzir da je to stanje uvjetovano ne samo smanjenim centralnim lučenjem dopamina već i abnormalnostima u enteričkom živčanom sustavu u smislu gubitka dopaminergičkih neurona (37, 38).

Domperidon i metoklopramid povećavaju tlak donjeg ezofagusnog sfinktera (39, 40, 41, 42, 43), ali je učinak na pilorusni sfinkter gotovo neistražen. Naime, i metoklopramid i domperidon su pokazali kratkotrajan učinak na povećanje motorne aktivnosti antroduodenalnog dijela želuca zbog čega se primjenjuju i kod usporenog želučanog pražnjenja (44), a metoklopramid je pokazao učinak tek u jednoj studiji u smislu povećanja tlaka pilorusnog sfinktera kako kod zdravih tako i kod bolesnika sa ulkusom na želucu (45). Justin-Besancon, Grivaux i Watterz su prvi opisali djelovanje metoklopramida na stimulaciju želučane peristaltike i ubrzanje želučanog pražnjenja zbog čega se metoklopramid još i danas upotrebljava u liječenju gastropareze (46). Zanimljivo je da metoklopramid ubrzava želučano pražnjenje značajnije kad je ono usporeno dok manje djeluje u stanjima uredne želučane peristaltike i pražnjenja (47).

Dosadašnja istraživanja utjecaja antipsihotika na donji ezofagusni i pilorusni sfinkter odnosno utjecaj na nastanak ulceracija i erozija sluznice želuca i dvanaesnika su prikazana u tablicama 1-15.

Tablica 1. Utjecaj haloperidola na nastanak ulceracija i erozija sluznice želuca i dvanaesnika.

<b>METODE</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>REFERENCE</b>
haloperidol i.p.	haloperidol - ulceracije; bromokriptin, l-dopa, apomorfin- prevencija ulceracija	uloga dopamina u nastanku ulceracija	Sikirić P, et al. Eur J Pharmacol. 1985;112:127-8.
haloperidol i.v.; klozapin i.v., metoklopramid i.v.; nastanak stres ulceracija	haloperidol- pogoršava stres ulceracije	uloga dopamina u nastanku ulceracija	Ray A, et al. Physiol Behav. 1988;42:237-9.
haloperidol i.p.; rezerpin i.p; haloperidol + rezerpin i.p.	haloperidol- ulceracije; rezerpin- ulceracije; haloperidol + rezerpin-jače ulceracije; primjena dopaminoninergika prije haloperidola i rezerpina ublažava ulceracije; BPC-157- ublažava ulceracije	učinak potpune endogene blokade dopaminergičkog sustava u nastanku želučanih ulceracija; učinak dopaminomimetika ovisi o endogenom lučenju dopamina; učinak ranitidina, omeprazola, atropina i pentadekapeptida BPC-157 je neovisan o lučenju dopamina;	Sikirić P, et al. J Psychol Paris. 2000;94:105-10.
haloperidol i.p; haloperidol + domperidon i.p.	smanjenje lezija s bromokriptinom, BPC-157, omeprazolom, ali ne i nakon primjene domperidona	uloga centralnih i perifernih dopaminskih receptora	Bilić I, et al. Life Sci. 2001;68:1905-12.

Tablica 2. Utjecaj haloperidola na tlak donjeg ezofagusnog sfinktera.

<b>METODE</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>REFERENCE</b>
dopamin 5µg/kg/min, haloperidol, tetrodoksin, fentolamin, propranolol, vagotomija	dopamin-relaksacija DES-a; haloperidol smanjuje učinak dopamina	uloga dopamina u tonusu DES-a	Rattan S, et al. Gastroenterology. 1976;70:371-81.
Na-nitroprusid, propranolol, metiamid, haloperidol, atropin, fentolamin, tetrodoksin haloperidol	Na-nitroprusid relaksira DES; primjena niti jednog antagonista različitih receptora ne blokira niti ne smanjuje njegov učinak	Na-nitroprusid djeluje direktno na relaksaciju glatke muskulature DES-a	Dent J, et al. Gastronetreology. 1979;76:784-9.
VIP; atropin, fentolamin, haloperidol, pirilamin, metisergid, indometacin, tetrodoksin	VIP relaksira DES; primjena niti jednog antagonista različitih receptora na blokira niti ne smanjuje njegov učinak	VIP djeluje direktno na relaksaciju glatke muskulature DES-a	Rattan S, et al. Life Sci. 1982;30:1557- 63.
distalna acidifikacija ezofagusa, manometrija ezofagusa, bilateralna cervikalna vagotomija, atropin, heksametonij, fentolamin, propranolol, difenhidramin, cimetidin, cinanserin, nalokson, haloperidol, proglumid, supstancija P	distalna acidifikacija ezofagusa-povećava tlak DES; primjena niti jednog antagonista različitih receptora ne smanjuje taj učinak; primjena supstancije P smanjuje kontrakciju DES-a nakon acidifikacije	učinak supstancije P na tlak DES-a	Reynolds RC, et al. Am J Physiol. 1984;246:346-54.

Tablica 3. Utjecaj haloperidola na donji pilorusni sfinkter.

<b>METODE</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>REFERENCE</b>
učinak katekolamina (dopamin, noradrenalin) na DES i PS kod svinja	dopamin-relaksacija iza koje slijedi kontrakcija oba sfinktera; alfa i beta receptori agonisti i antagonisti: KONTRAKCIJA alfa receptori; RELAKSACIJA-beta receptori; haloperidol i domperidon-antagoniziraju kontrakciju DES-a i pilorusnog sfinktera nakon primjene dopamina	alfa-adrenergički receptori posreduju kontrakciju; beta-adrenergički receptori posreduju relaksaciju; dopaminski antagonisti smanjuju učinak dopamina na oba sfinktera	Sahyoun HA, et al. J Pharm Pharmacol. 1982;34:318-24.

Tablica 4. Utjecaj klorpromazina na nastanak ulceracija i erozija sluznice želuca i dvanaesnika.

<b>METODE</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>REFERENCE</b>
ligacija pilorusa; klorpromazin	lučenje želučane kiseline, lezije želuca	smanjuje lučenje želučane kiseline i smanjuje nastanak lezija želučane sluznice	Radwan AG, et al. Br J Pharmacol. 1971;41:167-9.
100% etanol, NSAR; klorpromazin	klorpromazin smanjuje lezije	zaštitni učinak klorpromazina	Mirossay L. Physiol Res. 1991;40:441-4.
rastezanje, uranjanje u vodu; klorpromazin i.v. i i.c.v.	smanjuje lezije neovisno o mjestu primjene lijeka	zaštitni učinak klorpromazina	Herada M, et al. J Pharmacobiodyn. 1981;4:309-16.



Tablica 5. Utjecaj klorpromazina na tlak donjeg ezofagusnog sfinktera.

METODE	REZULTATI	ZAKLJUČAK	REFERENCE
učinak klorpromazina, prometazina, mepridona na DES;	sva tri lijeka snižavaju tlak DES-a, a najviše midazolam	pitanje sedacije kod mjerenja motiliteta ezofagusa i objektivnosti rezultata	Croffie JM, et al. Dig Dis. 1999;17:113-20.

Tablica 6. Utjecaj klozapina na nastanak ulceracija i erozija sluznice želuca i dvanaesnika.

METODE	REZULTATI	ZAKLJUČAK	REFERENCE
elektrolitsko oštećenje medijalnog hipotalamusa - želučane lezije; katekolaminski agonisti i antagonisti	životinje za 24h razvijaju brojne lezije; primjena klorpromazina, desipiramina, izoprotenerola smanjuje, a primjena klozapina povećava broj lezija	uloga katekolamina u razvoju želučanih lezija	Nobrega JN, et al. Pharmacol Biochem Behav. 1983;19:831-8.
stres ulceracije; klozapin	klozapin dovodi do nastanka ulceracija; pogoršava ranije izazvane stres ulceracije	utjecaj dopamina u nastanku želučanih lezija	Rey A, et al. Physiol Behav. 1988;42:359-64.
stres ulceracije; mikroinjekcija klozapina u centralnu amigdalnu jezgru	klozapin - pogoršava lezije; dopamin, apomorfin, L dopa - smanjuje lezije; primjena klozapina uz dopamin, apomorfin, I dopa - antagonizira njihov učinak	uloga centralne amigdalne jezgre u nastanku ulceracija	Ray A, et al. Indian J Med Res. 1989;90:224-8.
ligacija pilorusa; rastezanje-hladnoća; klozapin	smanjuje lučenje želučane kiseline; smanjuje stres lezije	uloga D <sub>4</sub> receptora u nastanku želučanih lezija	Glavin GB, et al. Life Sci. 1994;54:261-4.
stres ulceracije; primjena centralnih dopaminskih antagonista (klozapin)	klozapin – smanjuje nastanak lezija; domperidon-nije smanjio nastanak lezija	uloga centralnih dopaminskih receptora u nastanku želučanih lezija	Nomura K, et al. J Pharmacol Exp Ther. 1995;273:1001-7.

Tablica 7. Utjecaj metoklopramida na nastanak ulceracija i erozija sluznice želuca i dvanaesnika.

<b>METODE</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>REFERENCE</b>
metoklopramid, haloperidol, domperidon i.p. u štakora	pojava želučanih lezija kod svih lijekova	ulcerogeno djelovanje metoklopramida i dopaminskih antagonista	Sikiric P, et. Al. Eur J Pharmacol. 1986;131:105-9.
stres ulceracije; metoklopramid, haloperidol, klozapin	pogoršavanje ulceracija	uloga dopamina u nastanku želučanih lezija	Ray A, et al. Physiol Behav. 1988;42:359-64.
hladnoća i rastezanje; mikroinjekcija dopamina, apomorfina u centralnu amigdalnu jezgu; predtretman metoklopramid, haloperidol	zaštitni učinak dopamina i apomorfina; antagonistički učinak metoklopramida, haloperidola	protektivna uloga dopamina, uloga centralne amigdalne jezgre	Ray A, et al. Neurosci Lett. 1988;84:302-6.
stres ulceracije i ulceracije izazvane serotoninom; primjena, atropina, cimetidina, metoklopramida	metoklopramid smanjuje nastanak ulceracija izazvanih stresom, a pogoršava ulceracije izazvane serotoninom	uloga serotonina u nastanku lezija	Karevina Tg, et al. Farmacol Toksikol 1988;51:56-60.
ulceracije s NSAR i ligacija pilorusa; metoklopramid; ranitidin	metoklopramid smanjuje lezije izazvane NSAR i ligacijom pilorusa; smanjuje želučanu sekreciju; ne djeluje na lučenje želučane kiseline	zaštitna uloga metoklopramida	Gupta RK, et al. Arch Int Pharmacodyn Ther. 1989;297:158-65.

Tablica 8. Utjecaj metoklopramida na tlak donjeg ezofagusnog sfinktera.

<b>METODE</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>REFERENCE</b>
bolesnici s GERBom; manometrija ezofagusa; metoklopramid; betanehol;	porast tlaka DES-a	metoklopramid povećava tlak DES-a	McCallum RW, et al. Gastroenterology. 1975;68:1114-8.
bolesnici s erozivnim GERBom; ezofagealna manometrija i 24h pH - metrija ezofagusa; metoklopramid; domperidon	porast tlaka donjeg ezofagusnog sfinktera	metoklopramid i domperidon dovode do porasta tlaka donjeg ezofagusnog sfinktera	Grande L, et al. Dig Dis Sci. 1992;37:583-8.
bolesnici s GERBom; ezofagealna manometrija i 24h pH - metrija ezofagusa; metoklopramid jednokratno; metoklopramid /7 dana 10mg p.o.	porast tlaka DES-a nakon 7 dana; smanjenje prolaznih relaksacija DES-a postprandijalno u jednokratnoj dozi kao i nakon 7 dana	metoklopramid povećava tlak DES-a, smanjuje prolazne relaksacije DES-a	Durazo FA, et al. Am J Gastroenterol. 1993;88:1657-62.
bolesnici s sist. sklerozom; manometr. ezofagusa; metoklopramid jednokratno i.v.	značajan porast tlaka DES-a kod rane difuzne sistemske skleroze	metoklopramid povećava tlak DES-a ranoj difuznoj sistemskoj sklerozi	Mercado U, et al. Clin Exp Rheumatol. 2005;23:685-8.

Tablica 9. Utjecaj metoklopramida na pilorusni sfinkter.

<b>METODE</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>REFERENCE</b>
bolesnici s usporenim želučanim pražnjenjem; metoklopramid	metoklopramid ubrzava usporeno želučano pražnjenje	metoklopramid ubrzava želučano pražnjenje	Hancock BD, et al. Gut. 1974;15:462-7.
mjerenje tlaka pilorusnog sfinktera kod pušenja i duodenalnog vrijeda; metoklopramid	pušenje i duodenalni vrijed-niži tlak pilorusnog sfinktera; metoklopramid-podiže tlak pilorusnog sfinktera	metoklopramid povećava tlak pilorusnog sfinktera	Valenzuela JE, et al. Gastroenterology. 1976;70:481-3.
potencijali i motorni uzorak pilorusnih stanica; primjena dopamina; dopaminski receptori	u pilorusu postoje dvije vrste dopaminskih receptora; metoklopramid antagonizira jednu vrstu dopaminskih receptora u pilorusu	djelovanje metoklopramida na motornu aktivnost pilorusa	Zhang H, et al. J Neurophysiol. 2010;104:873-84.

Tablica 10. Utjecaj sulpirida na nastanak ulceracija i erozija sluznice želuca i dvanaesnika.

<b>METODE</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>REFERENCE</b>
bolesnici s želučanim i duodenalnim vrijedom; primjena sulpirida	značajno poboljšanje želučanih i duodenalnih ulceracija	uloga sulpirida u cijeljenju gastroduodenalnih ulceracija	Molle M. Fortschr Med. 1975;93:1077-82.
bolesnici s duodenalnim vrijedom; psihološka stimulacija hranom; mjerenje gastrina i lučenja želučane kiseline; predtretman s sulpiridom	značajno sniženje lučenja želučane kiseline i gastrina u grupi predtretiranom sulpiridom	sulpirid smanjuje lučenje želučane kiseline i gastrina	Lam SK, et al. Scand J Gastroenterol. 1976;11:27-31.
pilorus ligacija, uranjanje u vodu+rastezanje; primjena NSAR, rezerpina, cisteamina	značajno smanjenje lezija u svih modela; u ligaciji pilorusa značajno smanjuje lučenje želučane kiseline, povećava koncentraciju fukoze i sijalične kiseline, smanjuje proteine u želučanom soku	sulpirid djeluje na jačanje želučane sluzničke barijere; djeluje antisekretorno	Desai JK, et al. Agents Actions. 1994;42:149-53.
identificirane dvije podvrste ugljične anhidraze H. pylori (pericitoplazmatska alfa i citoplazmatska beta)	inhibicija obe podvrste ugljične anhidraze sulpiridom, acetazolamidom, ethoksizolamidom, topiramatom	alternativna terapija eradikacije H. pylori	Nishimori I, et al. Curr Pharm Des. 2008;14:622-30.

Tablica 11. Utjecaj sulpirida na tlak donjeg ezofagusnog sfinktera.

<b>METODE</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>REFERENCE</b>
ezofagus nakon ezofagektomije, mjerenje aktivnosti adenilat ciklaze (biokemijski marker aktivnosti dopaminskih receptora)	D <sub>1</sub> agonist (fenoldopam) stimulira stvaranje adenilat ciklaze, antagonizacija s D <sub>1</sub> antagonistom; D <sub>2</sub> agonist (bromokriptin) inhibicija adenilat ciklaze, antagonizacija s D <sub>2</sub> antagonistom (sulpiridom)	D <sub>1</sub> i D <sub>2</sub> receptori su prisutni u DES-u; uloga dopamina u regulaciji tonusa donjeg ezofagusnog sfinktera	Missale G, et al. Life Sci. 1990;47:447-55.

Tablica 12. Utjecaj flufenazina na nastanak ulceracija i erozija sluznice želuca i dvanaesnika.

<b>METODE</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>REFERENCE</b>
stres ulceracije (imobilizacija, hladnoća); flufenazin	smanjenje nastanka ulceracija, smanjenje lučenja želučane kiseline	uloga centralnog dopaminergičkog sustava u nastanku gastroduodenalnih lezija	Hano J, et al. Pol J Pharmacol Pharm. 1976;28:37-47

Tablica 13. Utjecaj domperidona na nastanak ulceracija i erozija sluznice želuca i dvanaesnika.

<b>METODE</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>REFERENCE</b>
stres ulceracije; D agonisti; D antagonisti	D agonisti smanjuju lezije; domperidon antagonizira učinak D agonista	učinak perifernih dopaminskih receptora na nastanak gastroduodenalnih lezija	Hernandez DE, et al. Life Sci. 1984;35:2453-8.
stres ulceracije; D agonisti; centralni i periferni D antagonisti	D agonisti smanjuju lezije; D antagonisti pogoršavaju lezije	uloga centralnih i perifernih receptora u nastanku gastroduodenalnih lezija	Sikiric P, et al. Eur J Pharmacol. 1985;112:127-8.

Tablica 14. Utjecaj domperidona na tlak donjeg ezofagusnog sfinktera.

<b>METODE</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>REFERENCE</b>
zdravi volonteri; manometrija ezofagusa; domperidon	porast tlaka DESa	uloga dopamina u tlaku DES-a	Bron B, et al. Digestion. 1980;20:375-8.
zdravi volonteri; manometrija ezofagusa; primjena domperidona poslije i prije atropina	atropin smanjuje tlak DES-a; domperidon poslije atropina diže tlak DES-a; domperidon prije atropina smanjuje učinak atropina na sniženje tlaka DES-a	primjena domperidona prije primjene atropina sprečava pad tlaka DES-a te sprečava regurgitaciju u anesteziranih bolesnika	Brock-Utne DG. Anesth Analg. 1980;59:921-4.
zdravi volonteri; manometrija ezofagusa; primjena domperidona	porast tlaka DES-a	uloga dopamina kao inhibitornog neuromodulatora tlaka DES-a	Di Martino N, et al. Minerva Med. 1985;76:1411-7.

Tablica 15. Utjecaj domperidona na pilorusni sfinkter.

<b>METODE</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>REFERENCE</b>
zdravi volonteri i GERB bolesnici; manometrija ezofagusa; domperidon; tlak DES-a, antropilorođuodenal- ni motilitet, lučenje želučane kiseline, gastrin	domperidon povećava tlak DES- a; povećava amplitudu antropilorođuodenal- nog motiliteta; nema učinak na lučenje želučane kiseline i gastrina	primjena domperidona kod GERB-a i gastroduodenalnog refluksa	Weihrauch TR, et al. Postgrad Med J. 1979;55:7-10.

### **1.3.2. Peptidergička citoprotekcija (protekcija i citoprotekcija) i pentadekapeptid BPC-157**

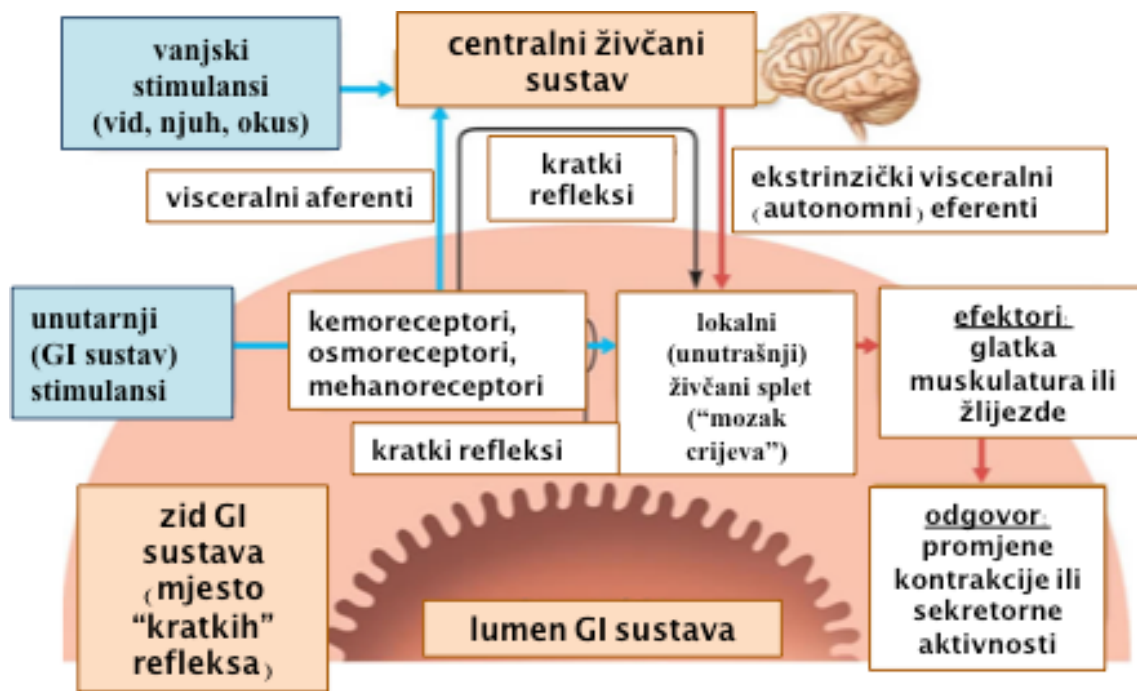
Robertova citoprotekcija podrazumijeva zaštitnu ulogu prostanglandina u očuvanju sluznice želuca prilikom primjene različitih iritansa, najčešće etanola, a smatra se da je taj učinak neovisan o želučanoj kiselini (48).

Adaptivna citoprotekcija je mehanizam u kojem prvotna primjena blažeg iritansa štiti želučanu sluznicu od agresivnijih iritansa, a time i razvoja većih lezija (49, 50).

BPC-157 štiti sluznicu želuca nakon akutne i kronične indukcije alkoholnih lezija (51) kao i lezija uzrokovanih s nesteroidnim protuupalnim lijekovima (52). Zbog navedenog se BPC-157 smatra endogenim medijatorom Robertove citoprotekcije i adaptivne citoprotekcije u probavnom sustavu (53).

U skladu s paradigmom osovine mozak – crijevo, ukoliko je želudac pogođen nekim oblikom stresa, dolazi do slanja signala u središnji živčani sustav (slika 3). Središnji i periferni živčani sustav, posredstvom brojnih neuropeptida, imaju važnu ulogu u regulaciji integriteta želučane sluznice. Dio hipotalamo – hipofizno – adrenalne osovine, odnosno veze između neuroendokrinog hipotalamusa i središnjeg živčanog sustava su dobro poznate. Putevi između hipotalamusa i autonomnog živčanog sustava su dvosmjerni: descendentni aksoni su peptidergički, a ascendentni su i peptidergički i katekolaminergički (54). Descendentna eferentna vlakna hipotalamusa nose povratne signale do viscerosenzornih neurona i katekolaminergičkih neurona produžene moždine te regulatorne signale do preganglijskih neurona parasimpatikusa u dorzalnu jezgru vagusa i simpatikusa u torakolumbalni intermediolateralni dio.





Slika 3. Interakcija mozak – crijevo.

### 1.3.3. Dušični oksid i gastrointestinalni sustav

Dušični oksid se stvara u tkivima iz L-arginina putem sintetaze dušičnog oksida (NOS). Postoje tri izoforme sintetaze dušičnog oksida: neuronalna (nNOS), endotelijalna (eNOS) i inducibilna (iNOS). nNOS i eNOS su odgovorne za sintezu NO u fiziološkim uvjetima dok je iNOS odgovorna za sintezu NO u patofiziološkim uvjetima poput upale i aktivacije imunološkog sustava (55). NO se može stvarati i neovisno o NOS, npr: putem ksantin oksidaze u uvjetima hipoksije redukcijom nitrata ( $\text{NO}_3^-$ ) u nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ), unosom nitrata hranom te redukcijom u usnoj šupljini putem bakterijske reduktaze (56), te na kraju, anaerobne bakterije stvaraju NO u crijevima koristeći nitrite i nitrate kao supstrat (57). L-NAME inhibira NOS dok je supstrat NOS-i L-arginin.

Adrenergički i neadrenergički živčani sustav imaju značajnu ulogu u gastrointestinalnom sustavu. NANC sustav s NO kao finalnim neurotransmiterom ima važnu ulogu u regulaciji mnogih gastrointestinalnih funkcija kao što su: motilitet, sekrecija, apsorpcija i eliminacija (58). Upravo je gastrointestinalni sustav jedan od glavnih izvora NO.

Motilitet gastrointestinalnog sustava je kontroliran enteričkim inhibitornim i ekscitatornim motornim neuronima koji inerviraju glatku muskulaturu. Lokalni enterički aferentni neuroni detektiraju distenziju crijevnog lumena te odašilju signale u oralnom i aboralnom smjeru. Interneuroni u oralnom smjeru su stimulatorni i dovode do kontrakcije putem neurotransmitera acetilkolina i substancije P, a interneuroni u aboralnom smjeru su inhibitorni i dovode do relaksacije glatkog mišićja putem neurotransmitera somatostatina,  $\gamma$ -aminobutrične kiseline (GABA) koji dalje stimuliraju interneurone na otpuštanje inhibitornih neurotransmitera vazoaktivnog intestinalnog peptida (VIP) te NO. Oko 50% živčanih vlakana lociranih u mijenteričkom pleksusu enteričkog sustava sadrži nNOS. Bult i autori su bili prvi koji su demonstrirali da je NO najvažniji neadrenergički i nekolinergički inhibitorni neurotransmiter u crijevu (59). Inhibitorni motorni neuroni posreduju u receptivnim i akomodativnim relaksacijama sfinktera čemu u prilog govori opažanje da nNOS<sup>-/-</sup> miševi imaju smanjenu relaksaciju DES-a i gastroparezu (60). Poremećaj otpuštanja NO je uočen i u bolestima s nemogućnošću relaksacije sfinktera kao što su ahalezija (61), infantilna hipertrofična pilorička stenoza (62) i Hirschprungova bolest (63). NOS genska terapija bi u budućnosti mogla postati nova terapijska opcija za neke bolesti, a već danas se upotrebljavaju topički NO donori u svrhu relaksacije Oddijevog sfinktera pri izvođenju endoskopske retrogradne kolangiopankreatografije (64), a izosorbiddinitrat se upotrebljava u liječenju spazma ezofagusa (65).

Prolazne relaksacije DES-a se smatraju najvažnijim patofiziološkim čimbenikom u nastanku gastroezofagealne refluksne bolesti. Intravenska infuzija NOS inhibitora - N-monometil-arginina (L-NMMA) u zdravih dobrovoljaca smanjuje relaksaciju DES-a pri distenziji želuca te povećava amplitudu i brzinu peristaltike ezofagusa (66). DES u mirovanju posjeduje određeni tonus kojem je zadaća sprečavanje povratka sadržaja želuca i dvanaesnika u ezofagus. Do relaksacije DES-a dolazi uslijed gutanja, električne stimulacije perifernog kraja decentraliziranog vagalnog živca te nakon primjene električne stimulacije. Relaksacija DES-a nastaje zahvaljujući inhibitornim neurotransmiterima koji se oslobađaju iz neadrenergičkih nekolinergičkih inhibitornih živaca, budući da relaksacija DES-a nije antagonizirana inhibicijom adrenergičkih ili kolinergičkih neurotransmitera (67).

Još je 1975. godine prepoznata uloga NANC sustava u relaksaciji DES-a koja nastaje za vrijeme gutanja (68). Tada se još nije znalo koji je finalni neurotransmiter koji se luči na živčanim završecima. Tek kasnije je prepoznat NO kao finalni neurotransmiter na živčanim završecima NANC-a koji dovodi do relaksacije sfinktera uključujući i DES (69, 70).

Do sada je uloga NO sustava vezana uglavnom za utvrđivanje relaksacije donjeg ezofagusnog sfinktera kod primjene inhibitora NOS-e - L-NAME. Primjena L-NAME inhibira relaksaciju donjeg ezofagusnog sfinktera izazvanu primjenom nikotina (71) kao što je prisutna i inhibicija relaksacije sfinktera izazvana električnim impulsima (72).

Intersticijske Kajalove stanice s NO kao neurotransmiterom imaju važnu inhibicijsku ulogu kod antruduodenalnog motiliteta i relaksacije pilorusnog sfinktera. Primjena L-NAME dovodi do povišenja tlaka pilorusnog sfinktera kao i do povećanja antruduodenalnog motiliteta (73). Stimulacija kontrakcije pilorusa primjenom kolekistokinina može se smanjiti perifernom primjenom NO analoga, a primjena L-NAME dovodi do povećanja tonusa pilorusnog sfinktera (74). Inhibitorni električni potencijali koji dovode do relaksacije pilorusnog sfinktera su bili reducirani primjenom L-NAME i potom opet potencirani primjenom L-arginina (75). Međutim, ne postoji istovremeno istraživanje učinaka blokade NOS i/ili primjene supstrata NOS - L-arginina na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera što je nužno imajući u vidu dvojnu ulogu NO-sustava.

### 1.3.4. Pentadekapeptid BPC-157 i peptidni lijekovi

#### 1.3.4.1. Općenito o BPC-157 i peptidnim lijekovima

Zanimanje za regulatorne peptide kao lijekove godinama raste. Do sada je u upotrebi preko 65 peptidnih lijekova. Prvi kemijski sintezirani peptid je bio oksitocin 1954. godine (76). Sinteza rekombiniranih peptida je započela 1974. godine, a rekombinirani humani inzulin je bio predstavljen 1982. godine (77). Zadnja tri desetljeća poglavito raste interes za njihovu funkciju u živim organizmima.

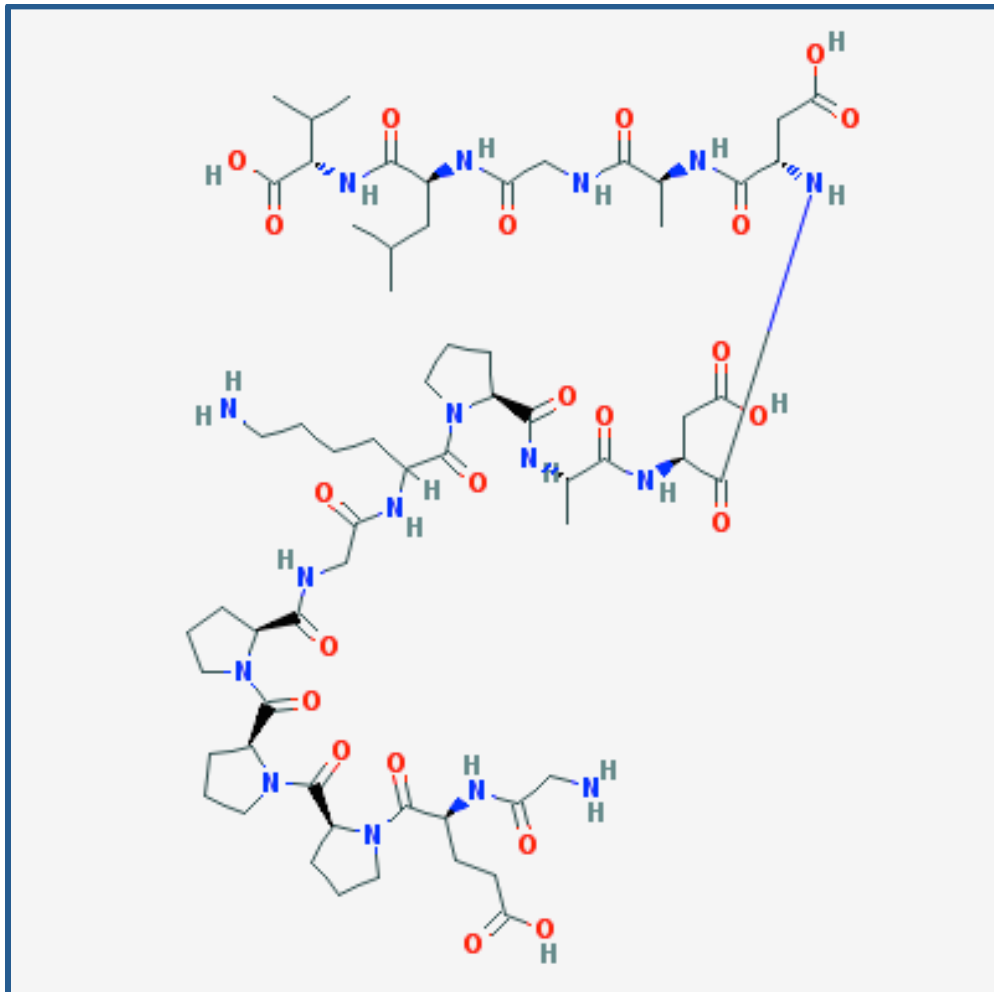
Ključni preduvjet za razvoj i primjenu lijeka kao peptida je niska imunogenost, dobar farmakokinetički profil te biološki učinak. U svrhu postizanja navedenog, molekule peptida se modificiraju na različite načine; prevode su u cikličke molekule ili čak u molekule koje nisu više peptidi, ali zadržavaju njihov biološki učinak. Time postaju otpornije na razgradnju i eliminaciju, a bioraspoloživost i selektivnost je bolja. Razvoj peptidnih lijekova je ograničen visokim troškovima proizvodnje, rizikom od imunogenih nuspojava, smanjenom bioraspoloživosti nakon peroralne primjene uslijed razgradnje proteolitičkim enzimima probavnog sustava, brzim uklanjanjem putem jetre i bubrega, otežanim prolazom kroz fiziološke barijere zbog hidrofilnosti te niskom specifičnom distribucijom uslijed interakcije s više različitih receptora (78).

Prednosti peptida u odnosu na rekombinantne proteine i protutijela su manja imunogenost, veća stabilnost, jeftinija proizvodnja te lakši prolazak kroz tkiva (79, 80). Prednost u odnosu na manje organske molekule od kojih se sastoji većina lijekova danas na tržištu su veća učinkovitost, selektivnost i specifičnost. Zahvaljujući kratkom poluvijeku, manje se nakupljaju u tkivima, većinom djeluju agonistički na receptore, a potrebna je i manja količina da bi aktivirali ciljane receptore (81, 82).

Pentadekapeptid BPC-157 (GEPPPGKPADDAGLV) je aktivni dio stabilnog želučanog peptida BPC koji je izdvojen iz želučanog soka (83) sa dokazanim antiulkusnim djelovanjem (84, 85, 86) (slika 4). BPC-157 ne treba biti primjenjen uz nosač da bi bio učinkovit (87), za razliku od standardnih peptida koji potiču cijeljenje tkiva i djeluju antiulkusno (88, 89). U kliničkim studijama za upalnu bolest crijeva i cijeljenje rana potvrđena je sigurnost primjene ovog antiulkusnog

peptida (PL-10, PLD-116, PL 14736 Pliva, Hrvatska), budući da prilikom istraživanja nisu zapaženi toksični učinci (90, 91). BPC-157 je prvotno izoliran iz želučanog soka, a studije distribucije su tijekom razvoja koristeći kuničja poliklonska protutijela pokazale da je, a u skladu s poznatim činjenicama o osovini mozak-crijevo, prisutan u želucu, crijevima i mozgu (92). Izlučuje se 75-80% putem mokraće i fecesa, a poluvrijeme eliminacije egzogenog radionuklida BPC-157 je 80 sati nakon jednokratne peroralne i 77 sati nakon jednokratne parenteralne primjene (93, 94, 95).

Uzimajući u obzir da BPC-157 ima potencijalnu terapijsku ulogu, njegova je velika prednost stabilnost u organizmu. Naime, drugi standardni peptidi (h-EGF i h-TGF) su stabilni u vodi, ali se već nakon 15 minuta razgrađuju u želučanom soku, dok se BPC-157 nije razgradio u vodi kao niti u želučanom soku nakon 24 sata (83). U studijama farmakodinamike je istraživana afinitet BPC-157 za adrenergičke ( $\alpha$ ,  $\beta$ ), muskarinske ( $M_1$ ,  $M_2$  i  $M_3$ ), histaminske, serotoninske (5-HT<sub>1</sub>, 5HT<sub>2</sub>), dopaminske i adenozijske ( $A_1$  i  $A_2$ ) receptore (96). BPC-157 nije pokazao nikakvu interakciju s navedenim receptorima i njihovim radioligandima, a uz to, nije inducirao aktivnost mikrosomalnih enzima jetre miša kao niti citokroma P-448 niti P-450 (97).



Slika 4. Pentadekapeptid BPC-157.

#### 1.3.4.2. Pentadekapeptid BPC-157 i NO sustav

Interakcija i modulacija NO sustava je jedno od mogućih objašnjenja mehanizma djelovanja BPC-157 (11, 98). Dokazano je da se BPC-157 upliće u učinke NO na specifičan način, uglavnom sinergistički s L-argininom i antagonistički s L-NAME. Naime, želučane lezije eksperimentalno izazvane 96%tnim etanolom su smanjene primjenom BPC-157 i L-arginina, ali primjena L-NAME nije poništila učinak BPC-157 kao što je poništila učinak L-arginina (51). Zanimljivo je da se gastroprotektivni učinak BPC-157 poništio nakon eksperimentalne adrenektomije i ovariektomije, što dodatno potvrđuje interakciju BPC-157 sa endokrinim, a naročito adrenergičkim sustavom (99). Nadalje, BPC-157 potiče angiogenezu (100, 101, 102) i stimulira ekspresiju gena za čimbenik

ranog odgovora rasta, egr-1, ranu formaciju kolagena te suprimira protein koji veže čimbenik rasta neurona 1-A, nab2 (103). U pokusima na pilićima BPC-157 i L-arginin koji je supstrat za stvaranje NO, su spriječili pogoršanje eksperimentalno izazvane plućne hipertenzije, koje je potaknuo L-NAME (99). Kad je riječ o kožnim i kolokutanim fistulama eksperimentalno izazvanih u štakora, pokazano je da BPC-157 utječe na brže i učinkovitije cijeljenje istih, dok ih primjena L-NAME pogoršava ukazujući na nedvojbenu učinkovitost NO u procesu cijeljenja. Istodobna primjena BPC-157 i L-NAME smanjuje učinak L-NAME što također potvrđuje interakciju BPC-157 s NO sustavom (104).

### **1.3.5. Pentadekapeptid BPC-157, gastrointestinalne lezije, interakcija s dopaminergičkim sustavom**

Dobro je poznato da pentadekapeptid BPC-157 interferira s dopaminergičkim sustavom. Njegov gastroprotektivan - antiulkusni učinak je povezan s dopaminergičkim sustavom pa se smatra da bi mogao biti indiciran kod poremećaja lučenja dopamina u središnjem živčanom sustavu. Eksperimentalni modeli koji su pokazali interakciju BPC-157 s dopaminergičkim sustavom su dopaminergična i amfetaminska preosjetljivost te dopaminergička neurotoksičnost uzrokovana neurotoksinom MPTP koji uništava dopaminergička vlakna u supstanciji nigri te rezerpinom koji dovodi do ispražnjivanja granula dopamina (36, 105, 106, 107). Amfetamin dovodi do povećanog oslobađanja katekolamina s jedne strane, a s druge strane dovodi do inhibicije ponovnog preuzimanja katekolamina i to primarno dopamina. Primjena haloperidola prije primjene amfetamina potencira učinak amfetamina (108, 109). U pokusima amfetaminske preosjetljivosti BPC-157 je smanjio intenzitet hiperaktivnosti, stereotipija i penjanja uzrokovanih amfetaminom ili kombinacijom haloperidola i amfetamina, kao i katalepsiju uzrokovanu haloperidolom kod miševa. U potpunosti je spriječio razvoj preosjetljivosti na amfetamin koja je kod kontrolne skupine životinja potaknuta primjenom haloperidola prije aplikacije amfetamina, a suzbio je i pojačane reakcije na zvučni stimulans koje se inače javljaju u životinja nakon primjene amfetamina (108). U istraživanjima koja su provedena na miševima, BPC-157 je antagonizirao katalepsiju i somatosenzornu dezorijentaciju uzrokovanu haloperidolom i flufenazinom, a budući da haloperidol

dovodi do stvaranja ulkusa želuca u štakora blokirajući dopaminske receptore, BPC-157 je spriječio nastanak ulkusa u životinja tretiranih kataliptogenom dozom haloperidola. U kontrolnoj skupini životinja je želučani ulkus bio vidljiv 24 sata nakon primjene haloperidola (6). Drugi antiulcerogeni lijekovi poput misoprostola, ranitidina, cimetidina, lanzoprazola i pantoprazola, nisu bili tako učinkoviti u sprečavanju nastanka lezija poput BPC-157 (110).

U istraživanju patogeneze Parkinsonove bolesti se koriste brojni životinjski modeli u kojih je parkinsonizam induciran genetskim mutacijama ili raznim lijekovima i neurotoksinima: rezerpinom, haloperidolom, rotenonom, parakvatom, 6 – hidroksidopaminom (6 – OHDA) i metamfetaminom (111, 112). MPTP je neurotoksin koji dovodi do redukcije dopamina i njegovih metabolita u nigrostrijatalnom dijelu mozga (113), a rezerpin utječe na pohranu dopamina u intracelularnim granulama na taj način dovodeći do ispražnjivanja dopamina na živčanim okončinama (114, 115)

U modelu Parkinsonove bolesti izazvane MPTP-om, BPC-157 je poboljšao somatosenzornu orijentaciju tretiranih životinja, smanjio hiperaktivnost te motoričke abnormalnosti poput tremora, katalapsije i akineze koje su bile naglašeno izražene kod kontrolne skupine miševa. U modelu Parkinsonove bolesti uzrokovane rezerpinom, BPC-157 je spriječio razvoj katalapsije koja je bila naglašeno izražena kod kontrolne skupine životinja, a primjenjen 24h poslije rezerpina je prekinuo katalapsiju. Izuzev navedenog, BPC-157 je reducirao hipotermiju i spriječio daljnji pad tjelesne temperature (35).

### **1.3.6. Donji ezofagusni i pilorusni sfinkter**

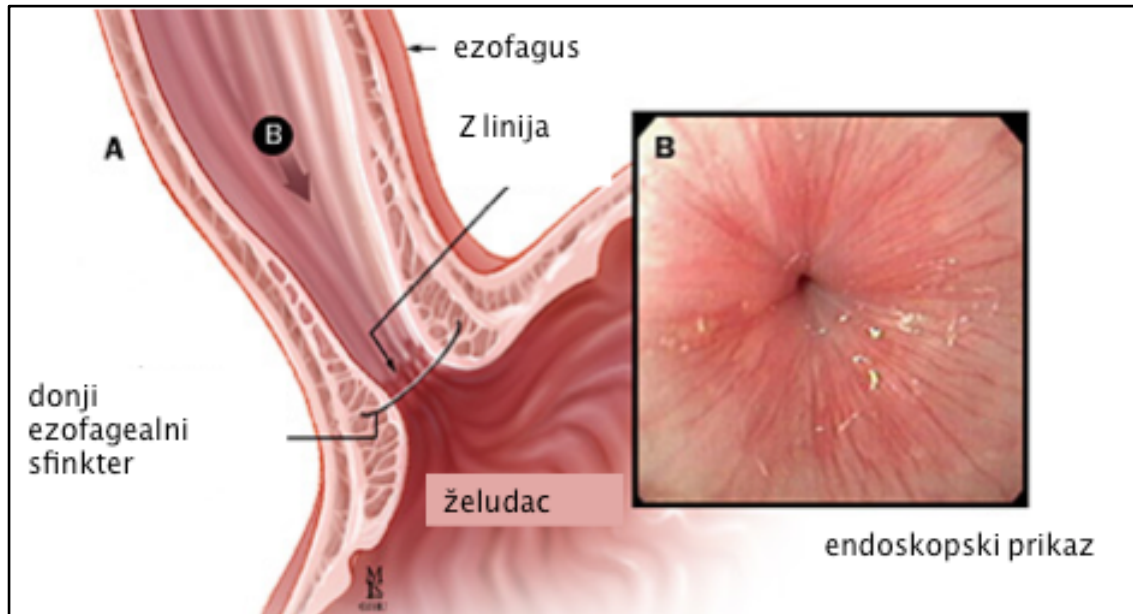
Kroz ezofagus se odvija transport progutanog sadržaja iz usta u želudac. Pri tome važnu ulogu ima peristaltika ezofagusa te donji ezofagusni sfinkter koji s jedne strane propušta sadržaj u smjeru želuca, a s druge, sprječava povrat sadržaja želuca i dvanaesnika u ezofagus. Nepostojanje jasnog anatomskog markera koji bi makroskopski i morfološki odgovarao DES-u je razlog što se niz godina anatomske nije jasno mogao detektirati sfinkter. Tek je 1953. godine manometrijski identificirana zona visokog tlaka koja se relaksira pri gutanju sugerirajući prisustvo funkcionalnog sfinktera na prijelazu ezofagusa u želudac (116, 117) (slika 5).



Do danas je provedeno niz istraživanja koja su pokušavala odgovoriti na pitanje kako je reguliran bazalni tonus DES-a te njegova relaksacija i inervacija. U ljudi se ezofagus sastoji od dva dijela; cervikalnog i torakalnog. Njegova građa u smislu udjela poprečnoprugaste i glatke muskulature se razlikuje između pojedinih vrsta. U ljudi je 2/3 proksimalnog ezofagusa građeno od poprečnoprugaste muskulature, dok je donja trećina, uključujući i DES, građena od glatke muskulature. Budući da je većina istraživanja glede građe, inervacije i općenito funkcije ezofagusa i DES-a, provedena na eksperimentalnim životinjama, postavlja se pitanje jesu li njihovi rezultati primjenjivi i na ljude.

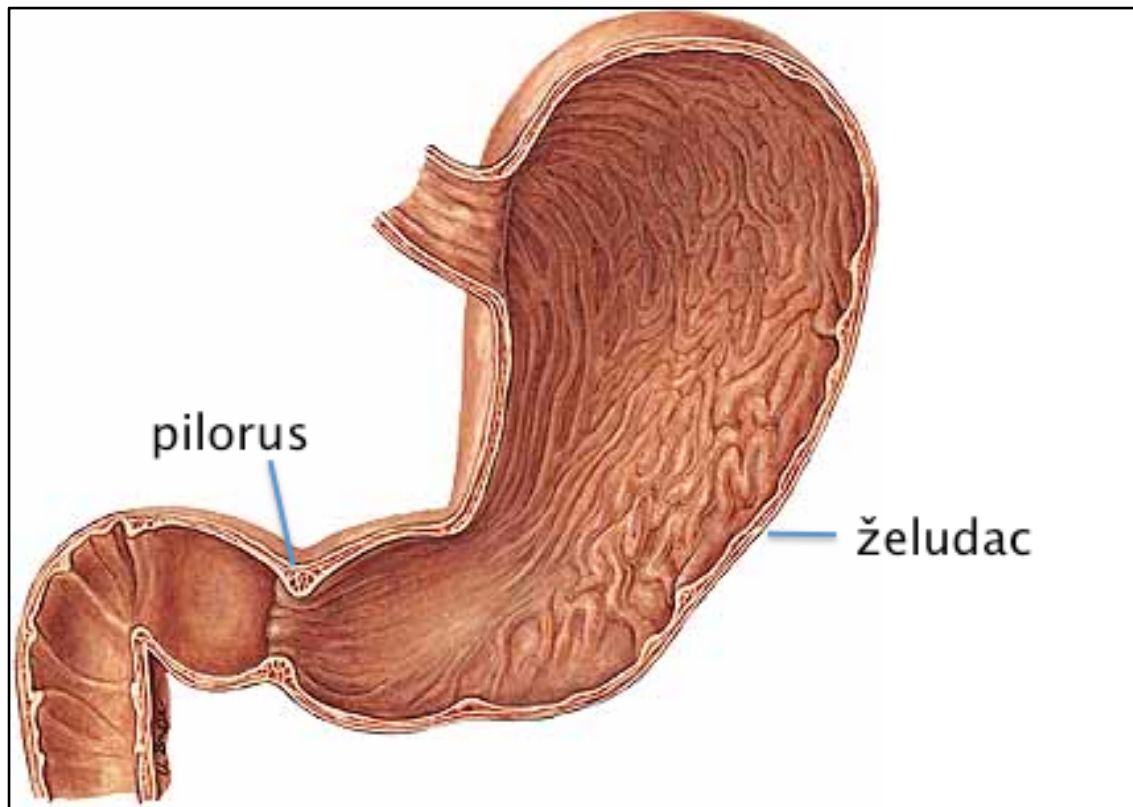
DES u pasa i glodavaca je građen od glatke muskulature kao kod ljudi (118). Općenito, do sada nije nađeno značajnih različitosti između životinjske i ljudske fiziologije ezofagusa. DES je građen od glatkih mišićnih vlakana, a dug je 2-4 cm. Bazalni tonus te relaksacija DES-a ovise o miogenom i neurogenom utjecaju koji može biti inhibitorni i ekscitatorni. Prisustvo i utjecaj miogenog tonusa je dokazan s manometrijskim ispitivanjima te nakon primjene tetrodoksina (blokator natrijevih kanala) uz kardiorespiratornu potporu anesteziranim oposumima. Te studije su pokazale da potpuni prestanak neurogenog utjecaja na DES nije promijenio tlak DES-a (119). DES je inerviran sa simpatičkim (splanhikus) i parasimpatičkim (nervus vagus) živčanim vlaknima. Međutim, parasimpatikus ima ključnu ulogu u relaksaciji DES-a. Naime, preganglijska vagusna vlakna inerviraju glatku muskulaturu DES-a preko postganglijskih mijenteričkih neurona koji se nalaze u zidu DES-a i ezofagusa. Preganglijska vlakna na ekscitatorne i inhibitorne mijenteričke neurone su kolinergička. Na inhibitornim neuronima utjecaj se ostvaruje putem nikotinskih i muskarinskih receptora, a na ekscitatornim neuronima se utjecaj ostvaruje otpuštanjem acetilkolina i supstancije P. Međutim, inhibicija odnosno relaksacija DES-a je i dalje istraživana, a prvi je Tøttrup objavio da bi NO mogao biti inhibitorni neurotransmitter u DES-u (120). Yamato je 1992. godine pokazao da je gutanjem izazvana relaksacija DES-a posredovana upravo s NO (121). Definitivan dokaz da je nNOS enzimatski izvor NO u relaksaciji DES-a provociranoj gutanjem dao je Sivarao (122). Inhibitorna i ekscitatorna vlakna preganglijskih neurona su lokalizirana odvojeno u kaudalnim i rostralnim dijelovima dorzalnog motornog kompleksa nervusa vagusa koji se nalazi u produženoj moždini. Stimulacija kaudalnog dijela jezgre dovodi do relaksacije

sfinktera, a stimulacija rostralnog dijela dovodi do kontrakcije (123), a budući da se dio dorzalne motorne jezgre vagusa nalazi izvan krvno – moždane barijere, to daje mogućnost farmakološke intervencije u npr. gastroezofagealnoj refluksnoj bolesti.



Slika 5. Donji ezofagusni sfinkter.

Pilorusni sfinkter je građen od glatke muskulature, a sve do nedavno nije bilo poznato da li predstavlja samo dio gastroduodenalnog kontinuiteta ili funkcioniра kao sfinkter (4) (slika 6 i 7).



Slika 6. Pilorusni sfinkter.



Slika 7. Endoskopski prikaz pilorusa.

NANC živčana vlakna su prisutna duž cijelog probavnog sustava, a u predjelu sfinktera, njihova inervacija je inhibitorna i dovodi do relaksacije istih, a patofiziologija nastanka ahalazije, ukazuje na važnost inhibitorne inervacije sa NO kao finalnim neurotransmiterom (124, 125). Pilorus ima centralnu ulogu u kontroli želučanog pražnjenja, a poznavanje neurokemijske kontrole sfinktera se može iskoristiti u liječenju bolesnika s abnormalnim želučanim pražnjenjem.

Brojne su životinjske studije istraživale pilorusnu motornu aktivnost bilo nakon parenteralne primjene lijekova ili stimulacije ekstrinzičkih i intrinzičnih živčanih vlakana (126, 127, 128).

Istraživanja su pokazala da pilorus pasa posjeduje inhibitornu NANC aktivnost *in vivo* i *in vitro* koja se može izazvati električnom stimulacijom distalnog antruma ili cervikalnog vagusa. Navedeni inhibitorni učinak je posredovan vazoaktivnim intestinalnim peptidom (VIP), ali više *in vivo* nego u *in vitro* što je upućivalo i na neki drugi neurotransmiter osim VIP-a. Blokada NOS-a je pokazala da je drugi inhibitorni neurotransmiter upravo NO. Naime, kontrakcija pilorusa izazvana stimulacijom dvanaesnika je inhibirana stimulacijom antruma i vagusa električnim impulsima. Primjena L-NAME je smanjila inhibitorni učinak stimulacije antruma ili vagusa, primjena L-arginina, donora NO, je poništila učinak L-NAME (129). Kako bi se dalje evaluirao učinak NO na želučano pražnjenje, mjereno je antropiloroduodenalni protok u pasa pomoću 7-luminalnog katetera nakon primjene 500ml fiziološke otopine u želudac. L-NNA je korišten za blokadu NOS-a. Infuzija L-NNA je dovela do usporavanja želučanog pražnjenja u odnosu na primjenu fiziološke otopine ili L-arginina. Rezultati studije ukazuju na važnost NO u želučanom pražnjenju i transpiloričkom protoku do kojih dovodi promjena piloričkog tonusa mijenjajući tako otpor protoku. Nadalje, NO može utjecati na želučano pražnjenje mijenjajući tonus fundusa želuca putem inhibicije kolinergičke aktivnosti (130).

Očuvanje integriteta sluznice kao i mišićnog sloja su važan preduvjet učinkovitosti sfinktera. Stoga se postavlja pitanje da li primjena lijekova koji dovode do ulceracija poremećuje funkciju sfinktera dovodeći na taj način do njihove insuficijencije. Naime, opaženo je da je primjena NSAR povezana s čitavim nizom simptoma i lezija povezanih s ezofagusom. Navedeno uključuje žgaravicu, dispepsiju, bol u prsnom košu, disfagiju i ezofagitis (131, 132, 133).

Studije su pokazale da je žgaravica prisutna čak kod 30-40% bolesnika koji koriste NSAR (134). U istraživanju na zdravim volonterima koji uzimaju NSAR, endoskopski je prisutan ezofagitis kod 15,7-20% (135, 136). Također je uočeno da 25% bolesnika koji kronično uzimaju NSAR imaju endoskopski potvrđen ezofagitis u odnosu na 15% bolesnika koji ih ne uzimaju (137).

### **1.3.7. BPC-157, utjecaj na sfinktere**

Budući da nije bilo prikladnog životinjskog modela za istraživanje postojećeg, ali insuficijentnog ezofagusnog sfinktera, a kako bi se mogao proučavati ezofagitis, razvijen je model u kojem je u područje ezofagusnog i pilorusnog sfinktera plasirana cjevčica koja je dovela do mehaničke insuficijencije sfinktera. Nakon što je cjevčica za sedam dana odnešena peristaltikom, postojeći je sfinkter ostao insuficijentan, mogao se zabilježiti pad tlaka sfinktera dok su se na sluznici ezofagusa pojavile erozije (10). Primjećeno je da BPC-157 smanjuje disfunkciju DES-a i pilorusnog sfinktera, prevenira regurgitaciju sadržaja želuca i dvanaesnika u ezofagus i smanjuje ezofagitis (138). S druge strane, kod životinja s očuvanim sfinkterima, ovaj peptid djeluje na sfinktere tako da povećava tlak donjeg ezofagusnog sfinktera, a smanjuje tlak pilorusnog sfinktera. Takvo djelovanje na pilorusni sfinkter bi moglo biti vrsta antirefluksnog mehanizma i održavanje ravnoteže sfinktera u normalnim, fiziološkim uvjetima. Mehanizam djelovanja BPC-157 na održavanje funkcije sfinktera i integriteta sluznica je višestruk. Neučinkovitost ranitidina i famotidina u zaštiti sluznice ezofagusa, za razliku od BPC-157 koji ne djeluje na lučenje želučane kiseline, govori u prilog mehanizmu različitom od sekretornog (139). BPC-157 djeluje citoprotektivno, učinak također neovisan o želučanoj kiselini (140). Ubrzava cijeljenje rana (141, 142), uključujući i cijeljenje presječenog mišića (143). Učinkovitost u poboljšanju disfunkcije sfinktera je povezana s primjenom direktno u lumen želuca. Parenteralna primjena BPC-157 je povezana s održavanjem tonusa sfinktera tijekom najmanje 24h. Konačno, BPC-157 interferira s centralnim sustavom kontrole sfinktera, NANC, NO i dopaminom (6, 144).

## **2.0. Hipoteza**

1. Antipsihotici dovode do istovremenog pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera;
2. Učinak na tlak sfinktera je posredovan sustavom dušik oksida;
3. BPC-157 antagonizira pad tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera uzrokovanom primjenom antipsihotika, te promjene izazvane primjenom L-NAME i/ili L-arginina.

### **3.0. Ciljevi rada**



### **3.1. Opći cilj:**

Mjerenje promjena tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera kod štakora nakon repetitivne primjene visokih doza antipsihotika i antiemetika.

1. antipsihotici dovode do istovremenog pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera;
2. učinak na tlak sfinktera je posredovan sustavom dušik oksida;
3. BPC-157 antagonizira pad tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera uzrokovanog primjenom antipsihotika te promjene izazvane primjenom L-NAME i/ili L-arginina.

### **3.2. Specifični ciljevi:**

1. antipsihotici dovode do istovremenog pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera što će se pokazati primjenom tri različite doze haloperidola te pojedinačnih doza kvetiapina, olanzapina, flufenazina, klorpromazina, klozapina, levomepromazina, sulpirida, odnosno antiemetika metoklopramida i domperidona;
2. utvrditi će se mogućnost liječenja pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera, uzrokovanog s antipsihoticima, primjenom BPC-157 (antagonizirajući učinak BPC-157);
3. utvrditi da li je terapijski učinak BPC-157 na gore navedeno ovisan o primjenjenoj dozi BPC-157;
4. utvrditi da li je učinak posredovan sustavom dušičnog oksida, primjenom L-NAME i/ili L-arginina.

## **4.0. Materijali i metode**

#### 4.1. Pokusne životinje

U pokusima su korištene štakorice Wistar stare 3 – 4 mjeseca, mase oko 250g. Uzgojene su i držane u Zavodu za farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u kontroliranim uvjetima pri konstantnoj temperaturi okoliša ( $21 \pm 2$  °C) i sustavu osvjetljenja 12 sati svjetlo 12 sati mrak, sa svjetlom od 7 sati ujutro. Hrana (palete za glodavce) i voda su životinjama bile dostupne *ad libitum*. Prije početka pokusa su životinje izvagane i obilježene.

#### 4.2. Pentadekapeptid BPC-157

Pentadekapeptid BPC-157 je fragment organoprotektivnog proteina želučanog soka BPC ( SIKIRIĆ i sur., patent EP 0432400, 1995.), topiv u vodi i fiziološkoj otopini, a sastoji se od 15 aminokiselina: Gly-Glu-Pro-Pro-Gly-Lys-Pro-Ala-Asp-Asp-Ala-Gly-Leu-Val, Mt. 1.419 Daltona. Dobiven je sintezom u čvrstoj fazi kako je opisano (99). U istraživanju je korišten peptid čistoće 99% (HPLC) (1-des-Gly peptid kao nečistoća). Proizvođač BPC-157 je Orpegen Peptide Chemicals GmbH (Heidelberg, Njemačka). Miligram BPC-157 otopio se u litri fiziološke otopine (Pliva, Zagreb, Hrvatska) i tako pripremljena otopina se čuvala u hladnjaku na 4°C. Štakoricama se otopina aplicirala intraperitonealno, 1 ml/200g tjelesne mase.

#### 4.3. Lijekovi

Tijekom istraživanja su se koristili:

1. haloperidol 6,25 mg/kg i.p.; 12,5 mg/kg ip; 25 mg/kg i.p;
2. kvetiapin 10 mg/kg i.p;
3. olanzapin 5 mg/kg i.p;
4. flufenazin 5 mg/kg i.p;
5. klorpromazin 10 mg/kg i.p;
6. klozapin 10 mg/kg i.p;
7. levomepromazin 50 mg/kg i.p;
8. metklopramid 25 mg/kg i.p;
9. sulpirid 160 mg/kg i.p;

10.domperidon 10 mg/kg i.p;

11.L-NAME 5 mg/kg i.p;

12.L-arginin 100 mg/kg i.p.

#### **4.4. Protokol primjene lijekova**

Učinak antipsihotika će se proučavati tako da se životinje randomizirano podijele u eksperimentalne skupine. Svaka eksperimentalna skupina štakora prima antipsihotike s tim da ispitivana skupina uz antipsihotike prima i BPC-157 (10 µg/kg i.p; 10 ng/kg i.p.) dok kontrolna skupina prima fiziološku otopinu u jednakoj količini kao i BPC-157 (tablica 16).

Tablica 16. Ispitivani lijekovi i BPC-157/FO po dozama. Svaka eksperimentalna skupina štakora prima antipsihotike s tim da ispitivana skupina uz antipsihotike prima i BPC-157 (10 µg/kg i.p; 10 ng/kg i.p.) dok kontrolna skupina prima fiziološku otopinu 5 ml/kg i.p.

<b>Lijek/1x/dan/7 dana</b>	<b>FO 5 ml/kg i.p.</b>	<b>BPC-157 10 µg/kg i.p.</b>	<b>BPC-157 10 ng/kg i.p.</b>
haloperidol 6,25 mg/kg i.p.	5	5	5
haloperidol 12,5 mg/kg i.p.	5	5	5
haloperidol 25 mg/kg i.p.	5	5	5
kvetiapin 10 mg/kg i.p.	5	5	5
olanzapin 5 mg/kg i.p.	5	5	5
flufenazin 5 mg/kg i.p.	5	5	5
klorpromazin 10mg/kg i.p.	5	5	5
klozapin 10 mg/kg i.p.	5	5	5
levomepromazin 50mg/kg i.p.	5	5	5
metoklopramid 25 mg/kg i.p.	5	5	5
sulpirid 160 mg/kg i.p.	5	5	5
domperidon 10 mg/kg i.p.	5	5	5

Učinak NO sustava će se proučavati tako da se životinje randomizirano podijele u ekperimentalne skupine, a dobivati će ispitivane lijekove kako slijedi :

1. L-NAME 5 mg/kg i.p;
2. L-arginin 100 mg/kg i.p;
3. L-NAME 5 mg/kg ip +L-arginin100 mg/kg i.p.

Protokol primjene lijekova za ispitivanje sustava dušičnog oksida je prikazan u tablicama 17 i 18.

Tablica 17. NO sustav i haloperidol. Protokol primjene lijekova.

L-NAME i L-arginin se primjenjuju jednokratno, istovremeno s BPC-157 i s haloperidolom 25 mg/kg i.p, samostalno i/ili u kombinaciji. Kontrolna skupina prima FO 5 ml/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno uvijek u isto vrijeme, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja.

Lijek/1x/dan/7 dana	FO 5 ml/kg i.p.	BPC-157 10 µg/kg i.p.	BPC-157 10 ng/kg i.p.
L-NAME+haloperidol 25 mg/kg i.p.	5	5	5
L-arginin+haloperidol 25 mg/kg i.p.	5	5	5
L-NAME+L-arginin+haloperidol 25 mg/kg i.p.	5	5	5

Tablica 18. NO sustav i domperidon. Protokol primjene lijekova.

L-NAME i L-arginin se primjenjuju jednokratno, istovremeno s BPC-157 i s domperidonom 10 mg/kg i.p, samostalno i/ili u kombinaciji. Kontrolna skupina prima FO 5 ml/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno uvijek u isto vrijeme, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja.

Lijek/1x/dan/7 dana	FO 5 ml/kg i.p.	BPC-157 10 µg/kg i.p.	BPC-157 10 ng/kg i.p.
L-NAME+domperidon 10 mg/kg i.p.	5	5	5
L-arginin+domperidon 10 mg/kg i.p.	5	5	5
L-NAME+L-arginin+domperidon 10 mg/kg i.p.	5	5	5

L-NAME i L-arginin se primjenjuju jednokratno, istovremeno s BPC-157, te s domperidonom i haloperidolom, samostalno i/ili u kombinaciji, jedan sat prije žrtvovanja. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno uvijek u isto vrijeme s tim da je zadnja aplikacija sedmi dan 1 sat prije žrtvovanja.

#### 4.5. Tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera

Da bi direktno procijenili tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera, štakori su 7. dan, 1 sat nakon zadnje primjene ispitivanih lijekova, randomizirano podvrgnuti operaciji u dubokoj anesteziji kako bi se postavio Foley kateter u želudac, kroz ezofagus ili kroz inciziju u dvanaesnik. Svi štakori, kontrolna i ispitivana skupina su anestezirani s anestetikom tiopentonom u dozi 2 mg/kg. Potom je učinjena manometrijska evaluacija (cm H<sub>2</sub>O) s vodenim manometrom povezanim na drenažni sustav Foleyevog katetera. Proksimalna strana ezofagusne (donji ezofagusni sfinkter) ili distalna strana incizije dvanaesnika (pilorusni sfinkter) su ligirane kako bi se spriječila regurgitacija (10).

#### **4.6. Usmrćivanje životinja**

Po završetku manometrijske evaluacije se životinje žrtvuju primjenom prekomjerne doze anestetika tiopentona.

#### **4.7. Statistička obrada**

Provesti će se statistička analiza koristeći parametrijsku dvosmjernu miješanu analizu varijance ANOVA i Student Newman–Keuls test da bi se usporedile razlike među grupama. Također su bile korištene i neparametrijska Kruscal Wallis i post-hoc Mann Whitney U test. Fisherov egzaktni test se koristio za analizu frekvencije različitosti među grupama. Vrijednost  $p < 0,05$  se smatra statistički značajnom.

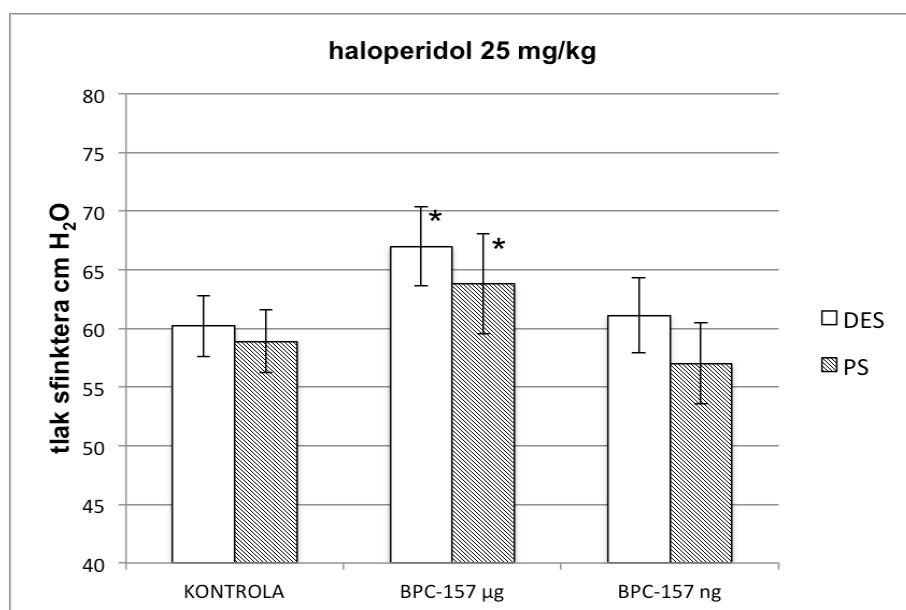


## **5.0. Rezultati**

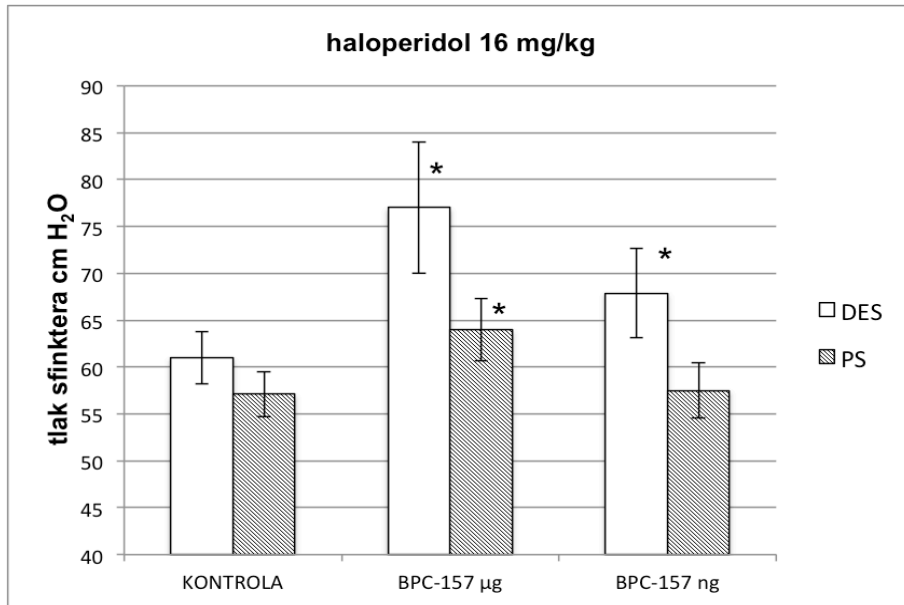
## 5.1. Utjecaj centralnih dopaminskih antagonista na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera

### 5.1.1. Haloperidol

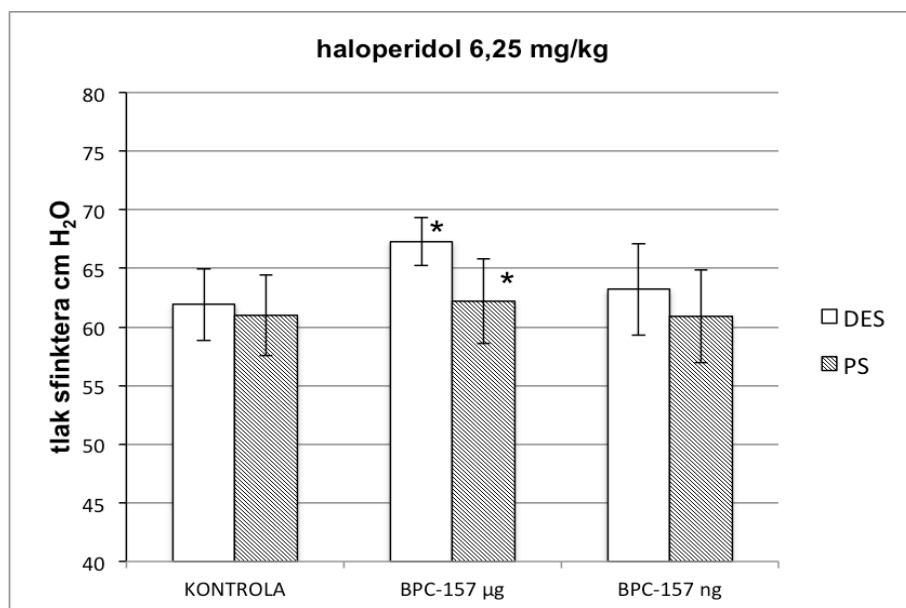
Haloperidol je primjenjen u tri različite doze; 25 mg/kg, 16 mg/kg i 6,25 mg/kg i.p. (slika 8-10). Kod kontrolne skupine životinja su sve tri doze haloperidola dovele do pada tlaka oba sfinktera ispod normalnih vrijednosti. Primjena BPC-157 u dozi 10  $\mu$ g/kg i.p. je dovela do statistički značajnog porasta vrijednosti tlaka oba sfinktera. Primjena niže doze BPC-157, odnosno 10 ng/kg i.p. nije dovela do značajnog oporavka tlaka niti jednog sfinktera izuzev kod primjene haloperidola 16 mg/kg i.p. gdje je porast tlaka donjeg ezofagusnog sfinktera bio statistički značajan (slika 9).



Slika 8. Vrijednosti tlakova donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O  $\pm$  SD nakon primjene haloperidola 25 mg/kg i.p. i fiziološke otopine 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10  $\mu$ g/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \*  $p < 0,05$  najmanje prema kontrolnoj skupini.



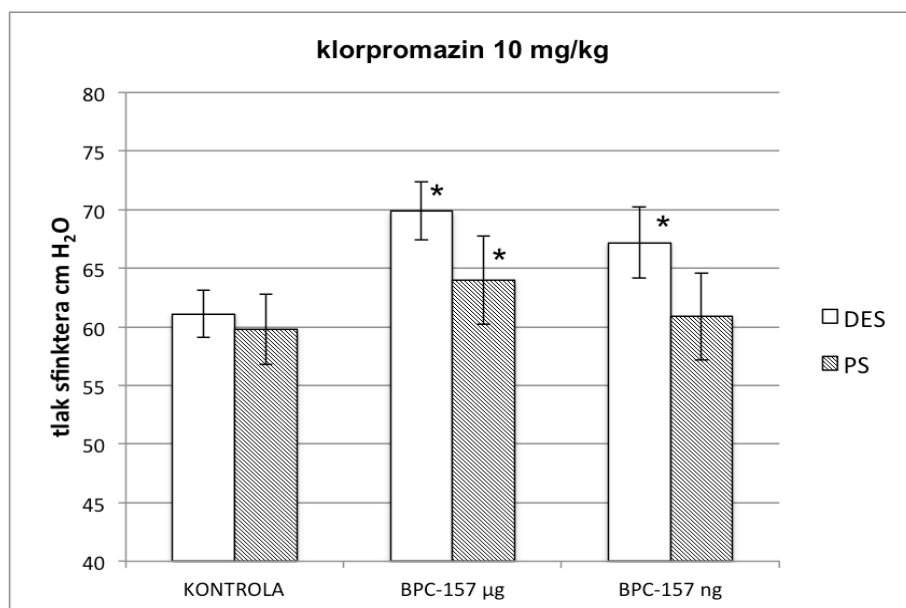
Slika 9. Vrijednosti tlakova donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O ± SD nakon primjene haloperidola 16 mg/kg i.p. i fiziološke otopine 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10 µg/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \* p<0,05 najmanje prema kontrolnoj skupini.



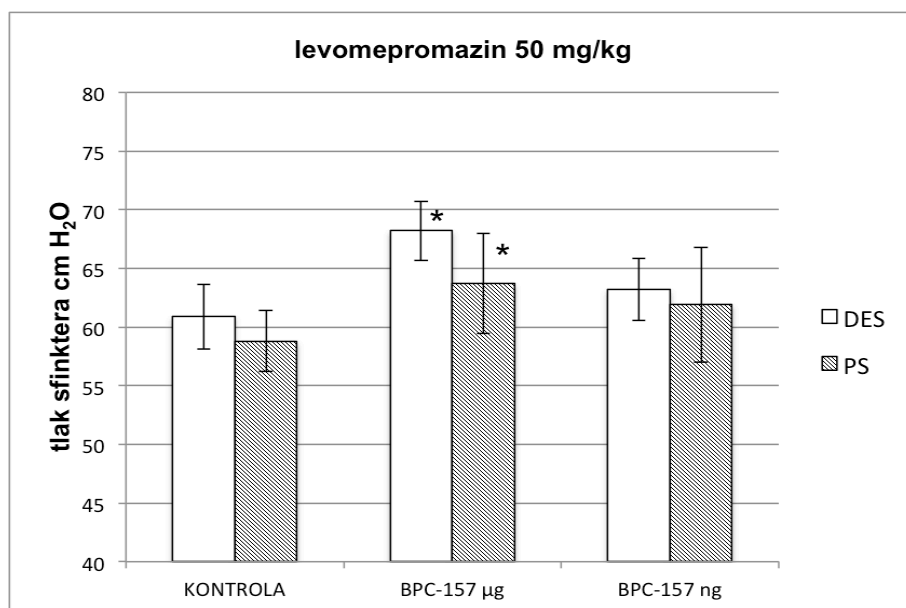
Slika 10. Vrijednosti tlakova donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O ± SD nakon primjene haloperidola 6,25 mg/kg i.p. i fiziološke otopine 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10 µg/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \* p<0,05 najmanje prema kontrolnoj skupini.

### 5.1.2. Klorpromazin, levomepromazin, flufenazin, klozapin, olanzapin, kvetiapin, sulpirid

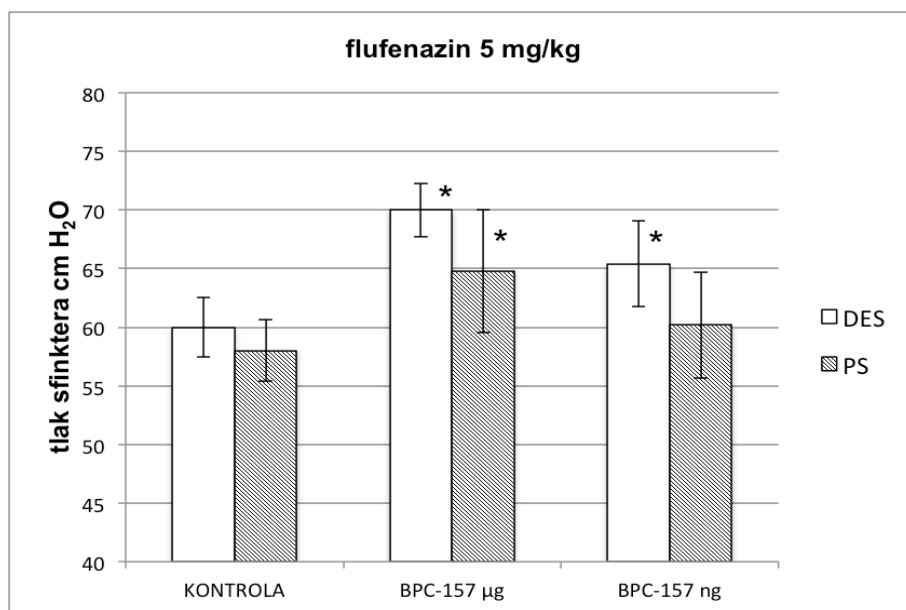
Svi ispitivani centralni antipsihotici dovode do pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera kada su primjenjeni s fiziološkom otopinom (slika 11-18). Primjena BPC-157 u dozi 10 µg/kg dovodi do statistički značajnog porasta tlaka i donjeg ezofagusnog i donjeg pilorusnog sfinktera. Primjena niže doze BPC-157, odnosno 10 ng/kg nije dovela do značajnog oporavka tlaka sfinktera izuzev kod primjene klorpromazina i flufenazina i to samo donjeg ezofagusnog sfinktera bez utjecaja na tlak pilorusnog sfinktera (slika 11-13).



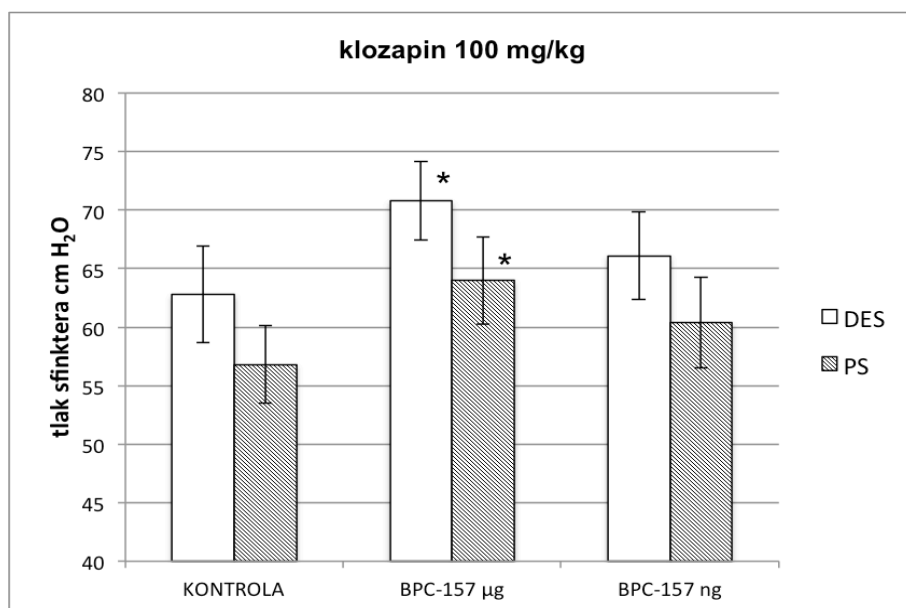
Slika 11. Vrijednosti tlakova donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O ± SD nakon primjene klorpromazina 10 mg/kg i.p. i fiziološke otopine 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10 µg/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \* p<0,05 najmanje prema kontrolnoj skupini.



Slika 12. Vrijednosti tlakova donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O ± SD nakon primjene levomepromazina 50 mg/kg i.p. i fiziološke otopine 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10 µg/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \* p<0,05 najmanje prema kontrolnoj skupini.

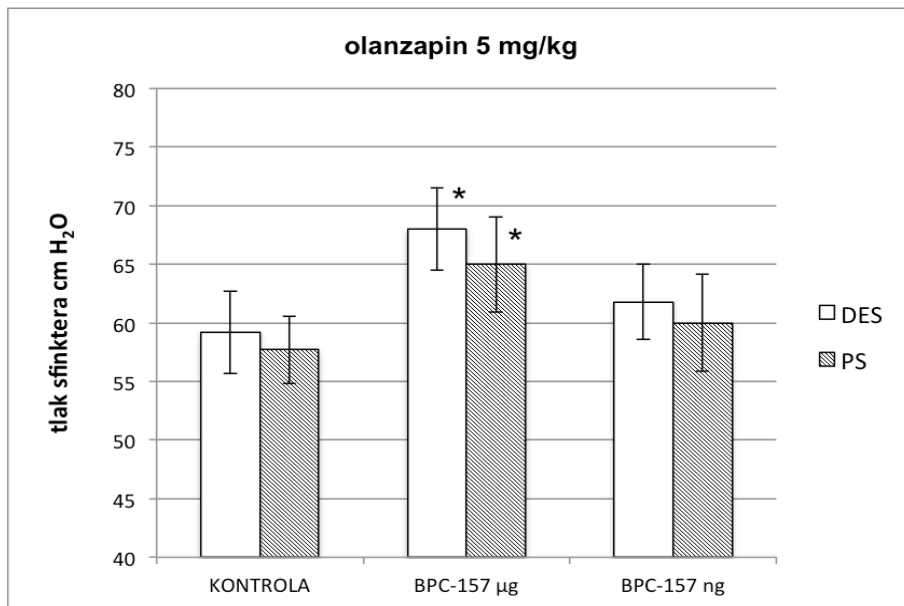


Slika 13. Vrijednosti tlakova donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O ± SD nakon primjene flufenazina 5 mg/kg i.p. i fiziološke otopine 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10 µg/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \* p<0,05 najmanje prema kontrolnoj skupini.

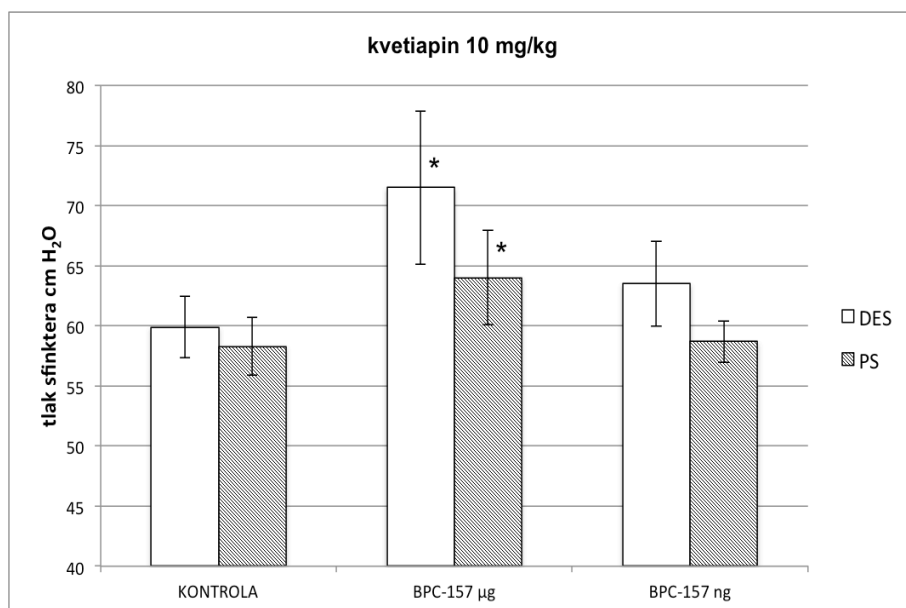


Slika 14. Vrijednosti tlakova donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O ± SD nakon primjene klozapina 100 mg/kg i.p. i fiziološke otopine 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10 µg/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \* p<0,05 najmanje prema kontrolnoj skupini.

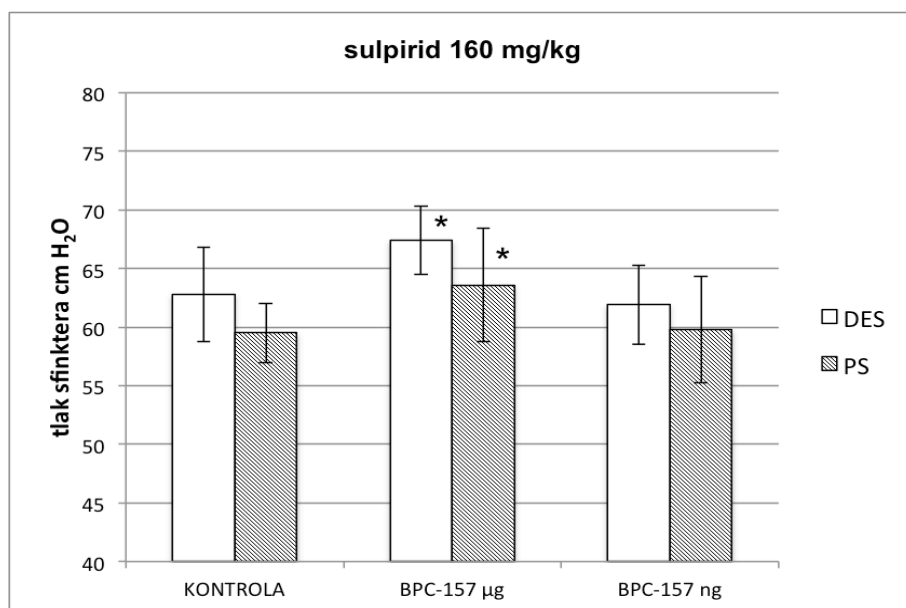




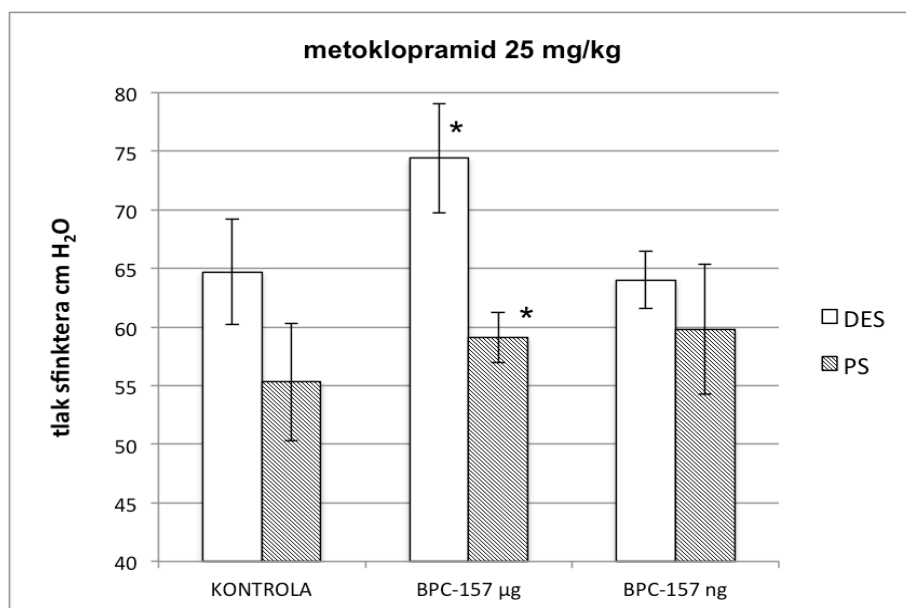
Slika 15. Vrijednosti tlakova donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O ± SD nakon primjene olanzapina 5 mg/kg i.p. i fiziološke otopine 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10 µg/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \* p<0,05 najmanje prema kontrolnoj skupini.



Slika 16. Vrijednosti tlakova donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O ± SD nakon primjene kvetiapina 10 mg/kg i.p. i fiziološke otopine 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10 µg/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \* p<0,05 najmanje prema kontrolnoj skupini.



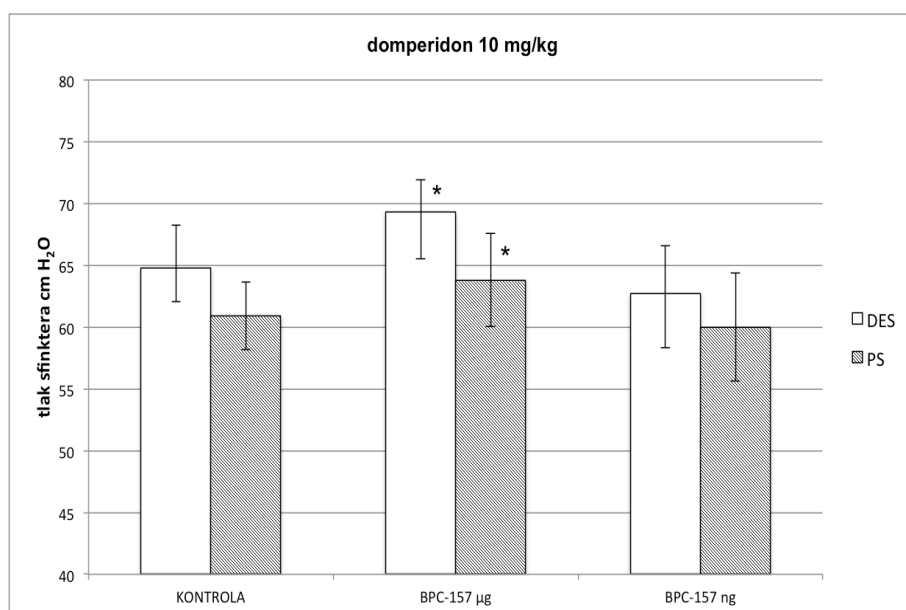
Slika 17. Vrijednosti tlakova donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O ± SD nakon primjene sulpirida 160 mg/kg i.p. i fiziološke otopine 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10 µg/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \* p<0,05 najmanje prema kontrolnoj skupini.



Slika 18. Vrijednosti tlakova donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O ± SD nakon primjene metoklopramida 25 mg/kg i.p. i fiziološke otopine 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10 µg/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \* p<0,05 najmanje prema kontrolnoj skupini.

## 5.2. Utjecaj perifernih dopaminskih antagonista na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera

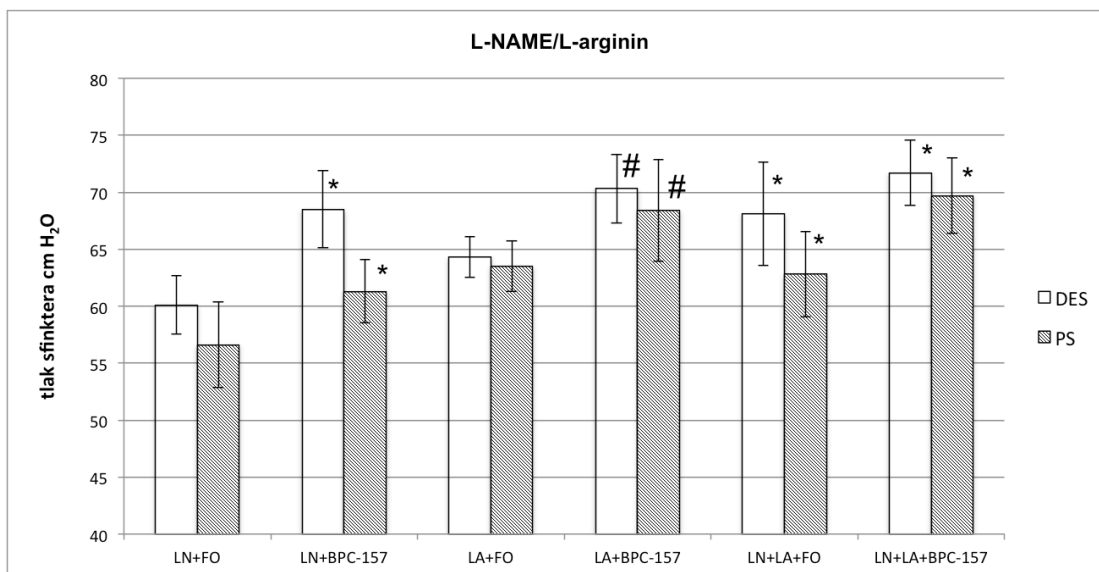
Blokator perifernih dopaminskih receptora, a ujedno i antiemetik domperidon dovodi do pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera dok primjena BPC-157 u dozi 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  antagonizira navedeni pad tlaka. Niža doza BPC-157 nema utjecaj na tlak oporavak tlaka niti jednog ispitanog sfinktera (slika 19).



Slika 19. Vrijednosti tlakova donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u  $\text{cm H}_2\text{O} \pm \text{SD}$  nakon primjene domperidona 10  $\text{mg}/\text{kg}$  i.p. i fiziološke otopine 5  $\text{ml}/\text{kg}$  i.p. (kontrola) ili BPC-157 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  i.p. i 10  $\text{ng}/\text{kg}$  i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \*  $p < 0,05$  najmanje prema kontrolnoj skupini.

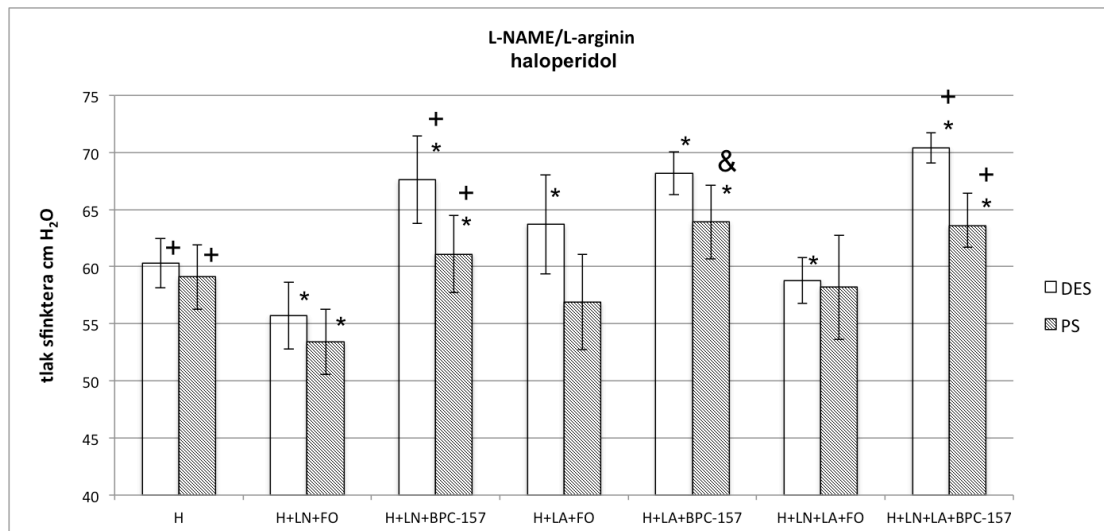
### **5.3. Utjecaj sustava dušičnog oksida na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera**

L-NAME dovodi do pada tlaka oba sfinktera ispod normalnih vrijednosti. Antagonizirajući učinak na pad tlaka donjeg ezofagealnog i pilorusnog sfinktera je zamijećen nakon primjene L-arginina. Naime, značajan pad tlaka sfinktera do kojeg je dovela primjena L-NAME je bio poništen primjenom L-arginina. Porast tlaka je zamijećen ne samo nakon primjene L-arginina već i nakon primjene kombinacije L-arginina i BPC-157. Sam L-arginin je također doveo do blažeg pada tlaka oba sfinktera. BPC-157 je pokazao generalni antagonizirajući učinak na pad tlaka sfinktera izazvanog primjenom L-NAME i/ili L-arginina (slika 20).



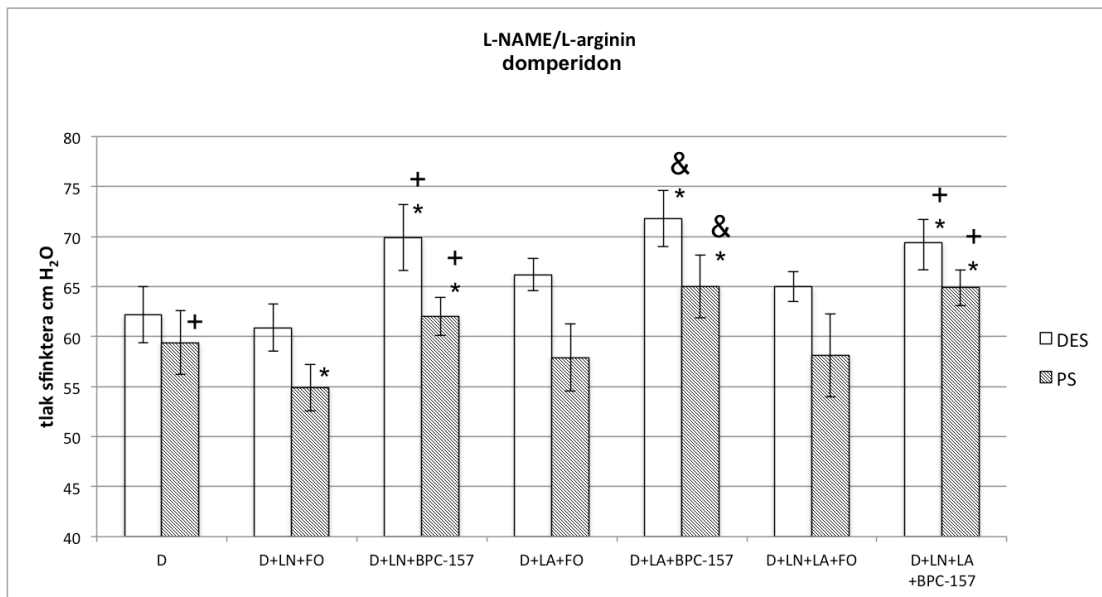
Slika 20. Vrijednosti tlaka donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O ± SD nakon primjene L-NAME (LN) 5 mg/kg i.p, L-arginina (LA) 100 mg/kg i.p. i kombinacije L-NAME i L-arginina te fiziološke otopine (FO) 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10 µg/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \* p<0,05 najmanje prema L-NAME; # p<0,05 najmanje prema L-argininu.

Tlak sfinktera je bio snižen i u štakora koji su primali L-NAME i haloperidol (centralni učinak) (slika 21) ili L-NAME i domperidon (periferni učinak) (slika 22). Stoga se antagonizirajući učinak BPC-157 ne odnosi samo na blokadu centralnih i perifernih dopaminskih receptora već i na blokadu sustava dušičnog oksida. Dodatak BPC-157 L-argininu je smanjio pad tlaka oba sfinktera induciran primjenom L-arginina, što je dovelo do normalizacije vrijednosti tlakova sfinktera, ali nije zamijećen porast preko normalnih vrijednosti (slika 21 i 22).



Slika 21. Vrijednosti tlaka donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O ± SD nakon primjene centralnog dopaminskog antagonista haloperidola (H) 25 mg/kg i.p, L-NAME (LN) 5 mg/kg i.p, L-arginina (LA) 100 mg/kg i.p. i kombinacije L-NAME i L-arginina te fiziološke otopine (FO) 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10 µg/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \* p<0,05 najmanje prema haloperidolu; + p<0,05 najmanje prema haloperidolu + L-NAME; & p<0,05 najmanje prema haloperidolu+L-arginin.





Slika 22. Vrijednosti tlaka donjeg ezofagusnog sfinktera (DES) (prazni stupci) i pilorusnog sfinktera (PS) (crni stupci) u cm H<sub>2</sub>O ± SD nakon primjene perifernog dopaminskog antagonista domperidona (D) 10 mg/kg i.p, L-NAME (LN) 5 mg/kg i.p, L-arginina (LA) 100 mg/kg i.p. i kombinacije L-NAME i L-arginina te fiziološke otopine (FO) 5 ml/kg i.p. (kontrola) ili BPC-157 10 µg/kg i.p. i 10 ng/kg i.p. Lijekovi se primjenjuju intraperitonealno tijekom 7 dana 1x dnevno, a zadnja aplikacija je sedmi dan, 1 sat prije žrtvovanja. Stupci predstavljaju srednje vrijednosti, a okomite linije su standardne pogreške srednje vrijednosti. \* p<0,05 najmanje prema domperidonu; + p<0,05 najmanje prema domperidonu+L-NAME; & p<0,05 najmanje prema domperidonu+L-arginin.

## **6.0. Rasprava**

Ova doktorska disertacija je fokusirana na do sada slabo istraženu interakciju između dopamina i sustava dušičnog oksida, odnosno na pad tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera u živih životinja - štakora koji nastaje kao rezultat zajedničkog direktnog učinka centralnih i perifernih antagonista dopaminskih receptora i blokatora sintetaze dušičnog oksida - L-NAME te antagonizirajućeg učinka pentadekapeptida BPC-157 i L-arginina.

### **6.1. Utjecaj centralnih dopaminskih antagonista na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera**

Dobiveni rezultati pokazuju da nakon primjene svih antagonista dopamina, bilo da se radi o centralnim (slika 8-18) ili perifernim (slika 19) kao i nakon primjene L-NAME koja blokira sintetazu dušičnog oksida (slika 20), dolazi do simultanog pada tlaka oba sfinktera. Stoga se može zaključiti da postoji direktna indukcija poremećaja funkcije sfinktera bilo s blokadom dopamina ili blokadom NO sustava.

Sve tri primjenjene doze haloperidola su kod kontrolne skupine životinja dovele do pada tlaka oba sfinktera ispod normalnih vrijednosti što je primjena BPC-157 u višoj dozi antagonizirala, odnosno došlo je do porasta vrijednosti tlaka oba sfinktera. Nakon primjene niže doze BPC-157 dolazi do blagog neznačajnog porasta tlaka oba sfinktera u odnosu na kontrolnu skupinu životinja, ali te vrijednosti ne dosežu normalne vrijednosti koje za ezofagusni sfinkter iznose 68-74 cmH<sub>2</sub>O te 68-75 cmH<sub>2</sub>O za pilorusni sfinkter (slika 8-10).

Uz haloperidol su ispitivani i drugi centralni antipsihotici odnosno klorpromazin, levomepromazin, flufenazin, klozapin, olanzapin, kvetiapin, sulpirid i metoklopramid koji također dovode do pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera kod kontrolne skupine životinja (slika 11-18). Primjena BPC-157 u višoj dozi značajno povisuje tlak i donjeg ezofagusnog i donjeg pilorusnog sfinktera dok niža doza nije dovela do značajnog oporavka tlaka sfinktera izuzev kod primjene klorpromazina i flufenazina i to samo donjeg ezofagusnog sfinktera bez utjecaja na pilorusni sfinkter (slika 11, 13, 17).

Prema tome, bez obzira na specifičnosti u djelovanjima među pojedinim antipsihoticima, učinak na pad tlaka sfinktera je uvijek prisutan, neovisno o

primjenjenom antipsihotiku, odnosno i kod haloperidola, flufenazina, levomepromazina, klorpromazina, kvetiapina, olanzapina, sulpirida, klozapina i metoklopramida što zapravo znači da je sniženje tlakova donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera učinak antipsihotika kao skupine u cjelini.

Kod zdravih štakora BPC-157 djeluje na sfinktere tako da povećava tlak donjeg ezofagusnog, a smanjuje tlak pilorusnog sfinktera dok kod životinja sa smanjenim tonusom sfinktera isti redovito povećava, odnosno normalizira tlak u sfinkterima i donjem ezofagusnom i pilorusnom (10). Takav učinak BPC-157 na sfinktere predstavlja određeni antirefluksni mehanizam odnosno sfinktersku ravnotežu u normalnim i patološkim okolnostima. Navedeni učinak BPC-157 u smislu sprječavanja povratka gastroduodenalnog sadržaja u ezofagus i ublaživanja ezofagitisa jednak je nakon dvanaest i dvadeset mjeseci trajanja ezofagitisa, ali i u kraćim intervalima, stoga se može zaključiti da učinak BPC-157 nije slučajan, tim više što istovremeno ispitivan, učinak ranitidina, blokatora histaminskih H<sub>2</sub> receptora, nije prisutan (110, 138).

Antipsihotici dovode do oštećenja želučane sluznice u eksperimentalnih životinja, štakora i miševa što se povezuje s blokadom dopaminskih receptora budući da je primjena nekih visoko selektivnih dopaminskih agonista pokazala zaštitni učinak na sluznicu gastrointestinalnog sustava kod parenteralne ili centralne primjene (6, 7, 145). S druge strane, je intravenska ili intraperitonealna primjena antipsihotika s blokadom centralnih ili perifernih dopaminskih receptora dovela do pogoršanja stres ulceracija kod eksperimentalnih životinja (27, 28, 29).

BPC-157 interferira s dopaminskim sustavom budući da antagonizira antipsihoticima izazvanu katalepsiju kao što antagonizira i želučane lezije izazvane antipsihoticima (6). Budući da i antiemetici metoklopramid i domperidon, a koji su također blokatori centralnih i perifernih dopaminskih receptora, dovode do pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera, pad tlaka sfinktera bi mogao biti skupni učinak za sve antagonoste dopamina bilo da se radi o centralnim ili perifernim.

Suprotan, antagonizirajući učinak pentadekapeptida BPC-157 na sniženi tlak sfinktera nakon primjene antipsihotika bi tako mogao biti općeniti antagonizirajući učinak u skladu s prethodno pokazanim antagonizirajućim učinkom samog BPC-157 induciranim primjenom poznatih dopaminskih antagonista (6, 100, 106, 107,

110,146, 147, 148, 149).

Postavlja se pitanje koji je mehanizam odgovoran za pad tlaka donjeg ezofagusnog sfinktera kod primjene metoklopramida, budući da je učinak metoklopramida na tlak upravo suprotan. Naime, metoklopramid dovodi do porasta tlaka donjeg ezofagusnog sfinktera uslijed čega se upotrebljava u liječenju gastroezofagusne refluksne bolesti. Jedan od mogućih mehanizama koji bi mogao objasniti pad tlaka donjeg ezofagusnog sfinktera u našoj studiji je oštećenje sluznice ezofagusa odnosno pojava ezofagitisa. Naime, kod bolesnika koji boluju od gastroezofagusne refluksne bolesti je zamijećeno da kako se pogoršava oštećenje sluznice ezofagusa, od stanja bez ezofagitisa pa do najvećih oštećenja sluznice u sklopu Barrettovog ezofagusa dolazi do progresivnog pada tlaka donjeg ezofagusnog sfinktera, smanjenja amplitude peristaltike u distalnom dijelu ezofagusa s posljedičnim povećanjem broja refluksnih epizoda u 24 sata kao i broja refluksnih epizoda duljih od 5 minuta (2). Takvi podaci ukazuju na važnost održanja cjelovitosti sluznice ezofagusa u klirensu želučane kiseline iz ezofagusa kako ne bi došlo do pogoršanja ezofagusne motorne funkcije.

Poznato je i da se poremećaj motiliteta ezofagusa povećava paralelno s težinom GERB-a, odnosno najmanji je izražen kod neerozivne refluksne bolesti, a najviše je izražen kod Barrettovog ezofagusa (150). Jedna od nuspojava primjene antipsihotika pa i metoklopramida je tardivna diskinezija. Procjenjuje se da nastaje u 1-10% bolesnika liječenih metoklopramidom (151). U literaturi su opisani slučajevi tardivne diskinezije kod bolesnika liječenih s antipsihoticima koji su se manifestirali disfagijom (152). Budući da većina antipsihotika djeluje na više vrsta receptora, blokada kolinergičkih receptora smanjuje motilitet ezofagusa koji smanjuje ezofagealni klirens i time potencijalno dovodi do oštećenja sluznice.

Kad je riječ o atipičnim antipsihoticima, dobro je opisana npr. povezanost klozapina s razvojem GERD-a, odnosno u seriji od 36 bolesnika s GERD-om su 4 bolesnika razvila simptome koji upućuju na razvoj GERD-a 6 tjedana po uvođenju klozapina. Gastroskopski pregled je pokazao srednje težak erozivni ezofagitis u tri od četiri bolesnika (153). U retrospektivnoj kohortnoj studiji se uspoređivala učestalost uvođenja u terapiju lijekova koji smanjuju lučenje želučane kiseline kod bolesnika koji su na terapiji klozapinom u usporedbi s

drugim antipsihoticima. Klozapin je bio povezan s češćim razvojem GERB-a i uvođenjem lijekova koji smanjuju lučenje želučane u terapiju u odnosu na druge antipsihotike (154).

Kad je riječ o analizi vrijednosti tlakova u sfinkterima, čini se da je pilorusni sfinkter jače pogođen od donjeg ezofagusnog sfinktera, uz jači pad tlaka. Navedeno je bilo viđeno s blokatorom sustava dušik oksida - L-NAME kao i sa antagonistima dopamina centralnim, ali i perifernim koji ne prodiru u centralni živčani sustav. Dakle, može se zaključiti da bi insuficijenciju pilorusnog sfinktera trebalo biti teže antagonizirati terapijskom primjenom BPC-157 i L-arginina. Metoklopramid se upotrebljava u liječenju gastropareze zbog toga što dovodi do povećanja frekvencije i amplitude antroduodenalnog motiliteta te bržeg pražnjenja želučanog sadržaja opuštajući pilorusni sfinkter (155, 156).

## **6.2. Utjecaj perifernih dopaminskih antagonista na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera**

Primjena domperidona je kao i primjena metoklopramida dovela do blažeg pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera koji je značajno manje izražen nego kod primjene drugih antipsihotika. Primjena BPC-157 je dovela do porasta tlaka i DES-a i pilorusnog sfinktera. Budući da se domperidon kao i metoklopramid upotrebljava u liječenju GERB-a, postavlja se pitanje čime je uvjetovan navedeni pad tlaka sfinktera. Kad je riječ o donjem ezofagusnom sfinkteru postoje pokazatelji da je učinak domperidona i metoklopramida na porast tlaka donjeg ezofagusnog sfinktera značajno umanjen kod zdravih volontera u odnosu na ljude s GERB-om. Prema nekim studijama tlak DES-a se povećao dva puta kod bolesnika s normalnim tlakom DES-a dok se povećao tri do šest puta u bolesnika s poremećenim tlakom DES-a (157, 158).

Drugi potencijalni mehanizam leži u činjenici korištenja životinjskog modela u odnosu na ispitivanja kod ljudi. Naime, studija na donjem ezofagealnom sfinkteru kod svinja od Sahyoun-a i autora je pokazala da primjena dopamina dovodi prvo do smanjenja, a potom do porasta tlaka DES-a. Primjena domperidona je umanjila kontraktilni odgovor DES-a na dopamin, a čak je dovela i do njegove relaksacije (159).

U slučaju pilorusnog sfinktera, domperidon poput metoklopramida povećava amplitudu i frekvenciju antruduodenalnog motiliteta dovodeći do ubrzanja želučanog pražnjenja relaksirajući pilorusni sfinkter. Iz navedenog se razloga također upotrebljava u liječenju želučane gastropareze, iako je njegova današnja primjena uvelike ograničena prvenstveno srčanim nuspojavama najviše u smislu povećanog rizika nastanka srčanih aritmija.

### **6.3. Utjecaj doze BPC-157 na antagonizaciju pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera izazvanu primjenom centralnih i perifernih antagonista dopaminskih receptora**

Pad tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera izazvan blokadom centralnih (haloperidol, flufenazin, levopromazin, klorpromazin, kветiepin, olanzapin, sulpirid, klozapin i metoklopramid) i perifernih (domperidon) dopaminskih receptora je štetniji nego što je viđeno u našim ranijim studijama gdje su poremećaji poput akutnog i kroničnog ezofagitisa, akutnog pankreatitisa, poremećaji izazvani manipulacijom s glavnim žučovodom ili s poremećajima kao što je teška hiperkalijemija dosljedno suzbijani i s većim ( $\mu\text{g}$ ) i s manjim (ng) dozama BPC-a 157 (10, 138, 162, 171). Primjena niže doze BPC-157 (10 ng/kg) nije dovela do značajnog oporavka tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera (primjena mikrograma je bila učinkovitija od odgovarajuće primjene nanograma).

### **6.4. Utjecaj sustava dušičnog oksida na tlak donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera**

Dobiveni rezultati također pokazuju da je sustav dušičnog oksida bar dijelom umiješan budući da je pad tlaka i donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera izazvan primjenom L-NAME antagoniziran primjenom L-arginina. Porast tlaka oba sfinktera u našem modelu je zamijećen ne samo nakon primjene L-arginina već i nakon primjene kombinacije L-arginina i BPC-157. Primjena L-arginina samog je također dovela do blažeg pada tlaka oba sfinktera. BPC-157 je pokazao generalni antagonizirajući učinak na pad tlaka sfinktera izazvanog primjenom L-NAME i/ili L-arginina (slika 20).

Normalizacija tlaka oba sfinktera, a uslijed i nakon primjene BPC-157 te suprotan učinak BPC-157 na sniženje tlakova sfinktera, inače uzrokovanog primjenom L-NAME ili L-arginina, je općeniti antagonizirajući učinak BPC-157 na poremećaje uzrokovane primjenom lijekova koji djeluju na sustav dušičnog oksida (posebno blokatora sintetaze dušičnog oksida-L-NAME) (160, 161, 162, 163, 164, 165, 166). Slično, uzimajući u obzir dodatno pogoršanje funkcije sfinktera, a kao paralelu blokadi sustava dušičnog oksida, primjena L-NAME dovodi do još jače disfunkcije sfinktera, odnosno do još većeg pada tlaka kad se primjeni zajedno s haloperidolom i domperidonom što znači povećanu inhibiciju i daljnju disfunkciju sustava dušičnog oksida što je neželjena posljedica blokade perifernih i/ili centralnih dopaminskih receptora (167).

Usljed navedenog, antagonizirajuće djelovanje BPC-157 (kao što je i antagonizirajuće djelovanje L-arginina) znači da BPC-157 uspješno normalizira vrijednosti tlaka u sfinkterima u uvjetima blokade oba sustava, i dopaminskog i NO. Isto tako, antagonizirajući potencijal L-arginina, jasno ukazuje na to da su i dopamin i NO sustav, odnosno njihova funkcija i disfunkcija, jasno međusobno povezani u održavanju funkcije donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera. Konačno, istovremena insuficijencija, odnosno, istovremen pad tlaka oba sfinktera, donjeg ezofagusnog i pilorusnog je u skladu s našim prijašnjim istraživanjima (10, 138).

Uzevši u obzir da je dušični oksid općenito prihvaćen kao relaksator donjeg ezofagusnog sfinktera (168, 169), postavlja se pitanje zašto naši rezultati pokazuju suprotan učinak. Odnosno, inhibicija sintetaze dušičnog oksida dovodi do smanjenja tlaka DES-a, dok ga primjena L-arginina, koji je donator NO, antagonizira. Studije koje pokazuju relaksirajući učinak NO na DES su provedene na zdravim životinjama ili na izoliranim mišićnim vlaknima što je u suprotnosti s okolnostima u kojima su provedene naše studije (169). Naime, u našoj studiji su primjenjivani blokatori dopaminskih receptora koji dovode do oštećenja sluznice želuca i jednjaka, stoga mi smatramo da narušavanje integriteta sluznice dovodi do disfunkcije sfinktera. Nadalje, ozljeda sluznice podrazumijeva i oštećenje endotela, a time i narušeno stvaranje endotelijalnog dušičnog oksida (170). Osim toga, ne postoje studije u kojima su istovremeno ispitivani L-NAME i L-arginin.

Kad je riječ o analizi vrijednosti tlakova u sfinkterima, čini se da je



pilorusni sfinkter jače pogođen od donjeg ezofagusnog sfinktera, uz jači pad tlaka. Navedeno je bilo viđeno nakon primjene blokatora sintetaze dušičnog oksida- L-NAME kao i s centralnim i perifernim antagonistima dopaminskih receptora.

Dakle, može se zaključiti da je insuficijenciju pilorusnog sfinktera teže antagonizirati terapijskom primjenom BPC-157 i L-arginina. Činjenica da BPC-157 suzbija učinak L-NAME bolje od L-arginina otvara mogućnost da BPC-157 i L-arginin djeluju na dva odvojena sustava dušičnog oksida (11, 51, 106, 166, 167). Stoga, uzevši u obzir povećanje tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera, primjena BPC-157 poboljšava učinak L-arginina na oba sfinktera, vraćajući vrijednosti tlakova na normalu, ali ne i iznad normale. Navedeno bi prema tome moglo predstavljati mehanizam održavanja tlakova donjeg ezofagusnog kao i pilorusnog sfinktera. To se moglo vidjeti kod blokade sustava dušik oksida primjenom L-NAME kao i kod centralne (haloperidol) i periferne (domperidon) blokade dopaminskog sustava.

Zaključno, s centralnom ili perifernom blokadom dopaminskog sustava ili blokadom sustava dušičnog oksida s L-NAME, zajedno sa prethodnim blagotvornim učincima na funkciju sfinktera (10, 138, 167, 171), BPC-157 predstavlja određeni terapijski učinak koji općenito može ublažiti pad tlaka u donjem ezofagusnom i pilorusnom sfinkteru.

## **7.0. Zaključci**

Doktorska disertacija „Učinak antipsihotika i pentadekapeptida BPC-157 na donji ezofagusni i pilorusni sfinkter u štakora“ je dovela do slijedećih zaključaka:

1. Sve tri doze haloperidola dovode do pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera ispod normalnih vrijednosti. Primjena BPC-157 u višoj dozi je dovela do statistički značajnog porasta vrijednosti tlaka oba sfinktera. Primjena niže doze BPC-157 nije dovela do značajnog oporavka tlaka niti jednog sfinktera izuzev kod primjene haloperidola 16 mg/kg i.p. gdje je porast tlaka donjeg ezofagusnog sfinktera bio statistički značajan;
2. Svi ispitivani centralni antagonisti dopamina (haloperidol, kvetiapin, olanzapin, flufenazin, klorpromazin, klozapin, levomepromazin, metoklopramid, sulpirid) dovode do pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera. Primjena BPC-157 u višoj dozi dovodi do statistički značajnog porasta tlaka i donjeg ezofagusnog i donjeg pilorusnog sfinktera. Primjena niže doze BPC-157 nije dovela do značajnog oporavka tlaka sfinktera izuzev kod primjene klorpromazina i flufenazina i to samo donjeg ezofagusnog sfinktera bez utjecaja na tlak pilorusnog sfinktera;
3. Domperidon dovodi do pada tlaka donjeg ezofagusnog i pilorusnog sfinktera dok primjena BPC-157 u višoj dozi antagonizira pad tlaka. Niža doza BPC-157 nema utjecaja na oporavak tlaka niti jednog ispitivanog sfinktera;
4. L-NAME dovodi do pada tlaka oba sfinktera ispod normalnih vrijednosti. L-arginin antagonizira pad tlaka donjeg ezofagealnog i pilorusnog sfinktera izazvan primjenom L-NAME. Porast tlaka je zamijećen nakon primjene kombinacije L-arginina i BPC-157. Sam L-arginin je također doveo do blažeg pada tlaka oba sfinktera. BPC-157 je pokazao antagonizirajući učinak na pad tlaka sfinktera izazvanog primjenom L-NAME i/ili L-arginina;

## **8.0. Sažetak**

Nije poznato kako antagonisti dopamina, L-NAME, L-arginin i želučani pentadekapeptid BPC-157 utječu na donji ezofagusni (DES) i pilorusni sfinkter (PS) u štakora. Otkrili smo pad tlaka DES-a i PS-a koji je posljedica učinka antipsihotika kao skupine u cjelini, te antiemetika, što uključuje sve testirane antagoniste dopamina i centralne (haloperidol, kvetiapin, olanzapin, flufenazin, klorpromazin, klozapin, levomepromazin, metoklopramid, sulpirid) i periferne (domperidon). Osim toga, BPC-157 primjenjen intraperitonealno sam i/ili u kombinaciji, jednom dnevno tijekom sedam dana u većoj dozi (10µg/kg), neutralizira pad tlaka izazvan antipsihoticima. L-NAME je izazvao značajan pad oba sfinktera i dodatno pogoršao haloperidolom i domperidonom izazvan pad tlaka, a L-arginin je doveo do manjeg pada tlaka oba sfinktera, ali je antagonizirao učinak L-NAME. L-arginin je djelomično neutralizirao učinak dopaminskih antagonista (haloperidol-DES), te pad tlaka izazvan haloperidolom (DES) i domperidonom (PS) koji su još više pogoršani dodavanjem L-NAME. Dodatni antagonizirajući učinak BPC-157 je neutralizacija pada tlaka sfinktera koji je induciran primjenom L-NAME ili L-arginina, kao što je i kompletno poništenje pada tlaka izazvanog primjenom haloperidola i domperidona (PS), dodatno potenciranog primjenom L-NAME. U zaključku, antagonizirajući potencijal BPC-157 (i antagonizirajući potencijal L-arginina) bi mogao doći do izražaja u stanjima kao što su blokada dopaminskih receptora i blokada sustava dušičnog oksida.

## **9.0. Summary**

It is not known how dopamine antagonists, L-NAME, L-arginine and stable gastric pentadecapeptide BPC-157 would interact with lower esophageal and pyloric sphincter pressure in rats (LES, PS). We revealed a fall in pressure within LES and PS as an indicative class effect of peripherally and centrally acting antipsihotics. In addition, given intraperitoneally alone and/or combined, all agents once daily through seven days, last application 24h before pressure assessment, BPC-157 mostly dose-dependently, counteracts all pressure falls induced by all antipsihotics; L-NAME induced a marked fall in both sphincters and worsened haloperidol and domperidone-failure; L-arginine induced a smaller fall in both sphincters, but reversed L-NAME effect, and partly counteracted dopamine antagonists failure effect (haloperidol (LES)) as well as worsening of both haloperidol (LES) and domperidone (PS)-failure induced by L-NAME. Additional counteracting effect of BPC-157 was general, including all pressure decrease otherwise induced by L-NAME or L-arginine, as well as complete counteraction of both sphincters pressure worsening of haloperidol and domperidone (PS)-failure otherwise induced by L-NAME administration. In conclusion, counteracting potential of BPC-157 (as well as counteracting potential of L-arginine) can be against the conditions of dopamine receptor blockade and NOS-blockade.

## **10.0. Životopis**



## **Osobni podaci**

Ime i prezime: Željka Belosić Halle

Datum rođenja: 16.05.1972.

Mjesto rođenja: Zagreb, Hrvatska

## **Školovanje i radno iskustvo**

2013. god. subspecijalist gastroenterologije i hepatologije

2010. god. subspecijalizacija iz hepatogastroenterologije

2006. god. položen specijalistički ispit iz interne medicine

2001.-2006. god. specijalizantski staž, KB «Sveti Duh»

1999.-2001. god. znanstveni novak, Zavod za gastroenterologiju i hepatologiju, KB «Sveti Duh»

1997.-1998. god. stažiranje za KB «Sveti Duh»

1997. god. završen Medicinski fakultet Sveučilista u Zagrebu

1991. god. završila Matematičko-informatičku gimnaziju u Zagrebu

1987. god. završila osnovnu školu u Zagrebu

## **Popis radova:**

1. Bago J, Majstorovic K, Belosic Halle Z, Kucisec N, Bakula V, Tomic M, Bago P, Troskot R. Antimicrobial resistance of H. pylori to the outcome of 10-days vs. 7-days moxifloxacin based therapy for the eradication: a randomised controlled trial. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2010;15:9-13.
2. Bago J, Galovic A, Belosic Halle Z, Bilic A, Bevanda M, Bago P. Comparison of the efficacy of 25mg and 500mg clarithromycin used with lansoprazole and amoxicillin in eradication regimens for H. pylori infection. Wien Klin Wochenschr 2004;116:495-9.
3. Bago J, Strinic D, Belosic Halle Z, Bilic A. Effect of Helicobacter pylori eradication on extent of duodenal gastric metaplasia and grade of gastritis. Coll Antropologicum 2002;26:557-63.

4. Bago J, Belosic Halle Z, Strinic D, Bilic A, Kucisec N, Jandric D. The impact of primary antibiotics resistance on ranitidine bismuth citrate vs. Omeprazole-based one week triple therapies in H. pylori eradication-a randomised controlled trial. Wiener Klinische Wochenschrift 2002;114:448-53.

### **Kongresni sazeci:**

- 1) Bago J, Belosic Halle Z, Majstorovic K, Bakula M, Troskot Peric R. Second-line treatment for Helicobacter pylori infection: Moxifloxacin based triple therapy during 10 days versus 7 days Bismuth containing quadruple therapy. 16.th United European Gastroenterology Week; 2011 October 21-26; Stockholm, Sweden. Gut 2011; vol 43 Supplement I:P1042.
- 2) Bago J, Majstorovic K, Bakula V, Troskot-Peric R, Marusic M, Belosic Halle Z. Primary antibiotic resistance of H.pylori in patients with dyspepsia in Croatia over the period from march 2005 to july 2008. XXII international workshop on Helicobacter pylori related bacteria in chronic digestive inflammation and gastric cancer; 2009 September 17-18; Porto, Portugal. Helicobacter 2009; vol 14(4).
- 3) Bago J, Belosic Halle Z, Troskot Peric R, Marusic M, Kucisec N, Pevac B. Antimicrobial resistance of Helicobacter pylori to the outcome of 10-days vs 7-days moxifloxacin based therapy for the eradication. 16.th United European Gastroenterology Week; 2008 October 18-22; Vienna, Austria. Gut 2008; vol 57 Supplement II:A49.
- 4) Bago J, Belosic Halle Z, Strinic D, Maric N, Jurcic D, Bilic A. The influence of Helicobacter pylori infection on gastroesophageal reflux disease. 12.th United European Gastroenterology Week; 2004 September 25-29; Prague, Czech Republic. Gut 2004; vol 53 Supplement II:A114.
- 5) Bago J, Strinic D, Belosic Halle Z, Bilic A. Effect of H. pylori eradication on extent of duodenal gastric metaplasia and grade of gastritis. World

Congresses of Gastroenterology; 1998 September 6-11; Vienna, Austria. Digestion 1998; Supplement III:81-82.

- 6) Bago J, Belosic Halle Z, Strinic D, Bilic A. Antimicrobial resistance of *H. pylori* to the outcome of dual vs triple lansoprazole based therapy for eradication. 9.th United European Gastroenterology Week; 2001 October 6-10; Amsterdam, The Netherlands. Gut 2001; Vol. 49 Supplement III:A2723.
- 7) Bago J, Galovic A, Belosic Halle Z, Bilic A. 250mg versus 500 mg of clarithromycin used with lansoprasole and amoxysillin in eradication of *Helicobacter pylori* infection. 11.th United European Gastroenterology Week; 2003 November 1-5; Madrid, Spain. Gut 2003; vol 35 Supplement II: A204.

## **11.0. Literatura**

- 
1. Tutuiian R. Adverse effects of drugs on the esophagus. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2010;24:91-7.
  2. Meneghetti AT, Tedesco P, Damani T, Patti MG. Esophageal mucosa damage may promote dysmotility and worsen esophageal acid exposure. *J Gastrointest Surg.* 2005;9:1313-7.
  3. Sugimoto M, Nishino M, Kodaira C, Yamade M, Ikuma M, Tanaka T, Sugimura H, Hishida A, Furuta T. Esophageal mucosal injury with low-dose aspirin and its prevention by rabeprazole. *J Clin Pharmacol.* 2010;50:320-30.
  4. Chandra A, Ghoshal UC, Gupta V, Jauhari R, Srivastava RN, Misra A, Kumar A, Kumar M. Physiological and functional evaluation of the transposed human pylorus as a distal sphincter. *J Neurogastroenterol Motil.* 2012;18:269-77.
  5. Sun HZ, Zhao SZ, Ai HB. Role of nitric oxide in the control of the gastric motility within the nucleus ambiguus of rats. *J Physiol Pharmacol.* 2012;63:623-9.
  6. Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, Petek M, Marovic A, Perovic D, Saiwerth S, Mise S, Turkovic B, Dodig G, Miklic P, Buljat G, Prkacin I. 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.
  7. Glavin GB, Hall AM. Brain-gut relationships: gastric mucosal defense is also important. *Acta Physiol Hung.* 1992;80:107-15.
  8. Wallace J, Keenan C, Mugridge K, Parente L. Reduction of the severity of experimental gastric and duodenal ulceration by interleukin – 1 beta. *Eur J Pharmacol.* 1990;186:279-84.
  9. Robert A, Olafsson A, Lancaster C, Zhang W. Interleukin 1 is cytoprotective, antisecretory, stimulates PGE2 synthesis by the stomach, and retards gastric emptying. *Life Sci.* 1991;48:123-34.
  10. Petrovic I, Dobric I, Drvis P, Shejbal D, Brcic L, Blagaic AB, Batelja L, Kokic N, Tonkic A, Mise S, Baotic T, Staresinic M, Radic B, Jakir A, Vuksic T, Anic T, Seiwerth S, Sikiric P. An experimental model of prolonged esophagitis with sphincter failure in rat and the therapeutic

- 
- potential of gastric pentadecapeptide BPC-157. *J Pharmacol Sci.* 2006;102:269-77.
11. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, Turkovic B, Rotkvic I, Mise S, Zoricic I, Konjevoda P, Perovic D, L. Jurina, Separovic J, Hanzevacki M, Artukovic B, Bratulic M, Tisljar M, Gjurasin M, Miklic P, Stancic-Rokotov D, Slobodnjak Z, Jelovac N, Marovic A. The influence of a novel pentadecapeptide, BPC-157, on N(G)-nitro-L-arginine methylester and L-arginine effects on stomach mucosa integrity and blood pressure. *Eur J Pharmacol.* 1997;33:23-33.
  12. Hotujac LJ, Junaci S. *Klinicka primjena antipsihotika.* Zagreb: Janssen-Cilag, 1997.
  13. Hirsch SR, Barnes TRE. The clinical treatment of schizophrenia with antipsychotic medication. In: Hirsch SR, Weinberger DR. *Schizophrenia.* Oxford:Blackwell Science, 1995:443.
  14. Jakovljevic M. *Suvremena farmakoterapija shizofrenije.* Zagreb: Medicinska naklada & Pro Mente, 2001.
  15. Janicak PG, Davis JM, Preskorn SH, AYD F. *Principles and practice of psychopharmacotherapy.* Baltimore: Williams And Willkins, 1992:93.
  16. Seeman P. Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Synapse.* 1987;1:133-52.
  17. Geddes J, Freemantle N, Harrison P, Bebbington P. Atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia: systematic overview and meta-regression analysis. *Br Med J.* 2000;321:1371-76.
  18. Kapur S, Seeman P. Does fast dissociation from the dopamine D2 receptor explain the action of atypical antipsychotics? A new hypothesis. *Am J Psychiatry.* 2001;158:360-69.
  19. Glavin GB, Szabo S. Dopamine in gastrointestinal disease. *Dig Dis Sci.* 1990;35:1153-61.
  20. Glavin GB, Szabo S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. *FASEB J* 1992;6:825-31.
  21. Weiner H. Use of animal models in peptic ulcer disease. *Psychosom Med.* 1996;58:524-45.

- 
22. Szabo S. Dopamine disorder in duodenal ulceration. *Lancet* 1979;2:880-2.
  23. Desai JK, Goyal RK, Parmar NS. Gastric and duodenal anti-ulcer activity of SKF 38393, a dopamine D1-receptor agonist in rats. *J Pharm Pharmacol*. 1995;47:734-8.
  24. Parmar NS, Tariq M, Ageel AM, Al-Khamis KI. Effect of domperidone on experimentally induced gastric ulcers in rats. *Int J Tissue React*. 1986;8:67-70.
  25. Grabarevic Z, Rotkvic I, Sikiric P, Seiwerth S, Dzaja P, Peric J, Kos J. Brain-mediated protective interactions of histaminergic H<sub>2</sub> and dopaminergic systems in rats. *Acta Vet Hung*. 1997;45:85-93.
  26. Hernandez DE, Walker CH, Valenzuela JE, Mason GA. Increased dopamine receptor binding in duodenal mucosa of duodenal ulcer patients. *Dig Dis Sci*. 1989;34:543-7.
  27. Desai JK, Goyal RK, Parmar NS. Characterisation of dopamine receptor subtypes involved in experimentally induced gastric and duodenal ulcers in rats. *J Pharm Pharmacol*. 1999;51:187-92.
  28. Glavin GB. Central dopamine involvement in experimental gastrointestinal injury. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1992;16:217-21.
  29. Glavin GB. Activity of selective dopamine DA<sub>1</sub> and DA<sub>2</sub> agonists and antagonists on experimental gastric lesions and gastric acid secretion. *J Pharmacol Exp Ther*. 1989;25:726-30.
  30. Benelli A, De Pol A, Poggioli R, Cavazzuti E, Arletti R, Bertolini A, Vergoni AV. L -sulpiride, at antidepressant dosage, prevents conditioned-fear stress-induced gastric lesions in rats. *Pharmacol Res*. 2000;42:157-60.
  31. Rasheed N, Ahmad A, Singh N, Singh P, Mishra V, Banu N, Lohani M, Sharma S, Palit G. Differential response of A 68930 and sulpiride in stress-induced gastric ulcers in rats. *Eur J Pharmacol*. 2010;643:121-8.
  32. Nomura K, Maeda N, Kuratani K, Yamaguchi I. Sulpiride specifically attenuates psychological stress-induced gastric lesions in rodents. *Jpn J Pharmacol*. 1995;68:33-9.

- 
33. Nishimori I, Onishi S, Takeuchi H, Supuran CT. The alpha and beta classes carbonic anhydrases from *Helicobacter pylori* as novel drug targets. *Curr Pharm Des.* 2008;14:622-30.
  34. Glavin GB, Hall AM. Clozapine, a dopamine DA4 receptor antagonist, reduces gastric acid secretion and stress-induced gastric mucosal injury. *Life Sci.* 1994;54:261-4.
  35. Sikiric P, Marovic A, Matoz W, Anic T, Buljat G, Mikus D, Stancic-Rokotov D, Separovic J, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Ziger T, Sebecic B, Zoricic I, Turkovic B, Aralica G, Perovic D, Duplancic B, Lovric-Bencic M, Rotkvic I, Mise S, Jagic V, Hahn V. 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-tetrahydrophrydine. *J Physiol Paris.* 1999;93:505-12.
  36. Ozdemir V, Jamal MM, Osapay K, Jadus MR, Sandor Z, Hashemzadeh M, Szabo S. Cosegregation of gastrointestinal ulcers and schizophrenia in a large national inpatient discharge database: revisiting the "brain-gut axis" hypothesis in ulcer pathogenesis. *J Investig Med.* 2007;55:315-20.
  37. Tumilasci OR, Cersósimo MG, Belforte JE, Banarroch EE, Pazo JH. Quantitative study of salivary secretion in Parkinson's disease. *Mov Disor.* 2006;21:660-7.
  38. Nóbrega AC, Rodrigues B, Torres AC, Scarpel RD, Nerves CA, Melo A. Is drooling secondary to a swallowing disorder in patients with Parkinson's disease? *Parkinsonism Relat Disord.* 2008;14:243-5.
  39. Scott VF. Gastroesophageal reflux disease: diagnosis and management. *J Assoc Acad Minor Phys.* 2000;11:12-14.
  40. Henry MA, Athanasio EI. Effect of metoclopramide, ranitidine, and droperidol on the lower sphincter of the esophagus. Experimental study on the opossum (*Didelphis albiventris*). *Arq Gastroenterol.* 1994;31:103-7.



- 
41. Durazo FA, Valenzuela JE. Effect of single and repeated doses of metoclopramide on the mechanisms of gastroesophageal reflux. *Am J Gastroenterol.* 1993;88:1657-62.
  42. Grande L, Lacima G, Ros E, García-Valdecasas JC, Fuster J, Visa J, Pera C. Lack of effect of metoclopramide and domperidone on esophageal peristalsis and esophageal acid clearance in reflux esophagitis. A randomized, double-blind study. *Dig Dis Sci.* 1992;37:583-8.
  43. DiPalma JR. Metoclopramide: a dopamine receptor antagonist. *Am Fam Physician.* 1990;41:919-24.
  44. Patterson D, Abell T, Rothstein R, Koch K, Barnett J. A double-blind multicenter comparison of domperidone and metoclopramide in the treatment of diabetic patients with symptoms of gastroparesis. *Am J Gastroenterol.* 1999;94:1230-4.
  45. Valenzuela JE, Defilippi C, Csendes A. Manometric studies on the human pyloric sphincter. Effect of cigarette smoking, metoclopramide, and atropine. *Gastroenterology.* 1976;70:481-3.
  46. Justin – Besancon L, Grivaux M, Wattez E. The metoclopramide test in digestive radiology. *Bull Soc Med Hop.* 1964;115:721-6.
  47. Hancock BD, Bowen-Jones E, Dixon R, Dymock IW, Cowley DJ. The effect of metoclopramide on gastric emptying of solid meals. *Gut.* 1974;15:426-67.
  48. Robert A. Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterology* 1979;77:761-7.
  49. Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Davis JP, Field SO, Hanchar AJ. Mild irritants prevent gastric necrosis through “adaptive cytoprotection” mediated by prostaglandins. *Am J Physiol.* 1983;245:113-21.
  50. Robert A. Cytoprotection and adaptive cytoprotection. In: *Peptic ulcer disease: Basic and clinical aspects* (Nelis GF, Boeve JJ, Misiewicz, ur). Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 1985; pp. 297-316.
  51. Boban Blagaic A, Blagaic V, Romic Z, Sikiric P. The influence of gastric pentadecapeptide BPC-157 on acute and chronic ethanol administration in mice. *Eur J Pharmacol.* 2009;60:177-81.

- 
52. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, Turkovic B, Rotkvic I, Mise S, Zoricic I, Konjevoda P, Perovic D, Simicevic V, Separovic J, Hanzevacki M, Ljubanovic D, Artukovic B, Bratulic M, Tisljar M, Rekic B, Gjurasin M, Miklic P, Buljat G. Pentadecapeptide BPC-157 positively affects both nonsteroidal anti-inflammatory agent induced gastrointestinal lesions and adjuvant arthritis in rats. *J Physiol Paris*. 1997;91:113-22.
  53. Sikiric P, Seiwerth S, Brcic L, Sever M, Klicek R, Radic B, Drmic D, Ilic S, Kolenc D. Revised Robert's cytoprotection and adaptive cytoprotection and stable gastric pentadecapeptide BPC-157. Possible significance and implications for novel mediator. *Curr Pharm Des*. 2010;16:1-11.
  54. Palkovits M. Interconnections between the neuroendocrine hypothalamus and the central autonomic system. *Front Neuroendocrinol*. 1999;20:270-95.
  55. Kochar NI, Chandewal AV, Bakal RL, Kochar PN. Nitric oxide and the gastrointestinal tract. *Int J of Pharmacol*. 2011;7:31-9.
  56. Duncan C, Dougall H, Johnston P, Green S, Brogan R, Leifert C, Smith L, Golden M, Benjamin N et al. Chemical generation of nitric oxide in the mouth from the enterosalivary circulation of dietary nitrate. *Nat Med*. 1995;1:546-51.
  57. Brittain T, Blackmore R, Greenwood C, Thomson AJ et al. Bacterial nitrite-reducing enzymes. *Eur J Biochem*. 1992;209:793-802.
  58. Stark ME, Szurszewski. Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. *Gastroenterology*. 1992;103:1928-49.
  59. Bult H, Boeckmore GE, Pelckmans PA, Jordaens FH, Van Maercke YM, Herman AG. Nitric oxide as inhibitory non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitter. *Nature*. 1990;354:346-7.
  60. Mashimo H, Goyal RK. Lessons from genetically engineered animal models. IV. Nitric oxide synthase gene knockout mice. *Am J Physiol*. 1999;277:745-50.
  61. Mearin F, Mourelle M, Guarner F, Salas A, Riveros-Moreno V, Moncada S, Malagelada JR et al. Patients with achalasia lack nitric

- 
- oxide synthase in the gastro-oesophageal junction. *Eur J Clin Invest.* 1993;23:724-8.
62. Vanderwinden JM, Mailleux P, Schiffmann SN, Vanderhaeghen JJ, De Laet MH. Nitric oxide synthase activity in infantile hypertrophic pyloric stenosis. *N Engl J Med.* 1992;327:511-15.
63. Larsson LT, Shen Z, Ekblad E, Sundler F, Alm P, Andersson KE. Lack of neuronal nitric oxide synthase in nerve fibers of aganglionic intestine: a clue to Hirschprung's disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1995;20:49-53.
64. Slivka A, Chuttani R, Carr-Locke DL, Kobzik L, Bredt DS, Loscalzo J, Stamler JS. Inhibition of sphincter Oddi function by the nitric oxide carrier S-nitroso-N-acetylcysteine in rabbits and humans. *J Clin Invest.* 1994;94:1792-98.
65. Parker WA, MacKinnon GL. Nitrites in the treatment of diffuse esophageal spasm. *Drug Intell Clin Pharm.* 1981;15:806-7.
66. Hirsch DP, Holloway RH, Tytgat GN, Boeckxstaens GE. Involvement of nitric oxide in human transient lower esophageal sphincter relaxations and esophageal primary peristalsis. *Gastroenterology.* 1998;115:1374-80.
67. Goyal RK, Paterson WG. In: *Handbook of Physiology: The gastrointestinal system. Vol 1: Motility and Circulation.* Wood JD, editor. American Physiological Society, Bethesda 1989:865-908.
68. Goyal RK, Rattan S. Nature of the vagal inhibitory innervation to the lower oesophageal sphincter *J Clin Invest.* 1975;55:1119-26.
69. Tucker JF, Brave SR, Charalambous L, Hobbs AJ, Gibson A. L-NG-nitro arginine inhibits non-adrenergic, non-cholinergic relaxations of guinea-pig isolated tracheal smooth muscle. *Br J Pharmacol.* 1990;100:663-4.
70. Tøttrup A, Svane D, Forman A. Nitric oxide mediating NANC inhibition in opossum lower oesophageal sphincter. *Am J Physiol.* 1991;260:385-9.
71. Braverman AS, Vegesna AK, Miller LS, Barbe MF, Tiwana M, Hussain K, Ruggieri MR Sr. Pharmacologic specificity of nicotinic receptor-

- 
- mediated relaxation of muscarinic receptor precontracted human gastric clasp and sling muscle fibers within the gastroesophageal junction. *J Pharmacol Exp Ther.* 2011;338:37-46.
72. Sanmiguel CP, Hagiike M, Mintchev MP, Cruz RD, Phillips EH, Cunneen SA, Conklin JL, Soffer EE. Effect of electrical stimulation of the LES on LES pressure in a canine model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2008;295:389-94.
  73. Sivarao DV, Mashimo H, Goyal RK. Pyloric sphincter dysfunction in nNOS<sup>-/-</sup> and W/W<sup>v</sup> mutant mice: animal models of gastroparesis and duodenogastric reflux. *Gastroenterology.* 2008;135:1258-66.
  74. Lingenfelter T, Blackshaw LA, Sun WM, Dent J. Pyloric motor response to central and peripheral nitric oxide in the ferret. *Neurogastroenterol Motil.* 1997;9:167-75.
  75. Bayguinov O, Sanders KM. Role of nitric oxide as an inhibitory neurotransmitter in the canine pyloric sphincter. *Am J Physiol.* 1993;264:975-83.
  76. Vigneaud V, Ressler C, Swan JM, Roberts CW, Katsoyannis PG. The synthesis of oxytocine. *J Am Chem Soc.* 1954; 76:3115–121.
  77. Williams DC, Frank RM, Muth WL, Burnett JP. Cytoplasmic inclusion bodies in *Escherichia coli* producing biosynthetic human insulin proteins. *Science.* 1982;215: 687-9.
  78. Vlieghe P, Lisowski V, Martinez J, Khrestchatisky M. Synthetic therapeutic peptides: science and market. *Drug Discov Today.* 2010;15:40-56.
  79. Ladner RC, Sato AK, Gorzelany J, De Souza M. Phage display-derived peptides as therapeutic alternatives to antibodies. *Drug Discov Today.* 2004;9:525-29.
  80. McGregor DP. Discovering and improving novel peptide therapeutics. *Curr Opin Pharmacol.* 2008;8:616-19.
  81. Hruby VJ. Designing peptide receptor agonists and antagonists. *Nat Rev Drug Discov.* 2002;1:847-58.
  82. Lien S, Lowman HB. Therapeutic peptides. *Trends Biotechnol* 2003;21:556-62.

- 
83. Veljaca M, Chan K, Guglietta A. Digestion of h-EGF, h-TGF alpha and BPC-157 in human gastric juice. *Gastroenterology*. 1995;A761.
  84. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Petek M, Rucman R, Turkovic B, Rotkvic I, Sallmani A, Banic M, Brkic T. The beneficial effect of BPC-157, a 15 aminoacid peptide BPC fragment, on gastric and duodenal lesions induced by restraint stress, cysteamine and 96% ethanol in rats. A comparative study with H<sub>2</sub> receptor antagonists, dopamine promoters and gut peptides. *Life Sci*. 1994;54:63-8.
  85. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, Turkovic B, Rotkvic I, Mise S, Zoricic I, Gjurasin M, Konjevoda P, Separovic J, Ljubanovic D, Artukovic B, Bratulic M, Tisljar M, Jurina LJ, Buljat G, Miklic A, Marovic A. The beneficial effect of a novel pentadecapeptide BPC-157 on gastric lesions induced by restraint stress, ethanol, indomethacin and capscain neurotoxicity. *Dig Dis Sci*. 1996;41:1604-14.
  86. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, Turkovic B, Rotkvic I, Mise S, Zoricic I, Jurina J, Konjevoda P, Hanzevacki M, Ljubanovic D, Separovic J, Gjurasin M, Bratulic M, Artukovic 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;41:1518-26.
  87. Sikiric P. The pharmacological properties of novel peptide BPC-157 (PL-10). *Inflammopharmacology*. 1999;7:1-14.
  88. Mustoe TA, Pierce GF, Thomason A, Gramates P, Sporn MB, Duel TF. Accelerated healing of incisional wounds in rats induced by transforming growth factor-b. *Science*. 1987;237:1333-136.
  89. Urist MR. The first degree decades of bone morphogenetic protein. *Osteologie*. 1996;4:207-33.
  90. Veljaca M, Krnic Z, Brajsa K, Mildner B, Pavic-Sladojev D, Seveljevic-Jadran D, Kolega M, Erceg D, Krznaric Z. The development of PL 14736 for treatment of inflammatory bowel disease. IUPHAR-GI Section Symposium, Honolulu, Hawaii, pp. 2002;O32:13-15.

- 
91. Ruenzi M, Stolte M, Veljaca M, Oreskovic K, Peterson J. Ulcerative Colitis Study Group. A multicenter, randomized, double blind, placebo-controlled phase study of PL 14736 enema in the treatment of mild-to-moderate ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2005;128:A584.
  92. Sikiric P, Petek M, Rucman R, Seiwert S, Grabarevic Z, Rotkvic I, Tirkovic B, Jagic V, Mildner B, Duvnjak M, Lang N. A new gastric juice peptide BPC. An overview of stomach/stress/organoprotection hypothesis and BPC beneficial effects. *J Physiol*. 1993;87:313-27.
  93. INSTITUT ZA BIOMEDICINSKA ISTRAŽIVANJA "A.MARXER" 1996: 3H-PL-10.1.AK-15. Pharmacokinetics in the rat after single oral administration.
  94. INSTITUT ZA BIOMEDICINSKA ISTRAŽIVANJA "A.MARXER" 1996: 3H-PL-10.1.AK-15. Pharmacokinetics in the rat after single intravenous administration.
  95. INSTITUT ZA BIOMEDICINSKA ISTRAŽIVANJA "A.MARXER" 1996: 41-PL-10.1.AK-15. Whole-body autoradiography in the rat after single oral administration.
  96. INSTITUT ZA BIOMEDICINSKA ISTRAŽIVANJA "A.MARXER" 1995: Pharmacological receptor binding affinity of PL-10.1. *RBM Exp*. 950020.
  97. INSTITUT ZA BIOMEDICINSKA ISTRAŽIVANJA "A.MARXER" 1995: In vitro microsomal enzyme activity in mouse liver after repeated intravenous administration. *RBM Exp*. 950021.
  98. Grabarevic Z, Tisljar M, Artukovic B, Bratulic M, Dzaja P, Seiwert S, Sikiric P, Peric J, Geres D, Kos J. The influence of BPC-157 on nitric oxide agonist and antagonists induced lesions in broiler chicks. *J Physiol Paris*. 1997;91:139-49.
  99. Sikiric P, Petek M, Rucman R, Seiwert S, Grabarevic Z, Rotkvic I, Jagic V, Turkovic B, Mildner B, Duvnjak M. The significance of the gastroprotective effect of body protection compound (BPC): modulation by different procedures. *Acta Physiol Hung*. 1992;80:89-98.
  100. Seiwert S, Sikiric P, Grabarevic Z, Zoricic I, Hanzevacki M, Ljubanovic D, Coric V, Konjevoda P, Petek M, Rucman R, Turkovic B, Perovic D,

- 
- Mikus D, Jandrijevic S, Medvidovic M, Tadic T, Romac B, Kos J, Peric J, Kolega Z. BPC-157's effect on healing. *J Physiol Paris*. 1997;91:173-78.
101. Sikiric P, Separovic J, Anic T, Buljat G, Mikus B, Seiwerth S, Grabarevic Z, Stancic-Rokotov D, Pigac B, Hanzevacki M, Marovic A, Rucman R, Petek M, Zoricic I, Ziger T, Aralica G, Konjevoda P, Prkacin I, Gjurasin M, Miklic P, Artukovic B, Tislajr M, Bratulic M, Mise S, Rotkvic I. The effect of pentadecapeptide BPC-157, H<sub>2</sub>-blockers, omeprazole and sucralfate on new vessels and new granulation tissue formation. *J Physiol Paris*. 1999;93:479-85.
102. Brcic L, Brcic I, Staresinic M, Novinscak T, Sikiric P, Seiwerth S. Modulatory effect of gastric pentadecapeptide BPC-157 on angiogenesis muscle and tendon healing. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60:191-6.
103. Tkalcevic VI, Cuzic S, Brajsa K, Mildner B, Bokulic A, Situm K, Perovic D, Glojnaric I, Parnham NJ. Enhancement by PL 14736 on granulation and collagen organization in healing wounds and the potential role of egr-1 expression. *Eur J Pharmacol*. 2007;570:212-21.
104. Klicek R, Sever M, Radic B, Drmic D, Kocman I, Zoricic I, Vuksic T, Mihovil I, Barisic I, Ilic S, Berkopic L, Vrcic H, Brcic L, Boban Blagaic A, Coric M, Brcic I, Stancic-Rokotov D, Anic T, Seiwerth S, Sikiric P. Pentadecapeptide BPC-157, in clinical trials as a therapy for inflammatory bowel disease (PL14736), is effective in the healing of colcutaneous fistulas in rats: role of nitric-oxide system. *J Pharmacol Sci*. 2008;108:7-17.
105. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Turkovic B, Stancic Rokotov D, Brcic L, Sever M, Klicek R, Radic B, Drmic D, Ilic S, Kolenc D, Vrcic H, Sebecic B. Stable gastric pentadecapeptide BPC-157: novel therapy in gastrointestinal tract. *Curr Pharm Des*. 2011;16:12-32.
106. Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, Petek M, Perovic D, Konjevoda P, Marovic A, Seiwerth S, Grabarevic Z, Sumajstorcic J, Dodig G, Peric J. A novel pentadecapeptide, BPC-157, blocks the stereotypy produced

- 
- acutely by amphetamine and the development of haloperidol-induced supersensitivity to amphetamine. *Biol Psychiatry*. 1998;43:511-19.
107. Sikiric P, Jelovac N, Jelovac-Gjeldum A, Dodig G, Staresinic M, Anic T, Zoricic I, Rak Z, Perovic D, Aralica G, Buljat G, Prkacin I, Lovric-Bencic M, Separovic J, Seiwerth S, Rucman R, Petek M, Turkovic B, Ziger T, Boban-Blagajic A, Bedekovic V, Tonkic A, Babic S. Pentadecapeptide BPC-157 attenuates chronic amphetamine-induced behavior disturbances. *Acta Pharmacol Sin*. 2002;23:412-22.
  108. Groves PM, Rebec GV. Biochemistry and behavior: some central action of amphetamine and antipsychotic drugs. *Annu Rev Psychol* 1976;27:91-127.
  109. Moore KE. Amphetamine: Biochemical and behavioral actions in animals. In: Iverson I, Iverson D, Snyder SH, editors. *Handbook of psychopharmacology: Volume II. Stimulants*. New York: Plenum Press, pp 41-98.
  110. Bilic I, Zoricic I, Anic T, Separovic J, Stancic-Rokotov D, Mikus D, Buljat G, Ivankovic D, Aralica G, Prkacin I, Perovic D, Mise S, Rotkvic I, Petek M, Rucman R, Seiwerth S, Sikiric P. Haloperidol stomach induced lesions attenuation by pentadecapeptide BPC-157, omeprazole, bromocriptine, but not atropine, lansoprazole, pantoprazole, ranitidine, cimetidine and misoprostol in mice. *Life Sci*. 2001;68:1905-12.
  111. Adams JD, Odunze IN. Commentary. Biochemical mechanisms of 1-metil-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine toxicity. *Biochem Pharmacol*. 1991;41:1099-105.
  112. Kaakkola S, Teräväinen H. Animal models of Parkinsonism. *Pharmacol Toxicol*. 1990;67:95-100.
  113. Heikkila RE, Manzino L, Cabbat FS, Duvoisin RC. Protection against the dopaminergic neurotoxicity of of 1-metil-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine by monoamine oxidase inhibitors. *Nature*. 1984;311:467-9.



- 
114. Carlsson A, Lindquist M, Magnusson T. 3,4-dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature*. 1957;180:1200.
  115. Cooper DR, Marrel C, Van de Materbend H, Testa B, Jenner P, Marsden CD. L-Dopa esters as potential prodrugs, behavioural activity in experimental models of Parkinson's disease. *J Pharmacol*. 1987;39:627-35.
  116. Butin JW, Olsen AM, Moersch HJ, Code CF. A study of esophageal pressure in normal persons and in patients with cardiospasm. *Gastroenterology*. 1953;23:278-91.
  117. Ingelfinger FJ, Kramer P, Sanchez GC. The gastroesophageal vestibule, its normal function and its role in cardiospasm and gastroesophageal reflux. *Am J Med Sci*. 1954;228:417-25.
  118. Goyal RK, Chaudhury A. Physiology of normal esophageal motility. *J Clin Gastroenterol* 2008;42:610-19.
  119. Goyal RK, Rattan S. Genesis of basal sphincter pressure: effect of tetrodotoxin on lower esophageal sphincter pressure in opossum in vivo. *Gastroenterology*. 1976;71:62-7.
  120. Tøttrup A, Knudsen MA, Gregersen H. The role of the L – arginine – nitric oxide pathway in relaxation of the opossum lower esophageal sphincter. *Br J Pharmacol*. 1991;104:113-16.
  121. Yamato S, Saha JK, Goyal RK. Role of nitric oxide in lower esophageal sphincter relaxation to swallowing. *Life Sci*. 1992;50:1263-72.
  122. Sivarao DV, Mashimo HL, Thatte HS, Goyal RK. Lower esophageal sphincter in achalasia in nNOS<sup>-/-</sup> and hypotensive in W/W<sup>v</sup> mutant mice. *Gastroenterology*. 2001;121:34-42.
  123. Rossiter CD, Norman WP, Jain M, Hornby PJ, Benjamin S, Gillis RA. Control of lower esophageal sphincter pressure by two sites in dorsal motor nucleus of the vagus. *Am J Physiol*. 1990;259:G899-906.
  124. Anuras S, Cooke AR, Christensen J. An inhibitory innervation at the gastroduodenal junction. *J Clin Invest*. 1974;54:529-35.
  125. Stark ME, Szurszewski JH. Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. *Gastroenterology*. 1992;103:1928-49.

- 
126. Allescher HD, Daniel EE, Dent J, Fox JET, Kostolanska F. Extrinsic and intrinsic neural control of pyloric sphincter pressure in the dog. *J Physiol.* 1988;401:17-38.
  127. Allescher HD, Daniel EE, Dent J, Fox JET. Inhibitory function of VIP/PHI and galanin in the canine pylorus. *Am J Physiol.* 1989;256:789-97.
  128. Allescher HD, Daniel EE, Dent J, Fox JET, Kostolanska F. Neural reflex of the canine pylorus to intraduodenal acid infusion. *Gastroenterology.* 1989;96:18-28.
  129. Allescher HD, Tougas G, Vergara P, Lu S, Daniel EE. Nitric oxide as a putative nonadrenergic noncholinergic inhibitory transmitter in the canine pylorus in vivo. *Am J Physiol.* 1992;262:695-702.
  130. Paterson CA, Huizinga JD, Anvari M, Tougas G. Nitric oxide regulates gastric tone through a central or presynaptic action on cholinergic nerves. *Gastroenterology.* 1996;110:A732.
  131. Soll AH, Weinstein WM, Kurata J, McCarthy D. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and peptic ulcer disease. UCLA Conference. *Ann Intern Med.* 1991;114:307-9.
  132. McCarthy DM. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs – the clinical dilemmas. *Scand J Gastroenterol.* 1992;27:9-16.
  133. Lanas A, Hirschowitz BI. Significant role of aspirin use in patients with esophagitis. *J Gastroenterol.* 1991;13:622-7.
  134. Hawkey CJ, Swannell AJ, Eriksson S, Walan A, Lofberg Y, Taure E, Wiklund Y, Yeomans ND. Benefits of omeprazole over misoprostol in healing NSAID-associated ulcers. *Gastroenterology.* 1996;110;A131.
  135. Santucci L, Patoia L, Fiorucci S, Farroni F, Favero D, Morelli A. Oesophageal lesions during treatment with piroxicam. *Br Med J.* 1990;300:1018.
  136. Semble EL, Wu WC, Castell DO. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and esophageal injury. *Semin Arthrit Rheum.* 1989;19:99-109.
  137. Taha AS, Dahill S, Nakshabendi I, Lee FD, Sturrock RD, Russell RI. Oesophageal histology in long term users of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Clin Pathol.* 1994;47:705-8.

- 
138. Petrovic I, Drvis P, Dobric I, Kopljar M, Shejbal D, Batelja L. Pentadecapeptide BPC-157 combines lower esophageal and sphincter pressure and reflux esophagitis attenuation in rat. *Gastroenterology*. 2004;126:336.
  139. Xue XC, Wu YJ, Gao MT, Li WG, Zhao N, Wang ZL, Bao CJ, Yan Z, Zhang YQ, Bao CJ, Yan Z, Zhang YQ. Protective effects of pentadecapeptide BPC-157 on gastric ulcer in rats. *World J Gastroenterol*. 2004;10:1032-6.
  140. Sikiric P, Seiwerth S, Deskovic S, Grabarevic Z, Marovic A, Rucman R, Petek M, Konjevoda P, Jadrijevic S, Sosa T, Perovic D, Aralica G, Turkovic B. New model of cytoprotection/adaptive cytoprotection in rats: endogenous small irritants, antiulcer agents and indomethacin. *Eur J Pharmacol*. 1999 ;364:23-31.
  141. Mikus D, Sikiric P, Seiwerth S, Petricevic A, Aralica G, Druzijancic N, Rucman R, Petek M, Pigac B, Perovic D, Kolombo M, Kokic N, Mikus S, Duplancic B, Fattorini I, Turkovic B, Rotkvic I, Mise S, Prkacin I, Konjevoda P, Stambuk N, Anic T. Pentadecapeptide BPC-157 cream improves burn-wound healing and attenuates burn-gastric lesions in mice. *Burns*. 2001;27:817-27.
  142. Sikiric P, Seiwerth S, Mise S, Staresinic M, Bedekovic V, Zarkovic N, Borovic S, Gjurasin M, Boban-Blagaic A, Batelja L, Rucman R, Anic T. Corticosteroid-impairment of healing and gastric pentadecapeptide BPC-157 creams in burned mice. *Burns*. 2003;29:323-34.
  143. Staresinic M, Petrovic I, Novinscak T, Jukic I, Pevac D, Suknaic S, Kokic N, Batelja L, Brcic L, Boban-Blagaic A, Zoric Z, Ivanovic D, Ajduk M, Sebecic B, Patrlj L, Sosa T, Buljat G, Anic T, Seiwerth S, Sikiric P. Effective therapy of transected quadriceps muscle in rat: Gastric pentadecapeptide BPC-157. *J Orthop Res*. 2006;24:1109-117.
  144. Grabarevic Z, Tisljar M, Artukovic B, Bratulic M, Dzaja P, Seiwerth S, Sikiric P, Peric J, Geres D, Kos J. The influence of BPC-157 on nitric oxide agonist and antagonist induced lesions in broiler chicks. *J Physiol Paris*. 1997;91:139-49.

- 
145. Glavin GB, Szabo S. Dopamine in gastrointestinal disease. *Dig Dis Sci.* 1990;35:1153-61.
  146. Sikiric P, Seiwerth S, Aralica G, Perovic D, Staresinic M, Anic T, Gjurasin M, Prkacin I, Separovic J, Stancic-Rokotov D, Lovric-Bencic M, Mikus D, Turkovic B, Rotkvic I, Mise S, Rucman R, Petek M, Ziger T, Sebecic B, Ivasovic Z, Jagic V, Komericki L, Balen I, Boban-Blagaic A, Sjekavica I. Therapy effect of antiulcer agents on new chronic cysteamine colon lesion in rat. *J Physiol Paris.* 2001;95:283-88.
  147. Sikiric P, Seiwerth S, Brcic L, Blagaic AB, Zoricic I, Sever M, Klicek R, Radic B, Keller N, Sipos K, Jakir A, Udovicic M, Tonkic A, Kokic N, Turkovic B, Mise S, Anic T. Stable gastric pentadecapeptide BPC-157 in trials for inflammatory bowel disease (PL-10, PLD-116, PL 14736, Pliva, Croatia). Full and distended stomach, and vascular response. *Inflammopharmacology.* 2006;14:214-21.
  148. Sikiric P, Separovic J, Buljat G, Anic T, Stancic-Rokotov D, Mikus D, Duplancic B, Marovic A, Zoricic I, Prkacin I, Lovric-Bencic M, Aralica G, Ziger T, Perovic D, Jelovac N, Dodig G, Rotkvic I, Mise S, Seiwerth S, Turkovic B, Grabarevic Z, Petek M, Rucman R. 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;94:105-10.
  149. Bedekovic V, Mise S, Anic T, Staresinic M, Gjurasin M, Kopljar M, Kalogjera L, Drvis P, Boban-Blagaic A, Batelja L, Seiwerth S, Sikiric P. Different effect of antiulcer agents on rat cysteamine-induced duodenal ulcer after sialoadenectomy, but not gastrectomy. *Eur J Pharmacol.* 2003;477:73-80.
  150. Savarino E, Gemignani L, Pohl D, Zentilin P, Dulbecco P, Assandri L, Marabotto E, Bonfanti D, Inferrera S, Fazio V, Malesci A, Tutuian R, Savarino V. Oesophageal motility and bolus transit abnormalities increase in parallel with the severity of gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;34:476-86.
  151. Rao AS1, Camilleri M. Review article: metoclopramide and tardive dyskinesia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;31:11-9.

- 
152. Chaumartin N, Monville M, Lachaux B. Dysphagia or dysphagias during neuroleptic medication? *Encephale*. 2012;38:351-5.
  153. Laker MK, Cookson JC. Reflux oesophagitis and clozapine. *Int Clin Psychopharmacol*. 1997;12:37-9.
  154. van Veggel M, Olofinjana O, Davies G, Taylor D. Clozapine and gastro-oesophageal reflux disease (GORD) - an investigation of temporal association. *Acta Psychiatr Scand*. 2013;127:69-77.
  155. Perkel MS, Moore C, Hersh T, Davidson ED. Metoclopramide therapy in patients with delayed gastric emptying: a randomized, double-blind study. *Dig Dis Sci*. 1979;24:662-666.
  156. McCallum RW, Valenzuela G, Polepalle S, Spyker D. Subcutaneous metoclopramide in the treatment of symptomatic gastroparesis: clinical efficacy and pharmacokinetics. *J Pharmacol Exp Ther*. 1991;258:136-142.
  157. Bremner CG, Bremner CH. Augmentation of lower esophageal sphincter tone with metoclopramide in normals and in patients with sphincter incompetence. *South Afr J Surg*. 1972;10: 211-214.
  158. Di Martino N, Ingrosso M, Fei L, Maffettone V, Landolfi V, Del Genio A. Behavior of the pressure of the lower esophageal sphincter after intravenous administration of domperidone in normal subjects. *Minerva Med*. 1985; 31;76:1411-7.
  159. Sahyoun HA, Costall B, Naylor RJ. Catecholamine-induced relaxation and contraction of the lower oesophageal and pyloric sphincters of guinea-pig stomach: modification by domperidone. *J Pharm Pharmacol*. 1982;34:318-24.
  160. Balenovic D, Bencic ML, Udovicic M, Simonji K, Hanzevacki JS, Barisic I, Kranjcevic S, Prkacin I, Coric V, Brcic L, Coric M, Brcic I, Borovic S, Radic B, Drmic D, Vrcic H, Seiwert S, Sikiric P. Inhibition of methyl digoxin-induced arrhythmias by pentadecapeptide BPC-157: a relation with NO-system. *Regul Pept*. 2009;156:83-9.
  161. Balenovic D, Barisic I, Prkacin I, Horvat I, Udovicic M, Uzun S, Strinic D, Pevec D, Drmic D, Radic B, Bardak D, Zlatar M, Aralica G, Lovric-Bencic M, Separovic-Hanzevacki J, Romc Z, Sindic A, Seiwert S,

- 
- Sikiric P. Mortal furosemide-hypokalemia-disturbances in rats NO-system related. Shorten survival by L-NAME. Therapy benefit with BPC-157 more than with L-arginine. *J Clin Exp Cardiol*. 2012;3:201.
162. Barisic I, Balenovic D, Klicek R, Radic B, Nikitovic B, Drmic D, Udovicic M, Strinic D, Bardak D, Berkopic L, Djuzel V, Sever M, Cvjetko I, Romc Z, Sindic A, Bencic ML, Seiwert S, Sikiric P. Mortal hyperkalemia disturbances in rats are NO-system related. The life saving effect of pentadecapeptide BPC-157. *Regul Pept*. 2013;181:50-66.
163. Boban-Blagaic A, Blagaic V, Romc Z, Jelovac N, Dodig G, Rucman R, Petek M, Turkovic B, Seiwert S, Sikiric P. The influence of gastric pentadecapeptide BPC-157 on acute and chronic ethanol administration in mice. The effect of N(G)-nitro-L-arginine methyl ester and L-arginine. *Med Sci Monit*. 2006;12:36-45.
164. Lovric-Bencic M, Sikiric P, Hanzevacki JS, Seiwert S, Rogic D, Kusec V, Aralica G, Konjevoda P, Batelja L, Blagaic AB. Doxorubicine-congestive heart failure-increased big endothelin-1 plasma concentration: reversal by amlodipine, losartan, and gastric pentadecapeptide BPC-157 in rat and mouse. *J Pharmacol Sci*. 2004;95:19-26.
165. Seiwert S, Brcic L, Batelja Vuletic L, Kolenc D, Aralica G, Misic M, Zenko A, Drmic D, Rucman R, Sikiric P. BPC-157 and blood vessels. *Curr Pharm Des*. 2013;20:1121-5.
166. Sikiric P, Seiwert S, Rucman R, Turkovic B, Rokotov DS, Brcic L, Sever M, Klicek R, Radic B, Drmic D, Ilic S, Kolenc D, Aralica G, Stupnisek M, Suran J, Barisic I, Dzidic S, Vrcic H, Sebecic B. Stable gastric pentadecapeptide BPC-157-NO-system relation. *Curr Pharm Des*. 2014;20:1126-35.
167. Cesarec V, Becejac T, Misic M, Djakovic Z, Olujic D, Drmic D, Brcic L, Rokotov DS, Seiwert S, Sikiric P. Pentadecapeptide BPC-157 and the esophagocutaneous fistula healing therapy. *Eur J Pharmacol*. 2013;701:203-12.
168. Palheta MS, Graça JR, Santos AA, Lopes LH, Palheta Júnior RC, Nobre E Souza MÂ. The participation of the nitrergic pathway in

- 
- increased rate of transitory relaxation of lower esophageal sphincter induced by rectal distension in dogs. *Arq Gastroenterol.* 2014;51:102-6.
169. Braverman AS, Vegesna AK, Miller LS, Barbe MF, Tiwana M, Hussain K, Ruggieri MR Sr. Pharmacologic specificity of nicotinic receptor-mediated relaxation of muscarinic receptor precontracted human gastric clasp and sling muscle fibers within the gastroesophageal junction. *J Pharmacol Exp Ther.* 2011;338:37-46
170. Berra-Romani R, Avelino-Cruz JE, Raqeeb A, Della Corte A, Cinelli M, Montagnani S, Guerra G, Moccia F, Tanzi F. Ca<sup>2+</sup>-dependent nitric oxide release in the injured endothelium of excised rat aorta: a promising mechanism applying in vascular prosthetic devices in aging patients. *BMC Surg.* 2013;13 Suppl 2:S40.
171. Jandric I, Vrcic H, Jandric Balen M, Kolenc D, Brcic L, Radic B, Drmic D, Seiwerth S, Sikiric P. Salutory effect of gastric pentadecapeptide BPC-157 in two different stress urinary incontinence models in female rats. *Med Sci Monit Basic Res.* 2013;19:93-102.