

Gallen- und Pankreas-Sekretion unter Substanz P und einem Physalämin-Derivat

K. STARKE, F. LEMBECK, W. LORENZ und U. WEISS

Pharmakologisches Institut der Universität Tübingen und
klinisch-chemisches Institut an der Chirurgischen Klinik der Universität München

Eingegangen am 26. März 1968

Biliary and Pancreatic Secretion under Substance P and a Physalaemin-Derivative

Summary. 1. Substance P-extract from brain (4150 u/mg protein) and the physalaemin-like peptide Pro-Asp(NH₂)-Lys-Phe-Tyr-Gly-Leu-Eti-NH₂ contract the gall bladder and stimulate pancreatic secretion in the dog. Hepatic bile flow remains constant or is decreased. The activity of the substance P-extract is destroyed by incubation with chymotrypsin.

2. Crude substance P-extract from the intestine (22 u/mg protein) is much more effective than brain extract, probably because of its additional content of secretin and/or cholecystokinin.

3. In these actions, as in others, a close similarity between substance P and physalaemin derivatives is evident.

Key-Words: Substance P — Physalaemin — Gall Bladder — Pancreatic Secretion.

Zusammenfassung. 1. Substanz P-Extrakt aus Hirn (4150 E/mg Protein) und das Physalämin-ähnliche Peptid Pro-Asp(NH₂)-Lys-Phe-Tyr-Gly-Leu-Eti-NH₂ kontrahieren beim Hund die Gallenblase und stimulieren die Pankreas-Sekretion. Die Sekretion von Lebergalle bleibt konstant oder nimmt ab. Die Wirkung des Substanz P-Extraktes wird durch Inkubation mit Chymotrypsin zerstört.

2. Roher Substanz P-Extrakt aus Darm (22 E/mg Protein) wirkt wesentlich stärker als Hirnextrakt, wahrscheinlich wegen seines zusätzlichen Gehaltes an Sekretin und/oder Cholecystokinin.

3. Substanz P ist auch in diesen Wirkungen dem Physalämin und seinen Abkömmlingen sehr ähnlich.

Schlüsselwörter: Substanz P — Physalämin — Gallenblase — Pankreas-Sekretion.

Peptide der Tachykinin-Gruppe (ERSPAMER u. ANASTASI, 1966) stimulieren die Speichelsekretion (BERTACCINI u. DE CARO, 1965; DE CARO, 1966; LEMBECK u. STARKE, 1968 b). Physalämin bewirkt außerdem Tränen- und Pankreas-Sekretion und Entleerung der Gallenblase (BERTACCINI et al., 1967). Wir untersuchten die Wirkung von Substanz P-Extrakten und dem Peptid Pro-Asp(NH₂)-Lys-Phe-Tyr-Gly-Leu-Eti-NH₂ (im folgenden „Peptid 30“ genannt) auf Pankreas- und Lebergalle-Sekretion und Gallenblasenmuskulatur; Peptid 30 war das sialogen wirksamste aus einer von STARKE et al. (1968) untersuchten Reihe synthetischer Physalämin-Derivate.

Methoden

Tierversuche. 6 Hunde (Mischrassen) wurden mit Pentobarbital (30 mg/kg) narkotisiert. Zur intraarteriellen Injektion wurde die A. coronaria ventriculi sinistra unterbunden und ein Polyäthyl-Katheter durch die A. lienalis bis vor den Abgang der A. hepatica aus dem Truncus coeliacus geschoben. Injektionsvolumen 0,5–1,5 ml, Nachspülen mit 2 ml 0,9%iger Kochsalzlösung. Abstände zwischen wirksamen Injektionen 30–60 min.

Der mit dem Ductus choledochus mündende Pankreasgang wurde unterbunden, der distal mündende Ductus choledochus wurde kanüliert. In vier Versuchen wurde nach Ligatur des Ductus cysticus ein Glasrohr mit Tabaksbeutelnaht im Gallenblasenfundus fixiert und über eine Mariottesche Flasche (Druck etwa 100 mm Wasser) zur Registrierung von Volumenänderungen an einen Piston-Recorder (\varnothing 18 mm) angeschlossen. — Blutdruckregistrierung aus der A. femoralis.

Chymotrypsin-Inaktivierung. Substanz P-Extrakt aus Hirn (500–2000 E/ml) wurde in Tyrode-Lösung mit α -Chymotrypsin (500 μ g/ml) 1–2 Std bei 37°C inkubiert. Die Vollständigkeit der Inaktivierung wurde am Meerschweinchen-Ileum (siehe LEMBECK u. ZETLER, 1962) kontrolliert.

Substanzen. Der Substanz P-Extrakt aus Rinderstammhirn („Hirn-SP“) wurde nach LEMBECK u. STARKE (1968a) hergestellt. Er enthielt nur die Fraktion Fa nach ZETLER (1961), und zwar 112 E/mg Trockenmasse (4150 E/mg Protein). — Außerdem verwendeten wir einen Extrakt aus Rinderdarm („Darm-SP“; Sanabo, Wien), 13,2 E/mg Trockenmasse (22 E/mg Protein).

Das Peptid Pro-Asp(NH₂)-Lys-Phe-Tyr-Gly-Leu-Eti-NH₂ verdanken wir Herrn Dr. OBERDORF (Bayer, Leverkusen).

α -Chymotrypsin kristallisiert (Boehringer, Mannheim).

Ergebnisse

Pankreas-Sekretion. Genaue Dosis-Wirkungs-Beziehungen konnten hier wie bei der Gallesekretion mit Rücksicht auf die zur Verfügung stehende Menge der Peptide nicht ermittelt werden. Die wesentlichen Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle. Reaktionen von je 4 Hunden auf i.a. Peptid-Injektionen. Bei den Tieren 1, 2, 4 und 5 wurde die Pankreassekretion, bei den Tieren 2, 3, 4 und 5 die Gallenblasenkontraktion (Piston-Recorder) registriert. \circ nicht untersucht, — keine, (+) schwache, + deutliche Reaktion

Stoff	Dosis pro kg	Pankreassekretion				Gallenblasen- kontraktion			
		1	2	4	5	2	3	4	5
Peptid 30	0,03 μ g	\circ	\circ	\circ	+	\circ	\circ	\circ	+
	0,1 μ g	—	+	(+)	+	(+)	+	+	+
	0,3 μ g	\circ	+	(+)	\circ	+	+	+	\circ
	1,0 μ g	+	+	\circ	\circ	+	+	\circ	\circ
Substanz P	30 E	\circ	+	—	+	(+)	\circ	+	+
	100 E	—	+	(+)	+	+	+	+	+
	300 E	\circ	+	(+)	\circ	+	+	+	\circ
	1000 E	+	+	\circ	\circ	+	+	\circ	\circ

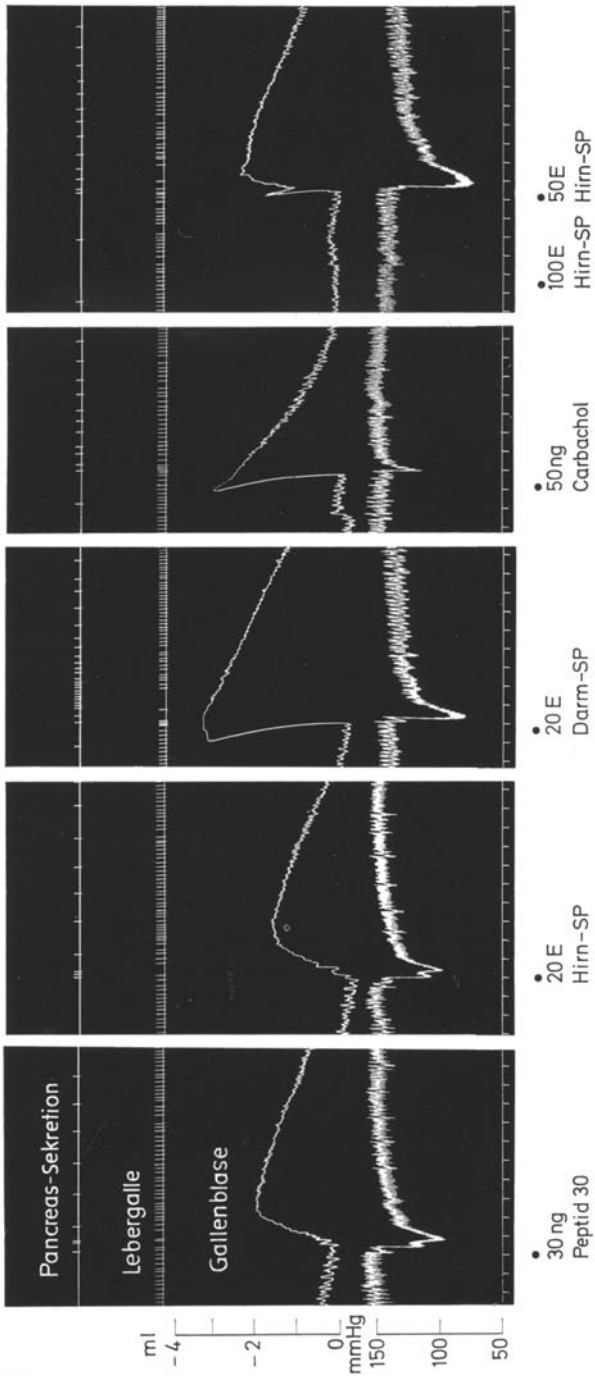


Abb. 1. Wirkung von Peptiden und Carbachol auf (von oben nach unten) Pankreassekretion, Lebergallesekretion, Lebergallenblasevolumen und Blutdruck eines Hundes. Alle Dosen pro kg., 100 E Hirn-SP inakt.; mit Chymotrypsin inkubierter Extrakt

Bei zwei Tieren führten 20—30 E/kg, bei einem Tier 100 E/kg, bei einem weiteren erst 1000 E/kg *Hirn-SP* i.a. zu vermehrter Pankreas-Sekretion. Die Reaktionsgröße war deutlich dosisabhängig. — Nach Inkubation mit Chymotrypsin war die Wirkung verschwunden (Abb.1).

10 E/kg *Darm-SP* i.a. bewirkten immer starke Sekretion. Auch i.v. Applikation von 10—60 E/kg *Darm-SP* löste lebhaftere Sekretion aus. Bei gleicher Dosierung in Einheiten (d. h. bezogen auf Wirksamkeit an der Darmmuskulatur) war die Pankreas-Reaktion auf den Darmextrakt stets wesentlich größer als auf den Hirnextrakt (Abb.1).

0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ des Peptids 30 stimulierte in drei von vier Fällen die Sekretion. In einem Fall war der Erfolg erst auf 1,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ deutlich.

Die Unterschiede in der Ansprechbarkeit des Pankreas können darauf beruhen, daß akzessorische Gänge übersehen wurden, so daß ein Teil des Sekrets ins Duodenum lief. Zum anderen wird das Pankreas zuweilen weniger durch Äste der *A. hepatica* als durch solche der *A. lienalis* versorgt (ELLENBERGER u. BAUM, 1891); dann gelangte bei unserer Methodik nur ein kleiner Teil der i.a. Dosis direkt zum Pankreas.

Lebergalle-Sekretion und Gallenblasen-Muskulatur. Bei offenem Ductus cysticus beschleunigten die Peptide den Gallefluß aus dem Ductus choledochus bei der ersten Injektion sehr stark. Bei mehreren rasch aufeinanderfolgenden Injektionen wurde der Effekt immer geringer, um unter Umständen ganz zu verschwinden. Bei ligiertem Ductus cysticus dagegen blieb auf Peptid-Injektion die Sekretion der Lebergalle unverändert, oder sie nahm ab, manchmal kam es unmittelbar nach der Injektion zu flüchtiger Beschleunigung mit anschließender Rückkehr zur oder Unterschreitung der Ausgangsgeschwindigkeit. Gleichzeitig kontrahierte sich die Gallenblase, und zwar auch bei rasch aufeinanderfolgenden Injektionen gleicher Dosen jeweils gleich stark.

Bei den vier mit Registrierung des Gallenblasenvolumens untersuchten Tieren führten 100 E/kg *Hirn-SP* i.a. zu Gallenblasenkontraktion, bei den drei Tieren, die 30 E/kg erhielten, schon diese Dosis. Die Reaktionsgröße war deutlich dosisabhängig. Nach Inkubation mit Chymotrypsin war der Extrakt unwirksam (Abb.1).

10 E/kg *Darm-SP* i.a. bewirkten immer eine Kontraktion. Auch i.v. Applikation von 30—60 E/kg *Darm-SP* löste, soweit durchgeführt, Kontraktion aus. Bei gleicher Dosierung in Einheiten war die Reaktion auf den Darmextrakt stets wesentlich größer als auf den Hirnextrakt. Den Lebergalle-Fluß erhöhte *Darm-SP* in den untersuchten Dosen nicht.

0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ des Peptids 30 führte in allen vier Fällen zur Kontraktion der Gallenblase. — Die Kontraktion nach 50—200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Carbachol i.a. dauerte bei gleicher Amplitude weniger lang als nach Peptid-Injektionen.

Diskussion

Substanz P-Extrakte und das Peptid 30, das sialogen wirksamste aus einer Reihe von Physalämin-Analogen (DE CARO, 1966; STARKE et al., 1968), bewirken beim Hund Pankreas-Sekretion und Kontraktion der Gallenblase. Bei offenem Ductus cysticus fließt die Galle durch den Ductus choledochus ab; bei rascher Injektionsfolge wird durch Erschöpfung des Gallenblaseninhaltes die Wirkung scheinbar immer geringer. Bei unterbundenem Ductus cysticus läßt sich auch bei wiederholten Injektionen eine gleichbleibende Gallenblasenkontraktion nachweisen.

Substanz P und das Peptid 30 haben wie Physalämin (25—50 µg/kg i.v.) beim Hund eine cholecystokinetische, aber keine choleretische Wirkung. Die besonders bei großen Dosen eintretende Verlangsamung des Lebergallenflusses führen BERTACCINI et al. (1967) auf hämodynamische Veränderungen der Leberzirkulation zurück, die vorübergehende geringe Beschleunigung auf eine Kontraktion glattmuskulärer Elemente im Ductus choledochus. — Ein kürzlich aus Amphibienhaut isoliertes, dem Gastrin strukturell ähnliches Dekapeptid, das Caerulein, wirkt außer auf Pankreas-Sekretion und Gallenblasen-Muskulatur auch choleretisch (ERSPAMER et al., 1967).

Physalämin kontrahiert auch die Meerschweinchen-Gallenblase in vivo (BERTACCINI et al., 1967). PERNOW (1953) bzw. HULTMANN (1955) fanden keine Wirkung von Substanz P auf die Hunde- bzw. Meerschweinchen-Gallenblase in vitro.

Am Meerschweinchen-Ileum, am Blutdruck und an der Speichel-Sekretion der Ratte (LEMBECK u. STARKE, 1968b) gleich wirksame Dosen eines Darm-SP-Präparates mit 22 E/mg Protein und eines Hirn-SP-Präparates mit 4150 E/mg Protein haben auf Pankreas-Sekretion und Gallenblasen-Muskulatur quantitativ unterschiedliche Effekte: Die viel größere Wirksamkeit des Darm-SP-Präparates ist vermutlich auf seinen Sekretin- und/oder Cholecystokinin-Gehalt zurückzuführen (siehe auch HULTMANN, 1955).

Die kymographischen Bilder der Reaktionen auf äquieffektive Dosen von Peptid 30 und Substanz P auf Blutdruck, Gallenblasenkontraktion und sekretorische Wirkungen lassen sich praktisch zur Deckung bringen. Das Wirkungsbild des Carbachols dagegen ist, z.B. bezüglich des Verhältnisses von Gallenblasenkontraktion zu Blutdrucksenkung, anders (Abb.1). Ganz ähnlich waren auch die Wirkungen der beiden Peptide auf die Sekretion der Gl. parotis und submandibularis und auf die Durchblutung der Gl. submandibularis des Hundes (STARKE et al., 1968). Diese und andere in pharmakologischen Testen gefundenen Parallelen zwischen Substanz P und Physalämin-Verwandten (Literatur siehe PISANO, 1968) weisen erneut auf die Möglichkeit einer chemischen Ähnlichkeit hin.

Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ausgeführt.

Frau G. FRISCH und Fräulein U. RICHTSTÄTTER danken wir für ihre sorgfältige Mitarbeit.

Literatur

- BERTACCINI, G., and G. DE CARO: The effect of physalaemin and related polypeptides on salivary secretion. *J. Physiol. (Lond.)* **181**, 68—81 (1965).
- and M. IMPICCIATORE: Effects of physalaemin on some exocrine secretions of dogs and rats. *J. Physiol. (Lond.)* **193**, 497—511 (1967).
- CARO, G. DE: Azione scialagoga di 53 polipeptidi sintetici fisalemino ed eledoisin-simili nel ratto. *Arch. int. Pharmacodyn.* **162**, 437—446 (1966).
- ELLENBERGER, W., u. H. BAUM: Systematische und topographische Anatomie des Hundes. Berlin: P. Parey 1891.
- ERSPAMER, V., and A. ANASTASI: Polypeptides active on plain muscle in the amphibian skin. In: Hypotensive peptides, p. 63—75. Hrsg. von E. G. ERDÖS, N. BACK u. F. SICUTERI. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.
- G. BERTACCINI, G. DE CARO, R. ENDEAN, and M. IMPICCIATORE: Pharmacological actions of caerulein. *Experientia (Basel)* **23**, 702—703 (1967).
- HULTMANN, E. H.: The relation between cholecystokinin and substance P. *Acta chem. scand.* **9**, 1042 (1955).
- LEMBECK, F., u. K. STARKE: Behandlung von Substanz P-Präparaten mit Aluminiumoxid. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path.* **259**, 307—313 (1968a).
- — Substanz P und Speichelsekretion. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path.* **259**, 375—385 (1968b).
- , u. G. ZETTLER: Substance P: a polypeptide of possible physiological significance, especially within the nervous system. *Int. Rev. Neurobiol.* **4**, 159—215 (1962).
- PERNOW, B.: Studies on substance P. *Acta physiol. scand.* **29**, Suppl. 105 (1953).
- PISANO, J. J.: Vasoactive peptides in venoms. *Fed. Proc.* **27**, 58—62 (1968).
- STARKE, K., F. LEMBECK, W. LORENZ, U. WEISS u. F. GEIPERT: Die Wirkung Substanz P-ähnlicher Peptide auf die Speichelsekretion. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path.* (im Druck) (1968).
- ZETTLER, G.: Zwei neue pharmakologisch aktive Polypeptide in einem Substanz P-haltigen Hirnextrakt. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak.* **242**, 330—352 (1961).

Prof. Dr. F. LEMBECK
Pharmakologisches Institut
der Universität
7400 Tübingen, Wilhelmstraße 56