

Međudnos dušikov monoksid sistema i pentadekapeptida BPC 157

Vukojević, Jakša

Master's thesis / Diplomski rad

2014

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:105:070625>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-19**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Jakša Vukojević

**Međudnos dušikov monoksid sistema i
pentadekapeptida BPC 157**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2014.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Jakša Vukojević

**Međudnos dušikov monoksid sistema i
pentadekapeptida BPC 157**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2014.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom prof. Predraga Sikirića, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2013/2014.

Mentor rada: prof. Predrag Sikirić, dr. med.

Sadržaj:

35 17	Popis kratica.....	
35 17	Sažetak.....	
35 17	Abstract.....	
35 17	Uvod.....	1.
35 17	Razrada teme.....	
	1. modeli zaštite želučane sluznice.....	6.
	2. modeli intoksikacije alkoholom.....	9.
	3. modeli kardiovaskularnih bolesti.....	12.
	4. modeli poremećaja kalija.....	15.
	5. modeli ispada cijeljenja.....	19.
35 17	Zaključak.....	23.
35 17	Literatura.....	25.
35 17	Zahvale.....	43.
35 17	Životopis.....	44.

Popis kratica:

³⁵₁₇ NO (nitric oxid)

³⁵₁₇ L-NAME (NG-nitro-L-arginine methyl ester)

³⁵₁₇ VEGF (vascular endothelial growth factor)

³⁵₁₇ COX-2 (cyclo oxygenase 2)

³⁵₁₇ egr-1 (early growth response protein 1)

³⁵₁₇ NaB2 (NGFI-A binding protein 2)

³⁵₁₇ NOS (nitric oxide synthase)

³⁵₁₇ ET-1 (endothelin 1)

³⁵₁₇ HEK293 (human embryonic kidney 293)

³⁵₁₇ iNOS (inducable nitric oxide synthase)

³⁵₁₇ eNOS (endothelial nitric oxide synthase)

³⁵₁₇ RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction)

Sažetak

U ovom preglednom radu pokušali smo sažeti i pojasniti odnos između BPC 157 i NO sustava, tte povezanost sa Moncadovim homeostatskim odgovorom (održanje vaskularnog integriteta i kontrole na trombocitima) NO sustava na ozljedu. Naime BPC 157 osim određenog učinka cijeljenja isto tako utječe na sve događaje koji uslijede nakon gubitka vaskularnog integriteta (ovisno o uvjetima on smanjuje trombozu ili smanjuje krvarenje to jest trombocitopeniju), dok u cijelom nizu različitih modela ozljeda, akutnih ili kroničnih, BPC 157 uvijek poboljšava proces cijeljenja stimulirajući ekspresiju egr-1 i naB2 gena. Hipoteza da se BPC 157 (pritom se konstitutivno stvara u želučanoj sluznici, uz već poznatu važnost NO sintetaze i bazalnog nakupljanja NO-a u istoj sluznici) iskazuje efektivnu kompeticiju sa L-argininom i njegovim analogima, i da je to sve od fiziološkog značaja, ide u prilog blagotvornim učincima BPC 157 i njegovog uzajamnog odnosa sa NO sustavom. Pri tome mislimo na njihovo međudjelovanje u zaštiti želučane sluznice posljedično akutnim i kroničnim alkoholnim lezijama, u pogledu citoprotekcije, regulaciji krvnog tlaka, kroničnom zatajenju srca, plićnoj hipertenziji, aritmijama, smetnji uzrokovanih hipokalemijom i hiperkalemijom te naposljetku u cijeljenju kompleksnih ozljeda kao što su kolokutane i ezofagokutane fistule. Međutim kako se ova sposobnost moduliranja NO sustava može praktično preslikat u kliničke učinke, tek treba ustvrditi.

Abstract

We reviewed stable gastric pentadecapeptide BPC 157-NO-system-relation, its close participation in Moncada's (maintained vascular integrity, platelets control) homeostatic healing response of NO-system to injury. Namely, BPC 157 particular healing effect also affects all events after vascular integrity loss (dependent on circumstances, it reduces either thrombosis or bleeding/thrombocytopenia) and in a series of different injury models, acute and chronic, BPC 157 consistently advances healing after severe injuries in various tissues spontaneously unable to heal; stimulates *egr-1* and *naB2* genes; exhibits high safety. Hypothesis, that BPC 157 (since formed constitutively in the gastric mucosa, stable in human gastric juice, along with significance of NO-synthase and the basal formation of NO in stomach mucosa, greater than that seen in other tissues) exhibits a general, effective competing both with L-arginine analogues and L-arginine, and that this has some physiologic importance, later, practically supports its beneficial effects illustrating BPC 157 and NO-system mutual relations in gastric mucosa and mucosal protection, following alcohol lesions, in cytoprotection course, NO-generation, and blood pressure regulation; alcohol acute/chronic intoxication, and withdrawal; cardiovascular disturbances, chronic heart failure, pulmonary hypertension, and arrhythmias; disturbances after hypokalemia and hyperkalemia, and potassium-cell membrane dysfunction; and finally, in complex healing failure, proved by the fistulas healing, colocutaneous and esophagocutaneous. However, how this advantage of modulating NO-system, may be practically translated into an enhanced clinical performance remains to be determined.

Uvod

Ovaj pregledni rad se fokusira na međuodnos BPC-a i NO sistema. Stabilni želučani pentadekapeptid BPC 157(1-6), originalno zamišljen kao antiulcerozni agens za cijeli gastrointestinalni trakt, sa idejom da je novi medijator Robertsonove citoprotekcije, (GEPPPGKPADDAGLV, M.W.1419, parcijalna sekvenca ljudskog želučanog proteina BPC, u svim pokusima korištenog u 99% čistoći, topivog u vodi pri pH 7 kao i u fiziološkoj otopini), je uvijek administriran sam, bez nosača, u rasponu doza od mikrograma do nanograma i sa nizom oblika aplikacije (intraperitonealno, intragastrično, u vodi za piće ili lokalno na mjesto ozljede). Osim toga je testiran u kliničkim pokusima faze 2 za upalne bolesti crijeva (PL14736) te LD1 nije postignut, te dokazanim svojstvima cijeljenja rana i interakcijom sa NO sustavom (1-6).

U drugu ruku, NO sistem u svojoj osnovi (7-15), implicirano u homeostazu, je jedan od najvažnijih sistema koji imaju direktan učinak (7-12), dok imaju dvojnu ulogu (10-14). Prvotno otkriće je bilo da su vaskularne endotelne stanice u mogućnosti generirati NO plin (7), objašnjavajući tako endotel-izvedene faktore relaksacije koji su opisani 7 godina prije (8), i posljedično pokazuju da je NO sintetiziran izravno iz aminokiseline L-arginin (9). Od tada je NO mnogo puta prepoznat kao bitna komponenta fiziologije i patofiziologije kardiovaskularnog sustava, središnjeg i perifernog živčanog sustava, imunologiji i procesu upale (10-12). Najnoviji dokazi upućuju na izrazitu važnost NO sistema u mitohondrijskim signalnim putevima, staničnog odgovora na hipoksiju (10-11) kao i već poznatu ulogu u homeostazi (12). Na primjer, L-NAME kao inhibitor NO sustava uzrokuje dugotrajno povećanje krvnog tlaka, dok se inhibiranost NO sintetaze u stijenci krvne žile, skoro odmah otklanja dijelovanjem L-arginina (9). Međusobno poništavanje inhibitora i samog substrata NO sintetaze je ključno u homeostazi stijenke krvne žile (12), NO-ova inhibicija agregacije trombocita te proliferacija glatkih mišićnih stanica isto pridonose

homeostatskom dijelovanju kao odgovoru na ozljedu(12).

Isto tako, od prije poznata dvojna uloga NO sustava(10-14) trebala bi biti značajna za homeostazu(12). NO-om uzrokovani događaji su okidači preko kojih mitohondriji moduliraju signalno provođenje involvirano u indukciji staničnih mehanizama obrane i prilagodbe, ali učinci NO-a na elektronske transportne kanale može voditi u mitohondrisku disfunkciju i patologiju(10-11). U proučavanjima životinja, postoje modeli hipertenzije u kojima je proizvodnja NO visoka kao i modeli u kojima je niska(12). Inhibicija kao i prekomjerno stvaranje NO-a dovode do značajnog oštećenja želučane sluznice(13,14). Dobrobitan učinak predlagan je za L-arginin, prekursor NO-a(14), ali tvari koje oslobađaju NO su ulcerogene u višim dozama(13).

Zajedno, mi predlažemo da se ove dvojnosti idu u prilog potencijalnoj ulozi BPC 157(1-6). Dvojna uloga NO sustava ukazuje nam da bi neki drugi čimbenik, poput BPC 157, (različitog od dosada poznatih čimbenika koji su u međudijelovanju sa NO sustavom kao ključne molekule VEGF, COX-2, endotelin-1)(15), bi trebao provoditi homeostatski učinak za NO(12).gledano sa homeostatskog gledišta to jest u pogledu Moncadovih dokaza (održani vaskuarni integritet, kontrola trombocita, odgovor na ozljedu) participacija BPC 157 je dobro podržana(1-6)

Osim nakupljanja NO-a (in vitro, u homogenatu štakorske želučane sluznice, BPC 157 dan u istoj dozi kao i L-arginin, inducirao je usporedivo nakupljanje NO-a(16,17)) i učinka na serumske razine endotelina(18), BPC 157 štiti endotel(12,16,19,20), poništava hipertenziju uzrokovanu L-NAME-om i hipotenziju uzrokovanu L-argininom(16), pokazuje izrazita svojstva cijeljenja krvnih žila(i ubrzava ekspresiju VEGF-a)(21-32) nakon anastomoze abdominalne aorte, aplikacija BPC 157 može spriječiti stvaranje obstruktivnog tromba i brzo razriješiti već formirani tromb uz spašavanje funkcije donjih udova(20), dosljedno pobija aspirinom, heparinom i varfarinom produljeno krvarenje i trombocitopeniju(33) te naposljetku njegov odgovor na ozljede, gdje BPC 157 ubrzava

cijeljenje nakon teških ozljeda koje inače sporo cijele u različitim tkivima: koža(21-23), mišić(29-31), tetiva(28,34-36), ligament(37), živac(38,39), kost(40,41), gastrointestinalni trakt(24-27) i krvne žile(20). Ovo je dosljedno sa BPC 157 povezanošću sa genom ranog odgovora rasta(egr-1)/NGF1-A vežućeg proteina 2(NaB2), gdje stimulira egr-1 (odgovornog za nakupljanje citokina i faktora rasta te formaciju ranog vanstaničnog matriksa) ali i njegovog represora NaB2(42). Ovo naznačava veliku prednost (BPC 157 i NaB2(43) su možda dio povratne sprege koja služi regulaciji transkripcije egr-1 uvijetovanih gena)(44), koja se demonstrira kroz najcijelovitiji učinak cijeljenje(1-6).

Dosljedno, treba napomenuti da neke studije ukazuju da trombociti u cirkulirajućoj krvi nisu pod utjecajem niti inhibicije NO sustava niti izvanjske administracije NO-a inhalacijom, sa pretpostavkom da je to tako zbog brze inhibicije NO-a u krvi(45,46). U drugu ruku učinci BPC 157 nisu iznenađujući. Naime proces cijeljenja, koji se odvija preko četiri glavna događaja (vazokonstrikcija, rahli tromb, fibrinska mreža, rezolucija formiranog tromba) u ovom redosljedu, nakon gubitka integriteta krvne žile, ne samo u teoriji, agens koji sudjeluje u cijeljenju rane a dokazano je učinkovit u cijeljenju rana (koža(21-23), mišić(29-31), tetiva(28,34-36), ligament(37), živac(38,39), kost(40,41), gastrointestinalni trakt(24-27) i krvne žile(20)) kao što je slučaj sa BPC 157, trebao bi biti učinkovit u svim događajima koji uslijede gubitku žilnog integriteta a time i u razvijenoj trombozi kao i u poremećajima krvarenja(33). Stoga, BPC 157 sa svojim provjerenim učinkom na cijeljenje rane(1-6), može biti i od teoretske i od praktične važnosti.

Njegova mogućnost poništavanja je testirana u različitim modelima i vrstama, pod pretpostavkom da je u svim modelima došlo do disfunkcije NO sustava ili je funkcija istoga već bila narušena prije aplikacije same L-NAME(16-18,24,47-51). Istraživani modeli(16-18,24,47-51) prikazuju BPC 157 i NO sustav u njihovim uzajamnim dijelovanjima na sluznicu želudca i njegovu protekciju, nakon alkoholnih lezija, a time i njihov citoprotektivan učinak(16), te njihove učinke na regulaciju krvnog tlaka(16),

kardiovaskularne poremećaje, kongestivno zatajenje srca, plućnu hipertenziju i aritmije(18,47-50), poremećaje nastale uslijed hipokalemije i hiperkalemije(49,50), akutnu i kroničnu intoksikaciju alkoholom i suzdržavanje od istoga(51) i naposljetku učinke cijeljenja rane kroz cijeljenje kolokutanih(24) i ezofagokutanih fistula(27).

Naposljetku, sa teoretskog ali praktičnog stajališta, definiranje odnosa sa NO sustavom bi zasigurno unaprijedilo shvaćanje cijelog niza blagotvornih učinaka BPC 157, ali bi pomoglo i sveopćem shvaćanju funkcije NO sustava kroz dokaze koji do sada nisu bili pruženi(1-6). Ovdje, kao što je izvorno tvrdjeno(12), specifično razmatranje dvojne uloge NO-a(12) razlikuje se od naših, ali i tuđih prvotnih proučavanja(16). Sada smo koristili zahtijevniji pristup(manifestacije koje uključuju i blokadu NOS-a(L-NAME) i davanje njegovog substrata(L-arginin), pojedinačno i/ili zajedno)(16-18,24,47-51), koji se ponavlja u svim istraživanim modelima(52-60) za razliku od prijašnjih proučavanja koja su bila izričito odvojena proučavanja L-NAME i L-arginina(52-60) te time razriješava do sada upitno međusobno poništavanje L-NAME i L-arginina(52-60).

Nadalje, važno za rješavanje dvojnosti NO sustava, i za dobro definiranje odnosa BPC 157 i NO sustava, pažljivo analiziranje samog poništavanja (NO specifična blokada od NOS blokera(L-NAME)(9) i NO specifičan substrat(L-arginin)(9)) uvijek je bilo u središtu naših proučavanja(16-18,24,47-51). Dobro definirano kombiniranje tih agensa i njihovo uzajamno međudjelovanje to jest poništavanje(16-18,24,47-51), zajedno dovode do toga da naša istraživanja i spoznaje, vezane za BPC 157 i NO sustav, u svemu ispunjavaju zahtjeve(9,16-18,24,47-51) Moncadovih dokaza, kao što je originalno utvrđeno kombiniranjem NOS blokera i substrata te njihovim potencijalom za međusobnim poništavanjem(9).

Zaključno, uvidjevši generalni nedostatak kombiniranja NOS blokera i substrata u studijama, a s druge strane Moncadovi dokazi koji su dobiveni kombiniranjem istih agensa(9,12), dobro definiranje odnosa L-NAME i L-arginina je veliki doprinos naših

proučavanja(16-18,24,47-51). Nadalje, uzimajući u obzir da se kombiniranjem i poništavanjem NOS blokera i substrata(9,12) od samih početaka proučavanja involviranost NO sustava nemože pobiti(9,12), onda na ovaj način dokazi o djelovanju BPC 157(16-18,24,47-51) ukazuju na pojedinosti NO-a u svakom od pojedinih modela. Stoga održavajući ovaj pristup trebalo bi biti značajno, s obzirom da je BPC 157 regularno u puno većoj mjeri učinkovitiji na poništavanje učinka blokade NOS-a nego što je za to sposoban L- arginin(16-18,24,47-51).

Modeli zaštite želučane sluznice

Idejna osnova pokusa(16) su bila dva in vivo pokusa, a in vitro, uz pomoć Whittleove procedure(14), nakupljanje NO-a u homogenatu želučane sluznice iz tkiva štakorskog želuca, bio je inicijalan za ovu studiju(16). NO sustav nije prije bio izazvan sa simultanim učincima nekog agensa na promijene izazvane L-argininom i L-NAME-om, danim odvojeno ili zajedno, iako je ova dvojnost NO sustava naširoko priznata(14,61) ako ništa drugo onda barem sa teoretskog stajališta.

Kompleksno međudjelovanje sa adnergičkim i dopaminergičkim sustavom je već opisana kod BPC 157(62). Otpuštanje ovog pentadekapeptida iz somatosenzornih neurona je već predlagano, zasnovano na pokusima sa neurotoksinom kapsaicinom, u procijeni nocicepcije(63) kao i u proučavanjima na nosnoj(64) i intestinalnoj(65) sluznici. Kako su neuropeptidi, porijeklom od aferentnih senzornih neurona u blizini mikrožilja, uključeni u regulaciju otpuštanja mediatora porijeklom iz endotela(14) bilo je razumno istražiti dali su, već od prije poznati učinci BPC 157(1-6,16), možda rezultat interakcije sa NO sustavom(16).

Pokazali smo da BPC 157 interferira sa učincima NO-a, i kod integriteta želučane sluznice kao i kod održavanja krvnog tlaka, na poseban način, pogotovo s L-argininom, gdje ima značajno veći ako ne i pojedinačno drugačiji učinak od onoga koji ostvaruje NO(16). Ukratko, kada je dan sam imao je antiulcerozni učinak, kao i L-arginin dok L-NAME nije imao nikakvih učinaka. Skupa, L-NAME je u potpunosti poništio učinak L-arginina, dok je učinke BPC 157 samo malo ublažio. Nakon administracije kombinacije L-NAME i L-arginina, učinak BPC 157 je dodatno oslabljen(16). U studijama krvnog tlaka, u usporedbi s L-argininom. BPC 157(bez ikakvog utjecaja na normalne vrijednosti krvnog tlaka) je imao oponašajući učinak(spriječio porast tlaka uzrokovan L-NAME-om kada je

dan profilaktički, te smanjio već pošeni tlak kada je administriran u trenutku najvišeg tlaka(10min nakon aplikacije L-NAME)) I preventivnu aktivnost(spriječio pad tlaka uzrokovan L-argininom kada je dan u pretretmanu). Kada je BPC 157 administriran 10 min nakon kombinacije L-NAME i L- arginina, koja je I dalje dovela do dizanja tlaka, njegov jasan učinak je u potpunosti nestao(16). In vitro, u slunici želudca dobivenoj iz homogenata štakorskog želudca, BPC 157, dan u istoj dozi(100 microM) kao i L-arginin, potaknuo je usporedivo nakupljanje NO-a. No, BPC 157 učinci se nisu mogli spriječiti sa L-NAME-om, pa čak ni kada je dan u desterostruko višoj dozi(100 naspram 1000 microM) nego što je bilo potrebno za inhibiciju L-arginina. Sinteza NO-a je smanjena kada su L-arginin i BPC 157 dani zajedno(16).

Kako u in vitro pokusima, BPC 157 potaknuti, nastanak NO-a nije bio spriječen dodatkom L-NAME, iako je dana u dozama 5 do 10 puta većim dozama nego što je bilo potrebno za inhibiciju L-arginina, vjerojatno je da BPC 157 ima jači ako ne i drugačiji učinak na NO sustav od L-arginina(16). Ova pretpostavka je podržana sa usporedivim antiulceroznim učinkom ovih agensa. Ali kada su izazvani sa jednakom dozom L-NAME, učinci L-arginina su skroz nestali dok su učinci BPC 157 samo umanjeni(16).

Teoretski, vjerojatnost da BPC 157, koji se konstitutivno stvara u želučanoj sluznici i koji je prisutan u želučanim sokovima(1-6), a ima sistemski učinak i uspješno se natiječe sa analozima L-arginina i L-NAME, ima fiziološke važnosti je izvjesna(16). Ako se uzme u obzir važnost NO sintetaze i bazalno stvaranje NO-a u želučanoj sluznici, koje je veće nego što se viđa u drugim tkivima(14), nije iznenađujuće da takav želučani pentadekapeptid, sa naznačenom stabilnošću u želučanim sokovima(1,66,67) i bez sličnosti sa do sada poznatim peptidima(1) , može izazvati takve učinke. Zato što je kalcij ovisna i NADPH ovisna NO sintetaza prisutna u želučanom tkivu točnije u mikrovaskularnom endotelu, a vjerojatno i u ostalim mukoznim stanicama(14), točno mjesto djelovanja BPC 157 tek treba ustvrditi. U ovoj, a kasnije i u studiji Turković i

suradnici(17), uz pomoć Wittelove procedure su uništene sve tkivne stanice linakon dodatnog postupka centrifugiranja je dobiven homogenat. Stvaranje NO-a je zamijećeno jedino nakon dodavanja BPC 157(100 microM) dok L-arginin(100 microM) nije uspio promijeniti bazalne vrijednosti. Nadalje, ova novo nastala formacija NO-a potaknuta BPC 157 nije inhibirana dodatkom L-NAME(100, 500, 1000 microM) niti je ikako promijenjena dodavanjem L-arginina(100 microM)(17). Istotako, na osnovi usporedbe određivanja NO sintetaze u tkivu želudca i ostalim tkivima(žile, jetra, pluća)(14) ovaj pentadekapeptid bi slične učinke izazvao vjerojatno i u drugim tkivima(16). Ovo bi dalo osnovu za niz njegovih učinaka(1-6,16), među ostalim i za regulaciju krvnog tlaka(poništenje L-NAME urokovane hipertenzije i hpotenzije uzrokovane L-argininom) uz već otprije spomenutu zaštitnu ulogu u protekciji želudca ali i drugih organa kao i specifično sudjelovanje u održavanju vaskularnog integriteta(16).

Stoga, u pogledu dvojinih učinaka, tvari koje utječu na NO sintetazu(13) i njene esencijalne dijelove u putevima signalizacije, ključne su za integritet sluznice želudca kao i za održavanje krvnog tlaka(14,61), dok je modulatorna uloga BPC 157 od velike prednosti u istim tim situacijama.

Modeli intoksikacije alkoholom

Alkohol može utijecati na organizaciju membrane, na funkciju membranski enzima, na enzime i proteine povezane sa signalizacijom, ionske kanale, receptorom vezane ionofore, proteinske nosače i gensku ekspresiju(68). Za razliku od toga, njegovi učinci su toliko specifični da djeluje na određene proteine koji su nužni za funkcioniranje stanice(68). Stoga, potencijalna terapija bi trebala djelovati na cijelokupni mehanizam koji uključuje višetraka subcelularna mjesta u središnjem živčanom sustavu, te time utjecati na funkciju većine, ako ne i svih, neuronskih sustava i to na molekularnoj, staničnoj i sistemskoj razini(51,69).

Prethodno, je pokazano da BPC 157 poništava i popravljaju štetu, nastalu akutnom i kroničnom ingestijom alkohola, u želudcu i jetri(uključujući i portalnu hipertenziju) (16,19,70-72). Isto tako, kada je apliciran periferno, je utjecao na niz smetnji za koje se smatralo da nastaju centralno, te time pokazuje mogući povoljan učinak na akutnu intoksikaciju alkoholom i sindrom sustezanja, nastao posljedično kroničnoj konzumaciji alkohola, a ti učinci su vidljivi u širokom rasponu doza(16,19,70-72) kao i načina administracije(intragastrično, intraperitonealno). Kasnije je BPC 157 bio predlagan i kao antidot za alkohol(3). Sa teorijskog stajališta, sve do sada, citoprotektivni učinci(spriječavanje lezija sluznice nastalih alkoholom, akutno ili kronično) nisu nikad imali dobrotvoran učinak na bihevioralne promjene nastale alkoholom(69).

Kao podrška tvrdnji o generalno povoljnom učinku, u istom rasponu doze, uz to što smanjuje razine etanola u krvi, BPC 157 isto tako inhibira toksične, hipotermijske i bihevioralne učinke velike doze etanola(isto tako spriječava i hipotermiju uzrokovanu rezerpinom(75) I kao i serotoniniskim sindromom(79)). Stoga, ovaj uspješan učinak BPC

157 je razriješio međudnos akutnog i kroničnog djelovanja alkohola te ograničio povoljan učinak standardnih agensa ili na akutno ili na kronično djelovanje na alkohol, a često i suprotno, povoljan učinak na jedno a otežavajući na drugo(51,69).

U ovom pogledu(80) BPC 157 je nov i interesantan, jer postoji samo par farmakoloških agensa(68) koji djeluju sustavno kao antagonisti etanola i time dosljedno pružaju blagotvoran učinak za inače suprotne događaje koje izazivaju akutne i kronične alkoholne smetnje(51,69). Ovo se može djelomično objasniti odnosom BPC 157 i NO sustava, u akutnoj i kroničnoj intoksikaciji alkoholom kao i u sindromu sustezanja(51,69). Ovaj međudnos može biti prednost ako uzmemo u obzir da agensi testirani u studijama akutnog i kroničnog utjecaja alkohola nisu bili istraživani zajedno sa NO agensima, kako bi se istražila moguća interakcija s tim sustavom(81-94). U drugu ruku, često se ističe(95) da terapija za akutnu intoksikaciju alkoholom inhibira a terapija za kroničnu intoksikaciju alkoholom stimulira ekscitatorni glutamatni sustav, za kojeg je već poznato da stimulira NO sustav, dok sustezanje od alkohola izokreće te iste procese i izaziva hiperekscitabilnost, napadaje i potencijalno smrtonosni delirium tremens. Studije napravljene sa NO agensima(56-58) nisu donjele završni zaključak. Suprotno tome, uz aplikaciju i L-NAME i L-arginina, mi smo dokazali da administrirani pojedinačno imaju zajedničke karakteristike pri prezentaciji (oboje potiču pogoršanje simptoma kod akutnog alkohola, dok oboje otežavaju simptome sustezanja), potom smo pokazali njihove pojedinosti u svakom od modela I naposljetku smo demonstrirali da, iako bi zajedno trebali recipročno poništavati jedan drugoga, u akutnoj intoksikaciji prevladava prezentacija svojstvena L-NAME, dok kod sustezanja prevladava prezentacija sličnija onoj L-arginina(51,69). Stoga, kako se agonisti i antagonisti mogu recipročno poništavati, zavisno o danim okolnostima(51,69), mi(51), u skladu sa općom teorijom o NO sustavu(14,61), smo odredili pojedinačnu organizaciju NO sustava u akutnoj intoksikaciji alkoholom i sustezanju od alkohola(kratkotrajni učinci L-arginina teško mogu nadvladati dugotrajne učinke L-NAME,

kada su u kombinaciji, osim ako se ne uzme u obzir neka specifičnost)(51,69). Ovdje BPC 157, koji kontinuirano spriječava pogoršanje smrtnosti(gdje L-NAME predominira u funkciji NO sustava tako što potiče prijetnju intoksikacijom), u bilo kojoj kombinaciji(BPC 157 + L-NAME ili BPC 157 + L-arginin) prati prezentaciju L-NAME, a u sustezanju(gdje se L-arginin, kao glavni dio NO sustava, suprosvavlja simptomima sustezanja) kombinacija BPC 157 i L-NAME prati prezentaciju L-NAME a kombinacija BPC 157 i L-arginin prati prezentaciju L-arginina(51,69). Stoga, BPC 157, sposoban da razriješi glavne razlike između akutne intoksikacije alkoholom(inhibicija) i sustezanja(eksitacija) od istog(51,69), je u principu poništen sa pojedinačnom spontanom aktivnosti NO sustava(smanjena aktivnost NOS u akutnoj intoksikaciji, povećana aktivnost NOS u sindromu sustezanja) (95), točnije učinkom NO povezanih agensa(agregacija akutne intoksikacije od strane L-NAME i L-arginina, i suprosvavljanje sustezanju)(51,69). Time učinci BPC 157, poništeni bilo kojim NO agensom ali isto tako poboljšavajući preživljenje nakon aplikacije L-NAME, mogu predložiti određeni odnos BPC 157/NO/alkohola pod pretpostavkom da lijekovi kao što su L-NAME inhibiraju NOS tako što se natiječu sa L-argininom(61,69), slično natjecanje je vjerojatno i sa ovim pentadekapeptidom bilo u procesu akutne ili kronične intoksikacije ili u sindromu sustezanja(51,69).

Modeli kardiovaskularnih bolesti

Prethodno smo za kardiovaskularni sustav, demonstrirali da BPC 157 poništava hipertenziju uzrokovanu L-NAME-om i hipotenziju uzrokovanu L-argininom, u istoj dozi koja je korištena za dokazivanje antiulceroznog učinka i odnosa sa NO sustavom u zaštiti želučane sluznice(16).

Sažeto, doksorubicinom uzrokovano kongestivno zatajenje srce u štakora i miševa(6 aplikacija doksorubicina(2.5mg/kg, intraperitonealno) kroz 15 dana i potom 4 tjedna period odmora) se sustavno pogoršavalo(kroz sljedećih 14 dana) ako nije ublaženo ili čak poboljšano terapijom BPC 157(10 µg, 10 ng, dano intragastrično(jednom dnevno štakorima ili u vodi za piće(miševima)) (18).BPC 157 je bio učinkovitiji od standardne terapije, amlodipina i losartana. Promatrali smo promjene u razinama enzima(CK, MBCK, LDH, AST, ALT) i velikog endotelina-1 u plazmi, prije početka same terapije i nakon 14 dana terapije, te sam klinički status to jest simptome kongestivnog zatajenja srca(hipotenzija, tahikardija, hiperventilacija, ascites) svaka dva dana(18).

Treba napomenuti da je ET-1 važna stavka u funkcionalnim i strukturalnim promjenama kardiovaskularnoga sustava i njegov odnos sa disfunkcijom NO sustava je već opisan(97-100). Većina kardiovaskularnih bolesti, kao što su arterijska hipertenzija, ateroskleroza, restenoza, kongestivno zatajenje srca, idiopatska kardiomiopatija, plućna hipertenzija i bubrežno zatajenje su povezane sa lokalnom aktivnošću endotelinog sustava(101-103). Time, mjerenjem razine velikog endotelina u plazmi, biološki manje aktivnog prekursora endotelina-1, možemo sa sigurnošću procijeniti stanje kongestivnog zatajenja srca i učinke terapije, kao i količinu novo nastalog ET-1(104-105). Stoga, iz dobivenih dokaza vidimo da je standardna terapija smanjila povećanje velikog ET-1 dok je BPC 157 zaustavio daljnje povećanje velikog ET-1.

Sukladno ovim rezultatima je i spriječavanje sindroma plućne hipertenzije kod

brojerskih pilića(47). Prethodno, tretmani sa plućnim vazodilatatorima i dijetama s dodatkom L-argininskih vazodilatatora su pokazali da smanjuju incidenciju plućne hipertenzije(106-107). Kao novi dokaz(47) iznosimo da kronična aplikacija inhibitora NOS (L-NAME) jednom dnevno intraperitonealno(od prije poznato da uzrokuje vazokonstrikciju i dizanje krvnog tlaka(108)) inducirala je sindrom plućne hipertenzije i značajne lezije u srcu, jetri i plućima koje su u potpunosti spriječene aplikacijom BPC 157(jednom dnevno intraperitonealno od 9 dana života pa sljedećih 5 tjedana). U drugu ruku, L-arginin je smanjio toksičnost L-NAME , ali je isto sam inducirao štetne posljedice, tešku hiperemiju i krvarenja u srce, pluća i jetru, posebice u miokard, vjerojatno posljedično dilatiranim i oštećenim koronarnim žilama. Te sve lezije su ponovno potpuno spriječene sa BPC 157(47). Sindrom plućne hipertenzije ili ascites se odnosi na nakupljanje tekućine u ekstravaskularnim prostorima kao posljedica zatajenja srca(106) i pošto ove ptice, za razliku od sisavaca, nemogu de novo sintetizirati L-arginin(109-110), mogućnost BPC 157 da spriječi iste te simptome jako ukazuje na direktnu mogućnost spriječavanja i posljedica i blokade NOS-a I prezentacije od strane L-arginina(47).

Predmet toksičnosti digitalisa i BPC 157(48) kao terapija je smatrana analogna svim drugim terapijskim mogućnostima , a od toga vremena BPC 157 se pokazao djelotvornim u poboljšanju kongestivnog zatajenja srca i niza aritmija (smanjuje vrijeme trajanja aritmija u hipoksiji i reoksigenaciji(111)), te efektivnim u modulaciji NO sustava i to bez ikakvih proaritmijskih svojstva(16,18,48,111). ET-1 se isto pokazao da pogoršava digoksinom izazvane aritmije i inducira ventrikulski ektopični kompleks(112). Pokazali smo smirivanje nalaza od strane BPC 157 i odnos sa NO sustavom u uvjetima izazvanim trovanjem digitalisom, profilaktički učinak od strane BPC 157(smanjuje broj preranih ventrikulskih udaraca, produljuje vrijeme prije pojave ventrikulske tahikardije, smanjuje ventrikularnu tahikardiju i duljinu trajanja av bloka(μ g doze) ili smanjuje poglavito trajanje av bloka(ng doze)) i ubrzani terapijski učinak u razvijenom trovanju metildigoksinom te umanjuje daljnje

razvijanje toksičnosti digitalisa. Ventrikularne tahikardije su izbjegnute ili značajno umanjene(48). Smrtni ishod je izbjegnuto, ili barem vremenski odgođeno(48).

Zajedno ovi rezultati pokazuju dosljedan učinak, koji je više izazvan blokadom NO sustava(48). Aplikacija L-NAME je dodatno pogoršala metildigoksinom uzrokovane aritmije i smrtnost. L-arginin sam nije imao nikakav učinak , ali je smanjio pogoršanje uzrokovano L-NAME-om. BPC 157 je imao učinak i kao profilaksa i kao terapija, gdje je antagonizirao učinak od l-name do te mjere da je bio usporediv sa učinkom samog BPC 157(48). Stoga, intrinzički je aktivniji od L-arginina, a kao peptid u kliničkim istraživanjima(3-6), pruža jako povoljne učinke u kongestivnom zatajenju srca i sindromu plućne hipertenzije(18,47). BPC 157 se pokazao kao primjerena zamjena u uvjetima digitalisom uzrokovanih aritmija(48) i time i ostalih aritmija koje su vjerojatno uzrokovane ili pogoršane smanjenom aktivnošću NO sustava.

Modeli poremećaja kalija

Povoljni učinci dobiveni BPC 157 kod digitalisom izazvane aitmije(48), generalno predlažu moguće isti učinak i kod ostalih aritmija koje su uzokovane ili pogoršane u situacijama oslabljenog stvaranja NO-a. Stoga, nepobitna hiperkalemija, kao tipičan nalaz nakon predoziranja glikozidima(113,114) i mogućnost BPC 157 da spriječi toksičnosti i metildigoksina i kombinacije metildigoksina i L-NAME , te posljedične smrtnosti(48), ukazuju na njegov mogući analogno povoljan učinak i kod štakora sa hiperkalemijom uzrokovanom predoziranje KCl-om, koje inače isto imaju smrtni ishod(50). Shodno tome, kako toksičnost metildigoksina ponajviše ovisi o hipokalemiji(59,60), istovijetan spasonosni učinak BPC 157 je dokazan da se odvija i u hipokalemiji štakora izazvanoj sa velikom dozom furosemda(49). Učinak BPC 157 je dokazan u HEK293 stanicama, kako u uvjetima hiperkalemije tako i u uvjetima hipokalemije(49,50). U hiperkalemiji smo demonstrirali cijelokupnu sposobnost BPC 157 da spriječi učinke prekomjerne aplikacije KCl-a. U istom pokusu je L-arginin samo uspio ublažiti učinke hiperkalemije, dok je aplikacija L-NAME uzrokovala smrtonosno pogoršanje simptoma(50). Terapiji je suprostavljena brza i nemilosrdna hiperkalemija, aritmije(slabost mišića , hipertenzija, te nizak tlak u donjem ezofagealnom i piloričkom sfinkteru) sa posljedično neizbježnom smrću u roku od 30 minuta. Time, smo htjeli pokazati veliki potencijal za spašavanje života i potvrditi odnos BPC 157 i NO sustava. Aplikiran 30 minuta prije KCl-a BPC 157 uspijeva održati sinus ritam, smanjiti produženi QPR interval i ne dolazi do sistoličke pauze. Terapija BPC 157 koja je uslijedila 10 minuta nakon doze KCl-a, započinje djelovati nakon 5-10 minuta, te u potpunosti vraća sinus ritam do isteka prvog sata. Isto tako spriječava i ostale simptome hiperkalemije(mišićna slabost, hipertenzija, nizak tlak sfinktera). Sukladno tome su bili učinci BPC 157 u interakciji s NO sustavom to jest pri smrtonosnom pogoršanju od strane L-NAME. L-arginin dovodi vrijednosti na one od kontrole, dok BPC

157 u potpunosti spriječi lezije, značajno ispod kontrole. Zajedno s L- argininom, ne pokazuju nikakav dodatni učinak(50). Pri aplikaciji otopine KCl-a intragastrički, izazvane su teške lezije sluznice, ispadi sfinktera i visoki T valovi. Sve to je u potpunosti spriječeno BPC 157, bilo aplikacijom 30 minuta prije ili 10 minuta nakon aplikacije KCl-a(50). Kod HEK293 stanica, u uvjetima hiperkalemije(koncentracija kalija od 18.6 mM), BPC 157 direktno utječe na provodljivost kalija, te time poništava učinke hiperkalemije na potencijal membrane i depolarizaciju(50).

Dodatno, sa stajališta BPC 157 i njegove sposobnosti spriječavanja posljedica hiperkalemije, treba biti svjestan i njegovih učinaka u drugim uvjetima koji se dovode u vezu sa hiperkalemijom(NSAID toksičnost(6,43,115-117) i BPC 157 kao protuotrov za istu toksičnost(6), toksičnost digitalisa(47) kao i heparina(12)).

U studijama sa hipokalemijom(49), smo se fokusirali na dosada ne pokazane odnose NO sustava u smrtonosnoj, furosemidom izazvanoj hipokalemiji, sa aplikacijom L- NAME I L- arginina(59,60). Kod štakora smo pažljivo analizirali promjene na EKG-u(118) (produženje P,R,S,T valova, produženje PR,RR,QRS I QT intervala, smanjene amplitude R,S,T valova(iako to nije u potpunosti povezano sa hipokalemijom(118)), aritmije(blok AV provodljivosti,ventrikuarni prerani udarci, VT), mioklonus skeletnih mišića(119) i smrtnost 90-150 minuta poslije aplikacije furosemidu. Ovo stanje hipokalemije, izazvano furosemidom, je u potpunosti pogoršano sa L-NAME, oblaženo sa L- argininom a skroz spriječeno sa BPC 157. Nadalje, ova analogija se mora preslikavati i na situaciju NO sustava kod srčanog mišića(smanjen vanstanični kalij, hiperekscitabilnost miokarda, mogućnost razvitka kružnih aritmija) i kod skeletnog mišića(smanjen kalij u vanstaničnom prostoru, hiperpolarizacija membrane, podizanje praga podražajaza depolarizaciju membrane)(120).

U uvjetima hipokalemije (0.4 mM koncentracija kalija) HEK293 stanice su bile hiperpolarizirane za -6.1 ± 1.1 mV. Nakon prvog koraka tj. hipokalemije, dodali smo otopinu

BPC 157 koji je depolarizirao stanice za 4.6 ± 1.6 . ponavljanjem koraka hipokalemije u prisutnosti otopine BPC 157 stanice se nisu hiperpolarizirale (3.6 ± 1.6)(49).

Osim toga, iako ne direktno povezano, ostali učinci BPC 157 isto ukazuju da on može spriječiti smetnje nastale hipokalemijom(49). Na primjer, hipokalemija je važna u patogenezi inzulinske rezistencije(121), dok je BPC 157 dokazan djelotvornim u sprječavanju inzulinske rezistencije(122).

Stoga, ako uzmemo kao činjenicu da duga prezentacija hipokalemije i hiperkalemije upućuje na ispad regulatornih mehanizama, preopterećenih ili prevelikom dozom KCl-a(50) ili furosemida(49), ovi nalazi ukazuju da BPC 157 možda i dalje djeluje preko NO sustava, čak i u ovim uvjetima. U prilog tome idu: važnost skeletnih mišića za homeostazu kalija u plazmi(113), BPC 157 povećana mogućnost cijeljenja teško ozljeđenih mišića i povrat njihove funkcije(29-32), u uvjetima hipokalemije kao i hiperkalemije NO se ponaša dosljedno (isti učinak i L-NAME i L-arginina u obje situacije), dosljedan međuodnos sa BPC 157 u istim uvjetima, učinak BPC 157 na srce(18,48-50) uz istaknuti neuroprotektivni učinak(37,38). Sukladno tome, moglo bi se i nagađati o učinku na mitohondrije ako uzmemo u obzir važnu ulogu NO sustava u kontroli mitohondrija(10,11) te da se i hipokalemija(123) i hiperkalemija(124) dovode u vezu sa mitohondrijskim smetnjama.

U zaključku, za kalij uzrokovne smetnje i antiaritmijski i oporavljajući učinak BPC 157, ne samo u teoriji, on ima direktnam učinak na održanje funkcije membrane usprkos uvjetima poremećaja koncentracije kalija u HEK 293(49,50) stanicama, te da se dobije uspješan oporavak, osim interakcije sa NO sustavom koja je ovdje demonstrirana(49,50), od velike važnosti može biti i izmjena negativnog slijeda događaja(49-50)(inaktivirani i refraktorni natrijevi kanali, podizanje praga podražaja, oštećenje neuromuskularnog, kardialnog i gastrointestinalnog organskog sustava)(50). U drugu ruku, moguće je(49) da je izostankom polimorfne VT i dugog QT intervala ("torsades des pointes"), koji su oboje antragonizirani da li spriječeni(profilaktički režim) ili konverzirani(terapijski režim) sa

jednom aplikacijom BPC 157, spriječeno i produženje srčane repolarizacije usprkos niskom kaliju u izvanstaničnoj tekućini(49).

Modeli ispada cijeljenja

Fokusirali smo se na cijeljenje fistula. Ovaj pristup je dodatno zanimljiv ako uzmemo u obzir već dokazane terapijske mogućnosti BPC 157 u liječenju upalne bolesti crijeva(3-6). Naime, visceralno cijeljenje i cijeljenje kože su smatrani neusporedivima(125). Prethodno je BPC 157 potaknuo zatvaranje gastrokutanih fistula znatno bolje od standardnih agensa(ranitidin, omeprazol, atropin), nalaz koji podržava cijeljenja rane u procesu cijeljenja čira(126).

Kao što smo prije spomenuli kako bi podržali odnos prema ozljedi, BPC 157 pomaže pri cijeljenju teških ozljeda koje inače nebi cijelile u raznim tkivima, koži(21-23), mišiću(29-32), tetivi(28, 34.36), ligamentu(37), živcu(38,39), kosti(40,41), žilama(20) i gastrointestinalnom traktu(24-27). Ekspresija *egr-1* (odgovornog za nakupljanje citokina i faktora rasta te formaciju ranog izvanstaničnog matriksa) ali i njegovog prekursora *NaB2*(42). Ovo ukazuje na veliku prednost(predlažemo BPC 157 i *NaB2*(43) kao mehanizam povratne sprege koji služi regulaciji transkripcije gena uvjetovanih *egr-1*(44)) i shodno tome rezultira potpunim učinkom cijeljenja.

Takav sveobuhvatni učinak cijeljenja zahtijeva djelotvornost i u najneprihvatljivijim uvjetima, to jest u simultanom cijeljenju dvaju različitih tkiva, koji inače nisu u dodiru, uz upletenost NO sustava. Ovo smo prikazali sa dvije različite fistule koje smo cijelili, kolokutane(24) i ezofagokutane(27), jer zahtijevaju istovremeno cijeljenje dva različita tkiva koja su sada u međuo odnosu, i time vjerojatno orkestriraju dva različita procesa cijeljenja u svakom od tkiva.

U štakora sa kolokutanim fistulama(24), od samog početka, dan intraperitonealno ili peroralno, BPC 157 je istovremeno ubrzao cijeljenje defekta kolona kao i defekta kože(24), dovodeći do primjerenog zatvaranja fistule makroskopski, mikroskopski, biomehanički i funkcionalno(znatne količine vode zadržane bez curenja). L-NAME je

otežao cijeljenje kolokutanih fistuala, a L-arginin je imao učinak jedino sa oslabljenim nakupljanjem NO-a(L-NAME i L- arginin), dok sam nije imao učinka(zanimljivo u pokusima sa kolokutanim fistualama(24) pokazuje istu prezentaciju kao i u studijama s digitalisom(47)). Svi povoljni učinci BPC 157 su ostali nepromijenjeni i uz inhibiciju NO sustava i uz NO substrat, kao i uz administraciju L-NAME i L- arginina istovremeno. Sulfasalazin je bio djelomično učinkovit, dok su kortikosteroidi imali otežavajući učinak na cijeljenje(24).

Do sada su ezofagealne fistule jako slabo istraživane(27). Kroz 4 dana smo tretirali štakore, sa već formiranim vratnim ezofagealnim fistulama(ozvoreni kožni i ezofagealni defekt sa značajnim curenjem) sa BPC 157(paraenteralno i peroralno) te s L-NAME i L-argininom u svim međusobnim kombinacijama(27). RT-PCR-om smo istraživali razine mRNA eNOS, iNOS i COX2 u fistulama. Posvijedočili smo isprepletenosti procesa necijeljenja kože, ezofagusa i same fistule(povišene razine mRNA eNOS, iNOS kao i COX2), često sa smrtnim ishodom, te sami odnos sa NO sustavom i ovisnost o terapiji. Generalno sam tijekom cijeljenja fistula uvelike je ubrzan aplikacijom BPC 157(niže razine mRNA eNOS), dok je sa L-argininom ostao skoro nepromijenjen. Aplikacija L-NAME je jako usporila i otežala proces cijeljenja, ali je BPC 157 taj učinak u potpunosti spriječio. BPC 157 je bio učinkovit i kad je apliciran peroralno kao i intraperitonealno, te i u μg i ng dozama. Cijeljenje defekta je ubrzano, sa manje curenja iz fistula i bez smrtnosti nakon 4 dana, a uz to sve se funkcija piloričkog i donjeg ezofagealnog sfinktera oporavila i nije zamjećena značajna pojava ezofagitisa(27).

Isto važno, posebice za osjetljivost korištenog pristupa (blokada NOS kao i aplikacija NO substrata, odvojeno ili zajedno) nakon stvaranja ezofagealnih fistula, osim generalnog podudaranja- zasnovano na učinkovitim terapijskim intervencijama i njihovim odnosima sa NO substratom i blokadom, otkrili smo nekoliko svojstvenih događaja u kompleksnoj međugri cijeljenja i NO sustava. U ovom slučaju, smo uspjeli identificirati

najmanje 3 različita puta, a svaki od njih ima svoju metu(tijek inicijalne lezije i tijekom asociраних оштећења, испад функције сфинктера насрам настанку езофagitisu).

Stoga, u zaključku, BPC 157 sa djelovanjem na NO sustav i izrazitim učinkom na cijeljenje rane i formaciju kolagena(1-6), uključujući njegov učinak na egr-1 i NaB2 gene(42), vrlo je izvjesno odgovoran za brzu inicijaciju cijeljenja fistule koje spašava štakore sa tim defektom. No, dali se ova eksperimentalna vrijednost(točnije utjecaj na ekspresiju eNOS gena(27)) može prebaciti u kliničku značajnost, tek treba ustvrditi.

Zaključak

BPC 157 učinak na cijeljenje rane koje je prisutno i nakon gubitka vaskularnog integriteta(ovisno o uvjetima ili smanji trombozu(anastomoza abdominalne aorte)(20) ili smanjuje krvarenje to jest trombocitopeniju(amputacija, pokusi sa varfarinom, heparinom i aspirinom(33))(u cijelom nizu raznih modela ozljeda, akutnih ili kroničnih, BPC 157 dosljedno poboljšava cijeljenje nakon teških ozljeda tkiva koja inače nebi cijelila) stimulira egr-1 i NaB2 gene(42), visoko siguran(LD1 nije postignut(1-6)), sprječava L-NAME hipertenziju i L-arginin hipotenziju(iako nema učinka na normalni tlak)(16), ukazuje na svoju blisko sudjelovanje u Moncadovom homeostatskom odgovoru NO sustava na ozljedu(12). Hipoteza da je BPC 157(kako se konstitutivno stvara u želučanoj mukozi, te je stabilan i prisutan u ljudskim želučanim sokovima(1-6,16), a uz to pokazuje značajnu povezanost sa NO sustavom i bazalnim stvaranjem NO-a u želučanoj sluznici(14)), učinkovitim natjecanju sa L-argininom i njegovim analogima, a da to sve ima fiziološki značaj(16,17) podržava njegove povoljne učinke koji pokazuju uzajamni odnos BPC 157 i NO sustava u želučanoj sluznici i njenoj protekciji nakon alkoholnih lezija, u citoprotektivnom tijeku(16), nakupljanja NO(16,17) i regulaciji krvnog tlaka(16), akutne i kronične intoksikacije alkoholom i suzdržanja od istog(51,69), kardiovaskularnih smetnjama, kongestivnom zatajenju srca, plućnoj hipertenziji, aritmijama(18,47,48), smetnjama uzrokovanim hipokalemijom i hiperkalemijom(49,50) te naposljetku u cijeljenju kompleksnih ozljeda točnije kolokutanih(24) i ezofagokutanih fistula(27). Dakako, kako i dali ova sposobnost modulacije NO sustava(27) može biti prenesena u klinički relevantan oblik tek treba ustvrditi.

Za razliku od mnogih zasebnih proučavanja L-NAME i L-arginina(52-60), u našim pokusima za razliku od drugih su uvijek bile prisutne blokade NO sustava kao i aplikacija NO substrata, danih zajedno ili odvojeno(16, 17, 27, 47-51), mi smo jako precizno

provijerili specifične sposobnosti BPC 157 u interakciji s NO sustavom, te istražili učinke L-NAME i L-arginina za svaki od istraživanih modela. Ako su stvari doista ovakve onda možemo tvrditi da je BPC 157 zasebni sustav koji je itekako važan za funkcioniranje NO sustava. U prilog tome, analogno sa izvornim dokazima o odnosu BPC 157 i NO sustava(16), sada uvelike proširenim sa novim pokusima(17, 27, 47-51) i nakon početne demonstracije da je BPC 157 u interakciji sa dopaminskim sustavom(62) kao i sa somatosenzornim neuronima(63-65) nastavili smo dalje istraživati njegovu povezanost sa NO-om. In vivo i in vitro(16), je otkrivena njegova veća povezanost sa dopaminskim sustavom nego što smo mislili i to u lezijama gastrointestinalnog trakta(74,130,131) kao i centralnim smetnjama(73-75, 78), otpuštanju dopamina(73, 78), senzitivnosti receptora(73) i blokade(74) istih, tolerantnosti i obrnutoj tolerantnosti(75), depleciji dopaminskih vezikula(75) ili njihovo uništenje(75) te da isto tako stimulira otpuštanje serotonina u nigrostriatalnim područjima(132). Nakon pokusa na kapsaicinom(63, 64), demonstrirali smo velike neuroprotektivne mogućnosti i kod ozljede perifernih živaca(38) i kod traumatske ozljede mozga(39). Isto tako, razmatrajući njegov prvotan citoprotektivan učinak nakon alkoholom uzrokovanih lezija(16), tvrdilo se da je BPC 157 novi medijator Robertsonove citoprotekcije(13). Naposljetku, nakon pokazivanja citoprotektivnog učinka kod NSAID-a(3)(toksičnost u gastrointestinalnom traktu, jetri i mozgu i aspirinom uzrokovanog produženog krvarenja i tromocitopenije(44, 65, 114-116)) BPC 157 je predložen kao poseban antidot za toksičnost uzrokovanu NSAID-om(6). Isto tako je važna i sposobnost spašavanja funkcije različitih sfinktera, donjeg ezofagealnog, piloričkog i uretralnog te shodno tome spriječavanje razvoja ezofagitisa kao i stres inkontinencije(2, 27, 50, 133-136). Finalno, razmatrajući sposobnost angiogeneze u našim pokusima, točnije povezanost sa naprijednim cijeljenjem rane(nije prisutno in vitro)(21-23), stimulacija egr-1 i naB2 gena(42)(sposobnost cijeljenja tetive sprovodi aktivacijom FAK- paxillin puta(34)) i drugi su ukazali na sposobnost angiogeneze, od strane BPC 157, u sluznici

kolon promijenjenog ulcerounim kolitisom te na povećanu ekspresiju egr-1 gena, zaduženih za nakupljanje citokina i angiogenetskih faktora rasta(137,138).

Nadalje BPC 157 je povećao protok krvi u sluznici na rubu vrijeda kao i samo cijeljenje istoga(139). Moguće je da BPC 157 direktno štiti sluznicu želuca(70) i održava razinu ATP-a u sluznici uz preventivno djelovanje na razvoj ulkusa(140-142). Omjer inhibicije i formacije vrijeda je bio veći nego kod famotidina(143). Dosljedno našim pronalascima(1-6), kontinuirana aplikacija BPC 157 (kod kroničnog ulkusa izazvanog kiselinom) može ubrzati ponovnu izgradnju zvijezdanog epitela i formaciju granulacijskog tkiva(143). Ista grupa je pokazala i povoljne protektivne učinke na zarastanje reznih rana kod svinja malog tipa(144). Na osnovi ovih sposobnosti cijeljenja, neki su ga predlagali kao rješenje Pavlovljevog koncepta fiziologije(145).

Na kraju, treba istaknuti još jednu važnu stavku, a to je da je uvijek apliciran sam, bez ikakvog nosača, u dozama u rasponu od mikrograma do nanograma te na razne načine: intraperitonealno, intragatrično, u vodi za piće, topički na mjesto ozljede. Time su se izbjegli mogući problemi vezani uz peptide i njihove nosače te su svi učinci bez imalo nedoumice, mogu pripisati datom peptidu(1-6). Stoga plan aplikacije BPC 157(1-6) bez problema nadilazi standardne peptide i njihovu uporabu raznih nosača(kompleks peptid i nosač) kako bi se postigao željeni učinak(146). Stoga dilema između aktivnosti i metodologije, gdje je često teško biti siguran u aktivni dio kompleksa nosača i peptida(dali je to peptid, nosač, oboje ili ništa od navedenog) to jest odrediti doprinos svakog pojedinog od njih(143), se ne odnosi na BPC 157(1-6). dok se isčekuje detaljnije ispitivanje njegovog kliničkog učinka, treba naglasiti da je BPC 157 već bio testiran u kliničkim pokusima(upalne bolesti crijeva, faza 2) i dokazana je njegova sigurnost, pošto LD₅₀ nije postignut(1-6). Stoga smatramo da je BPC 157 zaseban sustav koji je u interakciji sa NO sustavom.

Literatura

1. Sikiric P, Petek M, Rucman R, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rotkvic I, et al. [A new gastric juice peptide, BPC. An overview of the stomach-stress-organoprotection hypothesis and beneficial effects of BPC.](#) J Physiol Paris. 1993; 87: 313-27.
2. Sikiric P, Seiwerth S, Brcic L, Blagaic AB, Zoricic I, Sever M, et al. [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.](#) Inflammopharmacol 2006; 14: 214-21.
3. Sikiric P, Seiwerth S, Brcic L, Sever M, Klicek R, Radic B, et al. [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: 1224-34.
4. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Turkovic B, Rokotov DS, Brcic L, et al. [Stable gastric pentadecapeptide BPC 157: novel therapy in gastrointestinal tract.](#) Curr Pharm Des. 2011; 17: 1612-32.
5. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Turkovic B, Rokotov DS, Brcic L, et al. [Focus on ulcerative colitis: stable gastric pentadecapeptide BPC 157.](#) Curr Med Chem. 2012; 19: 126-32.
6. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Turkovic B, Rokotov DS, Brcic L, et al. [Toxicity by NSAIDs. Counteraction by Stable Gastric Pentadecapeptide BPC 157.](#) Curr Pharm Des. 2013; 19: 76-83.
7. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature 1987; 327: 524-6.

8. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6.
9. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem Pharmacol* 1989; 38: 1709-15.
10. Taylor CT, Moncada S. Nitric oxide, cytochrome C oxidase, and the cellular response to hypoxia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 643-7.
11. Erusalimsky JD, Moncada S. Nitric oxide and mitochondrial signaling: from physiology to pathophysiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 2524-31.
12. Moncada S. Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. *J R Soc Med* 1999; 92:164-9.
13. Lopez-Belmonte J, Whittle BJR, Moncada S. The actions of nitric oxide donors in the prevention or induction of injury to the rat gastric mucosa. *Br J Pharmacol* 1993; [108](#): 73–8.
14. Whittle BJR, Boughton-Smith NK, Moncada S. Biosynthesis and role of the endothelium-derived vasodilator, nitric oxide in gastric mucosa. *Ann. NY Acad Sci* 1992; 664: 126–39.
15. Brennan PA, Moncada S. From pollutant gas to biological messenger: the diverse actions of nitric oxide in cancer. *Ann R Coll Surg Engl* 2002; 84: 75-7815.
16. Sikirić P, Seiwerth S, Grabarević Z, Rucman R, Petek M, Jagić V, et al. 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; 332: 23-33.
17. Turkovic B, Sikiric P, Seiwerth S, Mise S, Anic T, Petek M, et al. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 studied for inflammatory bowel disease (PLD-116,

- PL14736, Pliva) induces nitric oxide synthesis. *Gastroenterology* 2004; 126: 287.
18. [Lovric-Bencic M](#), [Sikiric P](#), [Hanzevacki JS](#), [Seiwerth S](#), [Rogic D](#), [Kusec V](#), et al. Doxorubicine-congestive heart failure-increased big endothelin-1 plasma concentration: reversal by amlodipine, losartan, and gastric pentadecapeptide BPC157 in rat and mouse. *J Pharmacol Sci* 2004; 95:19-26.
 19. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Petek M, Rucman R, Turkovic B, et al. The beneficial effect of BPC 157, a 15 amino acid peptide BPC fragment, on gastric and duodenal lesions induced by restraint stress, cysteamine and 96% ethanol in rats. A comparative study with H2 receptor antagonists, dopamine promoters and gut peptides. *Life Sci.* 1994; 54: PL63-8.
 20. Hrelec M, Klicek R, Brcic L, Brcic I, Cvjetko I, Seiwerth S, et al. Abdominal aorta anastomosis in rats and stable gastric pentadecapeptide BPC 157, prophylaxis and therapy. [J Physiol Pharmacol.](#) 2009; 60 Suppl 7:161-5.
 21. Seiwerth S, Sikiric P, Grabarevic Z, Zoricic I, Hanzevacki M, Ljubanovic D, et al. BPC 157's effect on healing. *J Physiol Paris* 1997; 91: 173-8.
 22. Mikus D, Sikiric P, Seiwerth S, Petricevic A, Aralica G, Druzijancic N, et al. Pentadecapeptide BPC 157 cream improves burn-wound healing and attenuates burn-gastric lesions in mice. *Burns* 2001; 27: 817-27.
 23. Sikiric P, Seiwerth S, Mise S, Staresinic M, Bedekovic V, Zarkovic N, et al. Corticosteroid-impairment of healing and gastric pentadecapeptide BPC-157 creams in burned mice. *Burns* 2003;29:323-34.
 24. Klicek R, Sever M, Radic B, Drmic D, Kocman I, Zoricic I, et al. Pentadecapeptide BPC 157, in clinical trials as a therapy for inflammatory bowel disease (PL14736), is effective in the healing of colocutaneous fistulas in rats: role of the nitric oxide-system. *J Pharmacol Sci.* 2008; 108: 7-17.
 25. Vuksic T, Zoricic I, Brcic L, Sever M, Klicek R, Radic B, et al. Stable gastric

- pentadecapeptide BPC 157 in trials for inflammatory bowel disease (PL-10, PLD-116, PL14736, Pliva, Croatia) heals ileoileal anastomosis in the rat. *Surg Today* 2007; 37: 768-77.
26. Sever M, Klicek R, Radic B, Brcic L, Zoricic I, Drmic D, et al. Gastric pentadecapeptide BPC 157 and short bowel syndrome in rats. *Dig Dis Sci*. 2009; 54: 2070-83.
27. Cesarec V, Becejac T, Misic M, Djakovic Z, Olujic D, Drmic D, et al. Pentadecapeptide BPC 157 and the esophagocutaneous fistula healing therapy. *Eur J Pharmacol* 2012; 701: 203-212.
28. Staresinic M, Sebecic B, Patrlj L, Jadrijevic S, Suknaic S, Perovic D, et al. Gastric pentadecapeptide BPC 157 accelerates healing of transected rat Achilles tendon and in vitro stimulates tendocytes growth. *J Orthop Res* 2003; 21: 976-83.
29. Staresinic M, Petrovic I, Novinscak T, Jukic I, Pevec D, Suknaic S, et al. Effective therapy of transected quadriceps muscle in rat: Gastric pentadecapeptide BPC 157. *J Orthop Res* 2006; 24: 1109-17.
30. Novinscak T, Brcic L, Staresinic M, Jukic I, Radic B, Pevec D, et al. Gastric pentadecapeptide BPC 157 as an effective therapy for muscle crush injury in the rat. *Surg Today* 2008; 38: 716-25.
31. Pevec D, Novinscak T, Brcic L, Sipos K, Jukic I, Staresinic M, et al. Impact of pentadecapeptide BPC 157 on muscle healing impaired by systemic corticosteroid application. *Med Sci Monit* 2010; 16: 81-88.
32. Brcic L, Brcic I, Staresinic M, Novinscak T, Sikiric P, Seiwert S. Modulatory effect of gastric pentadecapeptide BPC 157 on angiogenesis in muscle and tendon healing. *J Physiol Pharmacol* 2009; 60 Suppl 7:191-6.
33. Stupnisek M, Franjic S, Drmic D, Hrelec M, Kolenc D, Radic B, et al.

- Pentadecapeptide BPC 157 reduces bleeding time and thrombocytopenia after amputation in rats treated with heparin, warfarin or aspirin. *Thromb Res* 2012; 129: 652-9.
34. Chang CH, Tsai WC, Lin MS, Hsu YH, Pang JH. The promoting effect of pentadecapeptide BPC 157 on tendon healing involves tendon outgrowth, cell survival, and cell migration. *J Appl Physiol* 2011; 110: 774-80.
35. Krivic A, Anic T, Seiwert S, Huljev D, Sikiric P. Achilles detachment in rat and stable gastric pentadecapeptide BPC 157: Promoted tendon-to-bone healing and opposed corticosteroid aggravation. *J Orthop Res* 2006; 24: 982-9.
36. Krivic A, Majerovic M, Jelic I, Seiwert S, Sikiric P, et al. Modulation of early functional recovery of Achilles tendon to bone unit after transection by BPC 157 and methylprednisolone. *Inflamm Res* 2008; 57: 205-10.
37. Cerovecki T, Bojanic I, Brcic L, Radic B, Vukoja I, Seiwert S, et al. Pentadecapeptide BPC 157 (PL 14736) improves ligament healing in the rat. *J Orthop Res* 2010; 28: 1155-61.
38. Gjurasin M, Miklic P, Zupancic B, Perovic D, Zarkovic K, Brcic L, et al. Peptide therapy with pentadecapeptide BPC 157 in traumatic nerve injury. *Regul Pept* 2010; 160: 33-41.
39. Tudor M, Jandric I, Marovic A, Gjurasin M, Perovic D, Radic B, et al. Traumatic brain injury in mice and pentadecapeptide BPC 157 effect. *Regul Pept* 2010; 160: 26-32.
40. Sebecic B, Nikolic V, Sikiric P, Seiwert S, Sosa T, Patrlj L, et al. Osteogenic effect of a gastric pentadecapeptide, BPC-157, on the healing of segmental bone defect in rabbits: a comparison with bone marrow and autologous cortical bone implantation. *Bone* 1999; 24: 195-202.
41. Keremi B, Lohinai Z, Komora P, Duhaj S, Borsi K, Jobbagy-Ovari G, et al.

- Antiinflammatory effect of BPC 157 on experimental periodontitis in rats. J Physiol Pharmacol 2009; 60 Suppl 7: 115-22.
42. Tkalcevic VI, Cuzic S, Brajsa K, Mildner B, Bokulic A, Situm K, et al. [Enhancement by PL 14736 of granulation and collagen organization in healing wounds and the potential role of egr-1 expression.](#) Eur J Pharmacol 2007; 570: 212-21.
 43. Silverman ES, Khachigian LM, Santiago FS, Williams AJ, Lindner V, Collins T. Vascular smooth muscle cells express the transcriptional corepressor NAB2 in response to injury. Am J Pathol 1999; 155: 1311–7.
 44. Ilic S, Drmic D, Zarkovic K, Kolenc D, Brcic L, Radic B, et al. [Ibuprofen hepatic encephalopathy, hepatomegaly, gastric lesion and gastric pentadecapeptide BPC 157 in rats.](#) Eur J Pharmacol. 2011; 667: 322-9.
 45. Albert J, Walle HN, Li N, Frostell C, Hjemdaht P. Neither endogenous nor inhaled nitric oxide influences the function of circulating platelets in healthy volunteers. Clinical Sci 1999; 97: 345–53.
 46. Krejcy K, Schmetterer L, Kastner J, Nieszpaur-Los M, Monitzer B, Schütz W, et al. Role of nitric oxide in hemostatic system activation in vivo in humans. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1995; 15: 2063-7.
 47. [Grabarevic Z, Tisljar M, Artukovic B, Bratulic M, Dzaja P, Seiwerth S, et al. The influence of BPC 157 on nitric oxide agonist and antagonist induced lesions in broiler chicks.](#) J Physiol Paris 1997; 91: 139-49.
 48. [Balenovic D, Bencic ML, Udovicic M, Simonji K, Hanzevacki JS, Barisic I, et al. Inhibition of methyldigoxin-induced arrhythmias by pentadecapeptide BPC 157: a relation with NO-system.](#) Regul Pept 2009;156: 83-9.
 49. Balenovic D, Barisic I, Prkacin I, Horvat I, Udovicic M, Uzun S, et al. 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.
50. Barisic M, Balenovic D, Klicek R, Nikitovic B, Drmic D, Udovicic M, et al. Mortal hyperkalemia disturbance in rats is NO-system related. The life saving effect of pentadecapeptide BPC 157. [Regul Pept](#) 2013;181C:50-66.
51. Boban-Blagaic A, Blagaic V, Romic Z, Jelovac N, Dodig G, Rucman R, et al. 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.
52. Amadeu TP, Costa AM. Nitric oxide synthesis inhibition alters rat cutaneous wound healing. *J Cutan Pathol* 2006; 33: 465–473.
53. Shukla A, Rasik AM, Shankar R. Nitric oxide inhibits wounds collagen synthesis. *Mol Cell Biochem* 1999; 200: 27–33
54. Polat C, Arikan Y, Gokce C, Aktepe F, Akbulut G, Yilmaz S, et al. The effect of NG-nitro L-arginine methyl ester on colonic anastomosis after increased intra-abdominal pressure. *Langenbecks Arch Surg* 2007; 392: 197–202.
55. Erbil Y, Calis A, Berber E, Mercan S. The effect of intraoperative colonic lavage with NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) on anastomotic healing in the presence of left-sided colonic obstruction in the rat. *Surg Today* 2000; 30: 421–425.
56. Uzbay IT, Yesilyurt O, Celik T, et al. Effects of agmatine on ethanol withdrawal syndrome in rats. *Behav Brain Res* 2000; 107: 153–59.
57. Zou JY, Martinez DB, Neafsey EJ, Collins MA. Binge ethanol-induced brain damage in rats: effect of inhibitors of nitric oxide synthase. *Alcohol Clin Exp Res* 1996; 20: 1406–11.
58. Adams ML, Sewing BN, Chen J, et al. Nitric oxide-related agents alter alcohol

- withdrawal in male rats. *Alcohol Clin Exp Res* 1995; 19: 195–9
59. Demiryurek AT, Demiryurek S. Cardiotoxicity of digitalis glycosides: roles of autonomic pathways, autacoids and ion channels. *Auton Autacoid Pharmacol* 2005; 25: 35–52.
 60. Pabla R, Curtis MJ. Effects of NO modulation on cardiac arrhythmias in the rat isolated heart. *Circ Res* 1995; 77: 984–92.
 61. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-42.
 62. Sikiric, P, Mazul, B, Seiwerth, S, Grabarevic, Z, Rucman, R, Petek, M, et al. Pentadecapeptide BPC 157 interactions with adrenergic and dopaminergic systems in mucosal protection in stress. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 661-71.
 63. Sikiric, P, Gyires, K, Seiwerth, S, Grabarevic, Z, Rucman, R, Petek, M, et al. The effect of pentadecapeptide BPC 157 on inflammatory, non-inflammatory, direct and indirect pain and capsaicin neurotoxicity. *Inflammopharmacol* 1993; 2: 121-7.
 64. Kalogjera L, Ries M, Baudoin T, Ferencic Z, Totic R, Pegan B. Dose-dependent protective effect of BPC 157 on capsaicin-induced rhinitis in rats. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1997; 254 Suppl 1: S9-11.
 65. Sikiric, P, Seiwerth, S, Grabarevic, Z, Rucman, R, Petek, M, Jagic, V, et al. The beneficial effect of a novel pentadecapeptide BPC 157 on gastric lesions induced by restraint stress, ethanol, indomethacin and capsaicin neurotoxicity. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1604-14.
 66. Veljaca, M, Chan, K, Guglietta, A. Digestion of h-EGF, h-TGF alpha and BPC-15 in human gastric juice. *Gastroenterology* 1995; 108: 761.
 67. Veljaca, M, Lesch, CA, Sanchez, B, Low, J, Guglietta, A. Protection of BPC-15 on TNBS-induced colitis in rats: Possible mechanisms of action. *Gastroenterology* 1995; 108: 936.

68. Fadda F, Rossetti ZL. Chronic ethanol consumption: from neuroadaptation to neurodegeneration. *Prog Neurobiol* 1998; 56: 385-431.
69. Blagaic AB, Blagaic V, Romic Z, Sikiric P. [The influence of gastric pentadecapeptide BPC 157 on acute and chronic ethanol administration in mice.](#) *Eur J Pharmacol* 2004; 499: 285-90.
70. Prkacin I, Separovic J, Aralicia G, Perovic D, Gjurasin M, Lovric-Bencic M, et al. Portal hypertension and liver lesions in chronically alcohol drinking rats prevented and reversed by stable gastric pentadecapeptide BPC 157 (PL-10, PLD-116), and propranolol, but not ranitidine. *J Physiol Paris* 2001; 95: 315-24.
71. Prkacin I, Aralica G, Perovic D, Separovic J, Gjurasin M, Lovric-Bencic M, et al. Chronic cytoprotection: pentadecapeptide BPC 157, ranitidine and propranolol prevent, attenuate and reverse the gastric lesions appearance in chronic alcohol drinking rats. *J Physiol Paris* 2001; 95: 295-301.
72. Prkacin I, Staresinic M, Suknaic S, Separovic J, Lovric Bencic M, Stancic Rokotov D, et al. Reduction of Doppler shift of otherwise increased blood flow velocity in v. cava inferior and v. portae of chronically alcohol drinking portal hypertensive rats by gastric pentadecapeptide BPC 157 (PL-10). *Gastroenterology* 2002; 122: 353.
73. Jelovac N, Sikirić P, Rucman R, Petek M, Perović D, Konjevoda P, et al. 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: 511-9.
74. Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, Petek M, Marovic A, Perovic D, et al. Pentadecapeptide BPC 157 attenuates disturbances induced by neuroleptics: the effect on catalepsy and gastric ulcers in mice and rats. *Eur J Pharmacol* 1999; 379: 19-31.

75. Sikiric P, Marovic A, Matoz W, Anic T, Buljat G, Mikus D, et al. A behavioral study of the effect of pentadecapeptide BPC 157 in Parkinson's disease models in mice and gastric lesions induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *J. Physiol (Paris)* 1999; 93: 505–12.
76. Sikiric P, Separovic J, Buljat G, Anic T, Stancic-Rokotov D, Mikus D, et al. [The antidepressant effect of an antiulcer pentadecapeptide BPC 157 in Porsolt's test and chronic unpredictable stress in rats. A comparison with antidepressants.](#) *J Physiol Paris* 2000; 94: 99-104.
77. Sikiric P, Jelovac N, Jelovac-Gjeldum A, Dodig G, Staresinic M, Anic T, et al. [Anxiolytic effect of BPC-157, a gastric pentadecapeptide: shock probe/burying test and light/dark test.](#) *Acta Pharmacol Sin.* 2001; 22: 225-30.
78. Sikiric P, Jelovac N, Jelovac-Gjeldum A, Dodig G, Staresinic M, Anic T, et al. [Pentadecapeptide BPC 157 attenuates chronic amphetamine-induced behavior disturbances.](#) *Acta Pharmacol Sin* 2002; 23: 412-22.
79. Boban Blagaic A, Blagaic V, Mirt M, Jelovac N, Dodig G, Rucman R, et al. Gastric pentadecapeptide BPC 157 effective against serotonin syndrome in rats. *Eur J Pharmacol* 2005; 512: 173-9.
80. Egli M. Peptides: their role in excess alcohol drinking and their promise as therapeutic tool. *Physiol Behav* 2003; 79: 89– 93.
81. Cohen C, Perrault G, Sanger DJ. Evidence for the involvement of dopamine receptors in ethanol-induced hyperactivity in mice. *Neuropharmacol* 1997; 36: 1099–108.
82. Malinowska B, Napiorkowska-Pawlak D, Pawlak R et al. Ifenprodil influences changes in mouse behavior related to acute and chronic ethanol administration. *European J Pharmacol* 1999; 377: 13–9.
83. Tracy HA Jr, Wayner MJ. Losartan blocks diazepam and ethanol effects on air

- righting. *Alcohol* 1998; 16: 93–99.
84. Daniell LC. Alteration of general anesthetic potency by agonists and antagonists of the polyamine binding site of the polyamine binding site of the N-methyl-D-aspartate receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 261: 304–10.
85. Zink BJ, Schultz CH, Stern SA, et al. Effects of ethanol and naltrexone in a model of traumatic brain injury with hemorrhagic shock. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25: 916–23.
86. Dar MS. Involvement of kappa-opioids in the mouse cerebellar adenosinergic modulation of ethanol-induced motor incoordination. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22: 444–54.
87. Popova NK, Ivanova EA. 5-HT(1A) receptor antagonist p-MPPI attenuates acute ethanol effects in mice and rats. *Neurosci Lett* 2002; 322:1–4.
88. Costall B, Jones BJ, Kelly ME. Ondansetron inhibits a behavioral consequence of withdrawing from drugs of abuse. *Pharmacol Biochem Behav* 1990; 36: 339–44.
89. Mehta AK, Ticku MK. Ethanol- and diazepam-withdrawal hyper locomotion is not due to 5-HT₃ receptor stimulation. *Pharmacol Biochem Behav* 1993; 45: 755–7.
90. Grant KA, Hellevuo K, Tabakoff B. The 5-HT₃ antagonist MDL 72222 exacerbates ethanol withdrawal seizures in mice. *Alcohol Clin Exp Res* 1994; 18: 410–14.
91. Smith JW, Little HJ. Differential effects of a dihydropyridine calcium channel antagonist on the components of ethanol tolerance. *Brain Res* 2000; 863: 9–19.
92. Wallis CJ, Rezazadeh SM, Lal H. GM1 ganglioside reduces ethanol intoxication and the development of ethanol dependence. *Alcohol* 1995; 12: 573–80.
93. French TA, Masserano JM, Weiner N: Influence of thyrotropin-releasing hormone and catecholaminergic interactions on CNS ethanol sensitivity. *Alcohol Clin Exp Res* 1993; 17: 99–106.
94. Adams ML, Cicero TJ. Alcohol intoxication and withdrawal: The role of nitric oxide.

Alcohol 1998; 16: 153–8.

95. Świątkowski M, Budzyński J, Kłopocka M, et al. Parameters of the functional and morphological status of the upper digestive tract in alcoholdependent male patients with depression and alexithymia in the context of autonomic nervous system activity and nitric oxide plasma level. *Med Sci Monit* 2004; 10: 68–74.
96. Lavallee M, Takamura M, Parent R, Thorin E. Crosstalk between endothelin and nitric oxide in the control of vascular tone. *Heart Fail Rev* 2001; 6: 265–76.
97. Ozaki K, Yamamoto T, Ishibashi T, Matsubara T, Nishio M, Aizawa Y. Regulation of endothelial nitric oxide synthase and endothelin-1 expression by fluvastatin in human vascular endothelial cells. *Jpn J Pharmacol* 2001; 85: 147–54.
98. Wagner FD, Buz S, Knosalla C, Hetzer R, Hoher B. Modulation of circulating endothelin-1 and big endothelin by nitric oxide inhalation following left ventricular assist device implantation. *Circulation* 2003; 108 Suppl 1: 278–84.
99. Wittstein IS, Kass DA, Pak PH, Maughan WL, Fetters B, Hare JM. Cardiac nitric oxide production due to angiotensin-converting enzyme inhibition decreases beta-adrenergic myocardial contractility in patients with dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 429–35.
100. Cannan CR, Burnett JC, Lerman A. Enhanced coronary vasoconstriction to endothelin B receptor activation in experimental chronic heart failure. *Circulation* 1996; 93: 646–51.
101. Cannan CR, Verghese M, Lerman A. New insight into coronary endothelial dysfunction. Role of endothelin. *J Lab Clin Med* 1998; 131: 300–5.
102. Kiowski W, Sutsch G, Hunziker P, et al. Evidence for endothelin-1 mediated vasoconstriction in severe chronic heart failure. *Lancet* 1995; 346: 732–6.
103. Berger R, Strecker K, Huelsmann M, et al. Prognostic power of neurohumoral parameters in chronic heart failure depends on clinical stage and observation

- period. J Heart Lung Transpl 2003; 22: 1037–45.
104. Pacher R, Bergler-Klein J, Globits S, et al. Plasma big endothelin-1 concentrations in congestive heart failure compared to systemic hypertension. Am J Cardiol 1993; 71: 1293–9.
 105. Scheele CW, Frankenhuis MT. Stimulation of the metabolic rate in broilers and the occurrence of metabolic disorders. In: van der Honing Y, Close WH, Eds. Energy metabolism of farm animals. Wageningen, the Netherlands. European Association of Animal Production Publication Pudoc 1989; 43: 251-255.
 106. Wideman RF Jr, Kirby YK, Ismail M, Bottje WG, Moore RW, Vardeman RC. [Supplemental L-arginine attenuates pulmonary hypertension syndrome \(ascites\) in broilers.](#) Poult Sci 1995; 74: 323-30.
 107. Rees DD, Palmer RM, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86: 3375-8.
 108. Tamir H, Ratner S. Enzymes of arginine metabolism in chicks. Arch Biochem Biophys 1963; 102: 249-58.
 109. Tamir H, Ratner S. A study of ornithine, citrulline and arginine synthesis in growing chicks. Arch Biochem Biophys 1963; 102: 259-69.
 110. Bosnjak ZJ, Graf BM, Sikiric P, Stowe DF. Protective effects of newly isolated gastric peptide following hypoxic and reoxygenation injury in the isolated guinea pig heart. FASEB J 1994; 8: A12.
 111. Ercan ZS, Ilhan M, Kilinc M, Turker RK. Arrhythmogenic action of endothelin peptides in isolated perfused whole hearts from guinea pigs and rats. Pharmacology 1996; 53: 234–40.
 112. Clausen T. Hormonal and pharmacological modification of plasma potassium homeostasis, Fundam Clin Pharmacol 2010; 24: 595-605.
 113. Hack JB, Woody JH, Lewis DE, Brewer K, Meggs WJ. The effect of calcium

- chloride in treating hyperkalemia due to acute digoxin toxicity in a porcine model. J Toxicol Clin Toxicol 2004; 42: 337-42.
114. Ilic S, Drmic D, Franjic S, Kolenc D, Coric M, Brcic L, et al. [Pentadecapeptide BPC 157 and its effects on a NSAID toxicity model: diclofenac-induced gastrointestinal, liver, and encephalopathy lesions.](#) Life Sci 2011; 88: 535-42.
115. Ilic S, Drmic D, Zarkovic K, Kolenc D, Coric M, Brcic L, et al. [High hepatotoxic dose of paracetamol produces generalized convulsions and brain damage in rats. A counteraction with the stable gastric pentadecapeptide BPC 157 \(PL 14736\).](#) J Physiol Pharmacol 2010; 61: 241-50.
116. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, et al. [Pentadecapeptide BPC 157 positively affects both non-steroidal anti-inflammatory agent-induced gastrointestinal lesions and adjuvant arthritis in rats.](#) J Physiol Paris 1997; 91:113-22.
117. Akita M, Kuwahara M, Tsubone H, Sugano S. ECG changes during furosemide-induced hypokalemia in the rat. J Electrocardiol 1998; 31: 45-9.
118. Simons P, Nadra I, McNally PG. Metabolic alkalosis and myoclonus. Postgrad Med J 2003; 79: 414-5.
119. Sanguinetti MC, Jurkiewicz NK. Role of external Ca^{2+} and K^{+} in gating of cardiac delayed rectifier K^{+} currents. Pflugers Arch 1992; 420: 180-6.
120. Reungjui S, Pratipanawatr T, Johnson RJ, Nakagawa T. Do thiazides worsen metabolic syndrome and renal disease? The pivotal roles for hyperuricemia and

- hypokalemia. Curr Opin Nephrol Hypertens 2008; 17: 470–6.
121. Ilic S, Brcic I, Mester M, Filipovic M, Sever M, Klicek R, et al. [Over-dose insulin and stable gastric pentadecapeptide BPC 157. Attenuated gastric ulcers, seizures, brain lesions, hepatomegaly, fatty liver, breakdown of liver glycogen, profound hypoglycemia and calcification in rats.](#) J Physiol Pharmacol 2009; 60 Suppl 7: 107-14.
122. [Shapiro JI](#), [Banerjee A](#), [Reiss OK](#), [Elkins N](#). Acute and chronic hypokalemia sensitize the isolated heart to hypoxic injury. Am J Physiol 1998; 274: 598-604.
123. [Driessen JJ](#). Neuromuscular and mitochondrial disorders: what is relevant to the anaesthesiologist? Curr Opin Anaesthesiol 2008; 2: 350-5.
124. Hastings JC, Winkle WV Jr, Barker E, Hines D, Nichols W. Effect of suture materials on healing wounds of the stomach and colon. Surg Gynecol Obstet 1975; 140: 701–7.
125. [Skorjanec S](#), [Dolovski Z](#), [Kocman I](#), [Brcic L](#), [Blagaic Boban A](#), [Batelja L](#), et al. Therapy for unhealed gastrocutaneous fistulas in rats as a model for analogous healing of persistent skin wounds and persistent gastric ulcers: stable gastric pentadecapeptide BPC 157, atropine, ranitidine, and omeprazole. Dig Dis Sci 2009; 54: 46-56.
126. Amadeu TP, Costa AM. Nitric oxide synthesis inhibition alters rat cutaneous wound healing. J Cutan Pathol 2006; 33: 465–73.
127. Shukla A, Rasik AM, Shankar R. Nitric oxide inhibits wounds collagen synthesis. Mol Cell Biochem 1999; 200: 27–33.
128. Polat C, Arikan Y, Gokce C, Aktepe F, Akbulut G, Yilmaz S, et al. The effect of NG-nitro L-arginine methyl ester on colonic anastomosis after increased intra-abdominal pressure. Langenbecks Arch Surg 2007; 392: 197–202.
129. Erbil Y, Calis A, Berber E, Mercan S. The effect of intraoperative colonic

- lavage with NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) on anastomotic healing in the presence of left-sided colonic obstruction in the rat. Surg Today 2000; 30: 421–5.
130. Bilic I, Zoricic I, Anic T, Separovic J, Stancic-Rokotov D, Mikus D, et al. [Haloperidol-stomach 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.
 131. Sikiric P, Separovic J, Buljat G, Anic T, Stancic-Rokotov D, Mikus D, et al. [Gastric mucosal lesions induced by complete dopamine system failure in rats. The effects of dopamine agents, ranitidine, atropine, omeprazole and pentadecapeptide BPC 157.](#) J Physiol Paris 2000; 94: 105-10
 132. Tohyama Y, Sikirić P, Diksic M. [Effects of pentadecapeptide BPC 157 on regional serotonin synthesis in the rat brain: alpha-methyl-L-tryptophan autoradiographic measurements.](#) Life Sci 2004; 76: 345-57.
 133. Petrovic I, Dobric I, Drvis P, Shejbal D, Brcic L, Blagaic AB, et al. [An experimental model of prolonged esophagitis with sphincter failure in the rat and the therapeutic potential of gastric pentadecapeptide BPC 157.](#) J Pharmacol Sci 2006; 102(3): 269-77.
 134. Dobric I, Drvis P, Petrovic I, Shejbal D, Brcic L, Blagaic AB, et al. [Prolonged esophagitis after primary dysfunction of the pyloric sphincter in the rat and therapeutic potential of the gastric pentadecapeptide BPC 157.](#) J Pharmacol Sci 2006; 102: 269-77.
 135. Petrovic I, Dobric I, Drmic D, Sever M, Kliceck R, Radic B, et al. [BPC 157 therapy to detriment sphincters failure-esophagitis-pancreatitis in rat and acute pancreatitis patients low sphincters pressure.](#) J Physiol Pharmacol 2011; 62: 527-

34.

136. Jandric I, Vrcic H, Jandric Balen I, Kolenc D, Brcic L, Radic B, et al. Salutory effect of gastric pentadecapeptide BPC 157 in two different stress urinary incontinence models in female rats. *Med Sci Monit* 2013; 19: 93-102.
137. Sandor Zs, Vincze A, Jadus MR, Dohoczky Cs, Erceg D, Szabo S. The protective effect of newly isolated peptide PL-10 in the iodoacetamide colitis model in rats. *Gastroenterology* 1997; 112: A400.
138. Khomenko T, Szabo S, Deng XM, Sandor Z, Gombos Z, Yoshida M. Cell proliferation, transcription factor Egr-1 and growth factors in experimental ulcerative colitis after treatment with PL 14736: In vitro and in vivo studies. *Gastroenterology* 2003; 124: A493.
139. Pawlik WW, Sikiric P, Brzozowski T, Seiwerth S, Drozdowicz D, Pajdo R, et al. Acceleration of ulcer healing by pentadecapeptide BPC 157 in rats. Involvement of endogenous prostaglandins and gastric secretion. *Gastroenterology* 2004; 126: 541.
140. Mózsik G, Sikiric P, Seiwerth S. Pentadecapeptide BPC 157(PLD116, PL14736, Pliva) influences ATP energy system and antagonizes 0.6 M HCl- and 96 % ethanol-gastric lesion in rat. *Digestion* 2005; 73 (Suppl. 2): 41.
141. [Bódis B, Karádi O, Németh P, Dohoczky C, Kolega M, Mózsik G. Evidence for direct cellular protective effect of PL-10 substances \(synthesized parts of body protection compound, BPC\) and their specificity to gastric mucosal cells. *Life Sci* 1997; 61\(16\): PL 243-8.](#)
142. [Bódis B, Karádi O, Nagy L, Dohoczky C, Kolega M, Mózsik G. Direct cellular effects of some mediators, hormones and growth factor-like agents on denervated \(isolated\) rat gastric mucosal cells. *J Physiol Paris* 1997; 91: 183-7.](#)

143. [Xue XC](#), [Wu YJ](#), [Gao MT](#), [Li WG](#), [Zhao N](#), [Wang ZL](#), et al. Protective effects of pentadecapeptide BPC 157 on gastric ulcer in rats. [World J Gastroenterol](#). 2004; 10: 1032-6.
144. Xue XC, Wu YJ, Gao MT, Li WG, Zhao N, Wang ZL, et al. Study of the protective effects of pentadecapeptide BPC 157 on skin cut wounds in small type pigs. Chin J New Drugs 2004; 13: 602-5.
145. Wood JD. The first nobel prize for integrated systems physiology: Ivan Petrovich Pavlov, 1904. Physiology (Bethesda) 2004; 19: 326-30.
146. Urist MR. The first three decades of bone morphogenetic protein. Osteologie 1996; 4: 207-33.

Zahvale

Na kraju se želim zahvaliti mentoru profesoru Predragu Sikiriću, na profesionalnom i poučnom vođenju kroz pisanje ovog rada. Neizmjereno mu hvala na činjenici što je uvijek bio spreman pomoći i odvojiti vrijeme kako bi mi pomogao u mojim nedoumicama. Isto tako veliko hvala asistentu Domagoju Drmiću i tehničaru Ivanu Gržibovskom, koji su svojim iskustvom i savijetima uvelike olakšali stvaranje i pisanje ovog diplomskog rada i sve vezano uz njega.

Životopis

Jakša Vukojević rođen je 15. 6. 1989. godine u Zagrebu. Nakon završene osnovne škole, upisuje Privatnu klasičnu gimnaziju u Zagrebu, koju završava 2008. godine. Iste godine upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Posljednje četiri godine radio je na Katedri za Farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studiranja aktivno je boravio na međunarodnoj razmjeni u trajanju od mjesec dana u Internacionalnoj agenciji za istraživanje karcinoma (IARC) u Lyonu. Autor je jednog znanstvenog rada, a koutor je tri znanstvena rada, te je aktivno sudjelovao na pet međunarodnih studentskih kongresa (Zagreb, Pećuh) . Aktivno govori engleski i njemački jezik.