

ANNALES  
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA  
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXXIII, 11

SECTIO D

1978

Zakład Histologii i Embriologii. Instytut Biologiczno-Morfologiczny. Wydział Lekarski.  
Akademia Medyczna w Lublinie

Kierownik: prof. dr med. dr h.c. Stanisław Grzycki

Irena KRÓLIKOWSKA-PRASAŁ,  
Barbara CISZEWSKA-POPIOŁEK,  
Jerzy TARACH, Anna TOMASZEWSKA

**Zmiany histologiczne w mięśniu sercowym pod wpływem leków  
przeciwastmatycznych**

Гистологические изменения в миокардию под влиянием противоастматических  
препаратов

Histological Alternations in Heart Muscle under the Influence of Antiasthmatic  
Drugs

Leki przeciwastmatyczne: Izoprenalina, Salbutamol i Astmopent wykazują stymulujący wpływ na adrenergiczne  $\beta_2$ -receptory (1, 4, 9, 12), stąd ich działanie na mięsień sercowy. Izoprenalina (siarczan izopropylnoradrenaliny) poprawia przewodnictwo bodźców w sercu oraz aktywność bodźcotwórczą. Salbutamol budową przypomina Izoprenalinę, jednak selektywność pobudzania  $\beta_2$ -receptorów jest znacznie większa. Astmopent ma podobne działanie w przewodzeniu bodźców przy jednoczesnym zwiększeniu siły skurczowej mięśnia sercowego, działa korzystnie w zaburzeniach rytmu serca. Stosowanie jednak tych leków w dużych ilościach i przez dłuższy okres może powodować zmiany w czynności, metabolizmie i morfologii różnych narządów, a przede wszystkim w wątrobie, nerkach, płucach oraz mięśniu sercowym (2, 5, 8, 14, 17, 18). Celem naszej pracy jest przedstawienie zmian morfologicznych mięśnia sercowego zwierząt doświadczalnych, którym podawano Izoprenalinę, Salbutamol i Astmopent.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania przeprowadzono na królikach (70 szt.) i szczurach (70 szt.) dojrzałych płciowo, obu płci. Zwierzęta podczas doświadczenia przebywały w jednakowych wa-

runkach. Podzielone zostały na 7 grup: grupę I stanowiły zwierzęta kontrolne, którym podawano 0,9% NaCl w dawce 1 mg/kg ciężaru ciała przez okres 6 tygodni. W pozostałych grupach od II do VII zwierzętom podawano leki przeciwastmatyczne przez okres 6 tygodni: grupy II i III otrzymywały Izoprenalinę, grupy IV i V — Salbutamol, grupy VI i VII — Astmopent. Dawki oraz sposób podawaniu leku zestawiono w tab. 1.

Tab. 1. Dane dotyczące podziału grup zwierząt doświadczalnych i kontrolnych, wielkości dawek i sposobu podawania leku

Data concerning division of experimental and control animal groups, doses and the way of medical administration

Grupy zwierząt	Króliki		Szczyry	
	Dawki (mg/kg)			
	dootrzewnowo a	dożylnie b	dootrzewnowo c	per os d
I. Kontrolna 0,9% NaCl	1	1	1	1
II. Izoprenalina	1	0,5	1	4
III. Izoprenalina	5	2,5	25	200
IV. Salbutamol	0,2	0,5	0,2	2
V. Salbutamol	3	1,5	15	200
VI. Astmopent	1	0,5	1	4
VII. Astmopent	3	1,5	15	200

Po 24 godz. od ostatniego podania leku pobierano do badań wycinki z prawej komory serca, które utrwalano w formalinie przez 24 godz. Następnie po odwodnieniu i zatopieniu w parafinie na skrawkach grubości 6  $\mu\text{m}$  wykonywano barwienie hematoksyliną i eozyną oraz sudanem czarnym na ciała tłuszczowe.

## WYNIKI BADAŃ

### Grupa kontrolna

Na preparatach histologicznych mięśnia sercowego królików i szczurów kontrolnych barwionych hematoksyliną i eozyną obserwowano prawidłową strukturę mięśnia z poprzecznym prążkowaniem i wyraźnie zaznaczonym prążkiem Z. Barwliwość jąder i sarkoplazmy w normie. Liczne naczynia krwionośne.

Barwienie sudanem czarnym na obecność ciał tłuszczowych wskazywało na intensywną sudanofilność sarkoplazmy. W sarkoplazmie widoczne były włókienka kurczliwe — miofibryle i wyraźne prążkowanie. Na niektórych preparatach obserwowano nie zabarwione wstawki w postaci jasnych, schodkowato ułożonych, linii. Nieliczne jądra dawały odczynu sudanofilne.

### Grupy doświadczalne II i III (Izoprenalina)

Izoprenalina podawana szczurom i królikom dootrzewnowo przy mniejszych dawkach (grupa IIa, c) nie powodowała istotnych różnic w morfologii mięśnia sercowego w porównaniu z kontrolą (ryc. 1). Natomiast przy wyższych dawkach (grupa IIIa, c) obserwowano poszerzone naczynia krwionośne i liczne wylewy. Sudanofilność sarkoplazmy w tych grupach była wyższa niż w kontroli (ryc. 2).

Podobne zmiany histologiczne obserwowano również w strukturze mięśnia sercowego przy dożylnym podawaniu leku u królików (grupa IIIb), ryc. 3 i *per os* u szczurów (grupa IIIc), ryc. 4.

### Grupy doświadczalne IV i V (Salbutamol)

Badania morfologiczne prowadzone na mięśniu sercowym królików i szczurów, którym podawano dootrzewnowo Salbutamol, wskazywały na prawidłową strukturę włókien mięśniowych. Jądra posiadały wyraźny zrab chromatynowy, a cytoplazma właściwą eozynofilność (grupy IVa, c oraz Va, c), ryc. 5. Widoczne były poszerzone naczynia krwionośne z licznymi erytrocytami.

Barwienie sudanem czarnym przedstawia na preparatach histologicznych wyraźny rysunek poprzecznego prążkowania. Sudanofilność włókien mięśniowych była taka jak w kontroli. Obserwowano nieznaczne przekrwienie mięśnia sercowego, zwłaszcza u szczurów z grup IVc i Vc (ryc. 6).

Podawanie leku dożylnie u królików (IVb i Vb) oraz *per os* (IVd i Vd) u szczurów nie powodowało również istotnych zmian w strukturze mięśnia sercowego w porównaniu z kontrolą. Sudanofilność komórek mięśniowych nie ulegała zmianie (ryc. 7).

### Grupy doświadczalne VI i VII (Astmopent)

Podawanie dootrzewnowo królikom i szczurom Astmopentu (VIa, c, VIIa, c) nie wpływało na zmiany w obrazie morfologicznym mięśnia sercowego poza nieznacznymi przekrwieniami. Przy zachowanej strukturze morfologicznej zauważono w tych grupach wzrost sudanofilności niektórych komórek (ryc. 8). Widoczne są również szerokie, rozwarte naczynia krwionośne wypełnione krwinkami. Podawanie leku *per os* (grupa VIb, VIIb) nie powodowało zmian w obrazie histologicznym mięśnia sercowego.

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przeprowadzone badania histologiczne nad wpływem leków przeciwastmatycznych (Izoprenalina, Salbutamol i Astmopent) na mięsień sercowy wskazują na nieznaczne ich działanie na morfologię mięśnia, co jest zgodne w niektórych przypadkach z badaniami Hartleya i wsp. (9). Wykazano jednakże, że wśród badanych leków najbardziej toksyczne działanie wykazuje Izoprenalina. Wpływa ona na wzrost sudanofilności sarkoplazmy, związany z gromadzeniem się ciał tłuszczowych, oraz poszerzenie naczyń krwionośnych i liczne wylewy. Podobne zmiany objawiające się nacieczeniem tłuszczowym w mięśniu sercowym przy stosowaniu Izoprenaliny były obserwowane przez Janiec i Piekarską (10).

Wpływ Izoprenaliny na mięsień sercowy, jak wykazaliśmy, jest uzależniony przede wszystkim od wielkości dawki oraz drogi podawania leku. Z badań Brusa wynika (2), że Izoprenalina obniża zawartość glikogenu w mięśniu sercowym, co najbardziej widoczne jest w sercu szczurów dojrzałych, mniej u noworodków. Badania Sutherlanda i wsp. (wg 2) wskazują, że wpływ glikogenolityczny wytworzony przez katecholaminy poprzedza gromadzenie cyklicznego 3'5'AMP w komórce. Cykliczny 3'5'AMP stymuluje przemianę węglowodanową i tłuszczową.

Kulig i wsp. (14) w badaniach nad mięśniem sercowym wskazują, że u zwierząt otrzymujących Izoprenalinę rozwinęły się zmiany nekrotyczne mięśnia sercowego. Jednakże intensywność uszkodzeń mięśnia była proporcjonalna do dawki Izoprenaliny. Zwracają również uwagę na czynniki blokujące (Pindolol, Propranol), które chronią mięsień sercowy przed nekrozą. Procent całkowitego działania ochronnego zależy zarówno od dawki Izoprenaliny, jak i  $\beta$ -blokerów. Jak podają autorzy, udział jonów wapnia w mechanizmie kariatoksycznego działania Izoprenaliny wydaje się decydujący (13).

Nie zauważyliśmy istotnych zmian morfologicznych przy podawaniu zwierzętom Salbutamolu. Zarówno wielkość dawki, jak i droga podawania leku, nie wpływają ujemnie na mięsień sercowy. Droszcz i wsp. (6) podają, że selektywność pobudzania przez Salbutamol  $\beta_2$ -receptorów jest całkowita i lek ten wywiera pobudzające działanie na  $\beta_1$ -receptory, ale tylko w odosobnionych przypadkach. Badania Culluma (4) i Ekue (7) wskazują, że Salbutamol posiada w przybliżeniu 1/8 działania Izoprenaliny na receptory  $\beta_2$ -adrenergiczne i tylko 1/200 działania na odpowiedź receptorów  $\beta_1$ -adrenergicznych. Według Kelly'ego i wsp. (11) maksymalny wzrost szybkości tętna spowodowany Izoprenalina i Salbutamolem nie różni się w istotny sposób między sobą, a także nie ma istotnej różnicy w poziomie wolnych kwasów tłuszczowych.

Według badań Robinsona i wsp. (16), Lee i wsp. (15) oraz

Chameles i wsp. (3) pobudzenie  $\beta$ -receptorów serca przez katecholaminy prowadzi do wzmożenia produkcji cyklicznego AMP, który działa jako „drugi przekaźnik” i zapoczątkowuje działanie inotropowe i chronotropowe odpowiedzi (16). Uważa się, że Izoprenalina wywiera wpływ na mięsień sercowy przez przyspieszenie syntezy AMP i zahamowanie rozpadu cAMP (16). Izoprenalina pobudza sercową adenylazę, a Salbutamol powoduje pobudzenie poprzez produkcję cyklicznego AMP. Oba te czynniki pobudzają szybkość i siłę pracy serca (15). Wykazano również, że acetylcholina obniża wzrost stężenia cAMP, a więc działa antagonistycznie do badanych leków.

Działanie Astmopentu na mięsień sercowy jest podobne do Salbutamolu. W naszych badaniach nie obserwowaliśmy istotnych zmian morfologicznych w strukturze mięśnia sercowego po podaniu zwierzętom Astmopentu. Wielkość dawki oraz droga podawania leku nie posiadały decydującego znaczenia.

### Wnioski

1. Wśród leków przeciwastmatycznych największe działanie toksyczne na mięsień sercowy badanych zwierząt wywiera Izoprenalina.
2. Zmiany morfologiczne w mięśniu sercowym spowodowane Izoprenalina zależą zarówno od wielkości stosowanej dawki, jak i drogi podawania leku.
3. Najbardziej znamienne obrazy morfologiczne mięśnia sercowego, objawiające się w postaci nacieczenia tłuszczowego — sudanofilności sarkoplazmy i licznych wylewów krwawych, obserwowaliśmy przy dawkach 5 mg/kg dla królików i 25 mg/kg dla szczurów podawanych drogą dootrzewnową.
4. Pozostałe badane leki — Salbutamol i Astmopent — nie powodują istotnych zmian w morfologii mięśnia sercowego.

### PIŚMIENNICTWO

1. Brittain R. T., Framer J. B., Jack D., Martin L. E., Simpson W. T.: *Nature* **219**, 862—863, 1968.
2. Brus R.: *Dissert. Pharm. Pharmacol.* **24**, 241—247, 1972.
3. Chameles M. H., Gourley R. D., Williams B. J.: *Br. J. Pharmac.* **53**, 531—538, 1975.
4. Cullum V. A., Farmer J. B., Jack D., Levy G. P.: *Br. J. Pharmac.* **35**, 141—151, 1969.
5. Czerny K., Staszyc J., Kifer E., Tomaszewska A.: *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sectio D* **33** 1978.
6. Droszcz W., Maklalińska M., Juskowa J.: *Pol. Arch. Med. Wew.* **48**, 431—437, 1972.

7. Ekue J. M. K., Shanks R. G., Zaidi S. A.: Br. J. Pharmac. **43**, 23—31, 1971.
8. Grzycki S., Królikowska I., Tarach J., Zarębska A.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sectio D **33** 1978.
9. Hartley D., Jack D., Lunts L. H. C.: Nature **219**, 861—862, 1968.
10. Janiec W., Piekarska T.: V Zjazd Pol. Tow. Farmakol. Szczecin 1975, s. 86.
11. Kelly J. G., Shanks R. G.: Brit. J. Pharmac. **53**, 157—162, 1975.
12. Kulig A., Grylewski R., Kostka-Trąbka E.: VI Zjazd PTAP, Lublin 1973, s. 37.
13. Kulig A., Grylewski E., Kostka-Trąbka E.: VI Zjazd PTAT, Lublin 1973, s. 36.
14. Kulig A., Kostka-Trąbka E., Chytkowski A., Grylewski R.: Dissert. Pharm. Pharmacol. **24**, 3—10, 1972.
15. Lee T. P., Kuo J. F., Greedgard P.: Biochem. Biophys. Res. Com. **45**, 991—997, 1971.
16. Robinson G. A., Butcher R. W., Qye I., Morgan H. E., Sutherland E. W.: Mol. Pharmac. **1**, 168—177, 1965.
17. Rzeszowska G., Ciszewska-Popiołek B., Romanowska-Sarlej J., Jędrzejewska E.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sectio D **33**, 69—79, 1978.
18. Staszyc J., Czerny K., Kifer E., Jędrzejewska E.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin sectio D **32**, 71—77, 1977.

Otrzymano 4 V 1977.

#### OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Mięsień sercowy królika, który otrzymywał dootrzewnowo 1 mg/kg Izoprenaliny. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 200×.

Ryc. 2. Mięsień sercowy królika otrzymującego dootrzewnowo 5 mg/kg Izoprenaliny. Barwienie sudanem czarnym. Pow. ok. 200×.

Ryc. 3. Mięsień sercowy królika, który otrzymywał dożylnie 2,5 mg/kg Izoprenaliny. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 200×.

Ryc. 4. Mięsień sercowy szczura, który otrzymywał *per os* 200 mg/kg Izoprenaliny. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 200×.

Ryc. 5. Mięsień sercowy szczura, który otrzymywał dootrzewnowo 3 mg/kg Salbutamolu. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 200×.

Ryc. 6. Mięsień sercowy szczura otrzymującego dootrzewnowo 0,2 mg/kg Salbutamolu. Barwienie sudanem czarnym. Pow. ok. 200×.

Ryc. 7. Mięsień sercowy szczura otrzymującego *per os* 2 mg/kg Salbutamolu. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Pow. ok. 200×.

Ryc. 8. Mięsień sercowy szczura, który otrzymywał dootrzewnowo 15 mg/kg Astmopentu. Barwienie sudanem czarnym. Pow. ok. 200×.

#### РЕЗЮМЕ

Проведено морфологические исследования миокардия кроликов и крыс, которые получали противоастматические препараты т.к. Изопреалина, Сальбутамол и Астмопент в разных дозах на протяжении 6 недель. Результаты иссле-

дований показывают, что среди исследованных препаратов самое большое токсическое влияние на миокардий проявляла Изопrenalина. Она вызывала увеличение липоидов в миокардию, расширение кровеносных сосудов и многие кровоизлияния. Морфологические изменения зависели от дозы и способа применения. Сальбутамол и Астмопент вызывали значительно меньшие изменения в морфологии миокардия, чем Изопrenalина.

#### SUMMARY

Morphological studies of the rabbit and rat heart muscle have been carried out. The experimental animals were given antiasthmatic drugs (Isoprenaline, Salbutamol and Astmopent) in various doses throughout a period of 6 weeks. The results have pointed out that Isoprenaline exerted the most toxic influence on the heart muscle. This drug causes an increase in the lipid dilation of blood vessels and numerous extravasations. Morphological changes were dependent on doses as well as on the way of drug administration. Salbutamol and Asthmopent have caused significantly less alternations in the cardiac muscle morphology in comparison to Isoprenaline.

#### EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. Heart muscle of rabbit which was given 1 mg/kg of Isoprenaline intraperitoneally. Hematoxylin and eosin staining. Magn. ca 200X.

Fig. 2. Heart muscle of rabbit which was given 5 mg/kg of Isoprenaline, intraperitoneally. Black Sudan staining. Magn. ca 200X.

Fig. 3. Heart muscle of rabbit was given 2,5 mg/kg of Isoprenaline intravenously. Hematoxylin and eosin staining. Magn. ca 200X.

Fig. 4. Heart muscle of rat which was given 200 mg/kg of Isoprenaline *per os*. Hematoxylin and eosin staining. Magn. ca 200X.

Fig. 5. Heart muscle of rat which was given 3 mg/kg of Salbutamol intraperitoneally Hematoxylin and eosin staining. Magn. ca 200X.

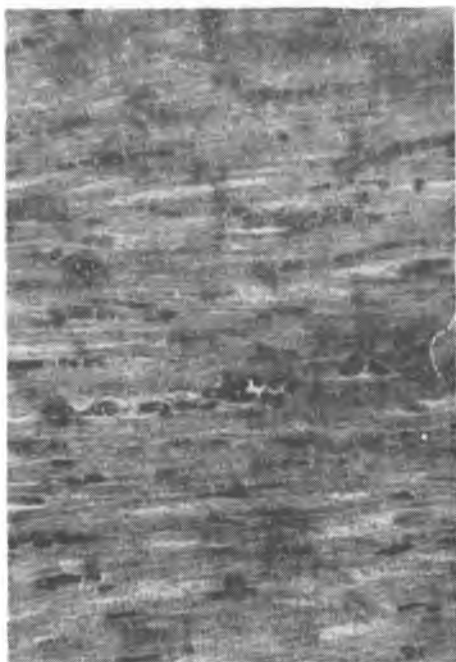
Fig. 6. Heart muscle of rat which was given 0.2 mg/kg of Salbutamol intraperitoneally. Black sudan staining. Magn. ca 200X.

Fig. 7. Heart muscle of rat which was given 2 mg/kg of Salbutamol *per os*. Hematoxylin and eosin staining. Magn. ca 200X.

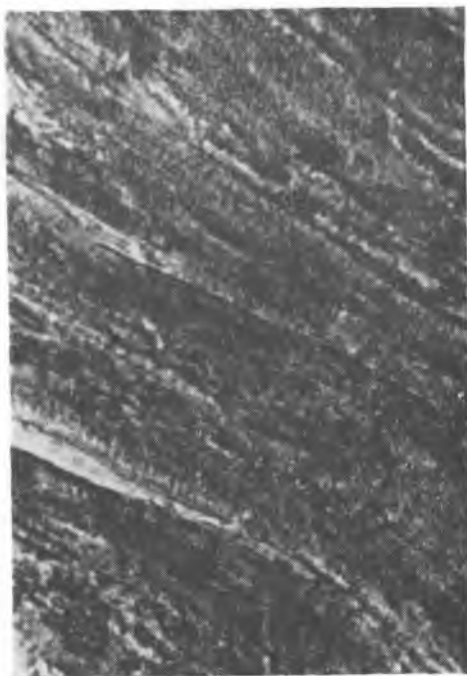
Fig. 8. Heart muscle of rat which was given 15 mg/kg of Asthmopent intraperitoneally. Black sudan staining. Magn. ca 200X.



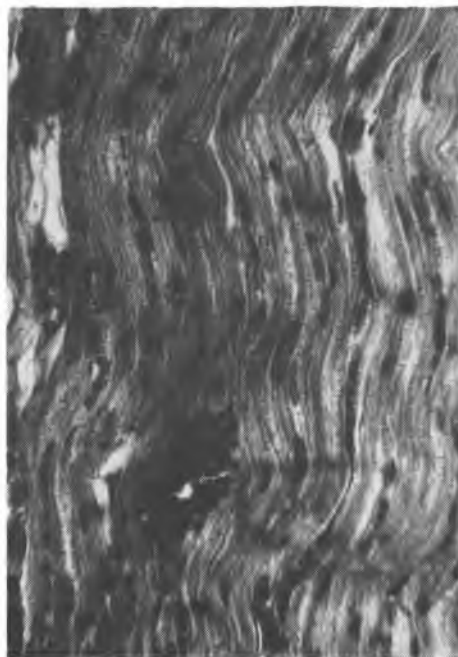




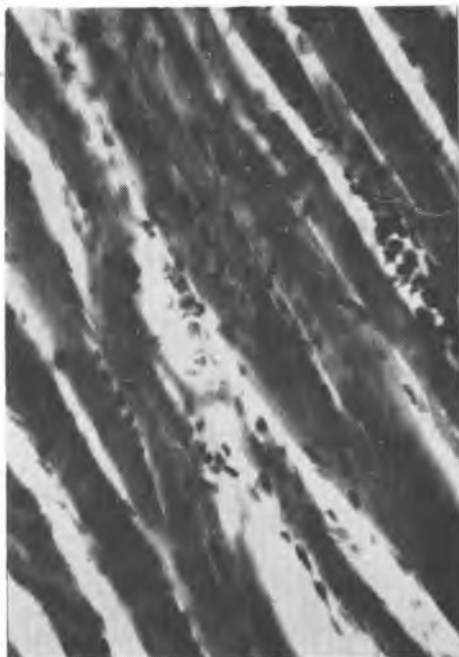
Ryc. 1



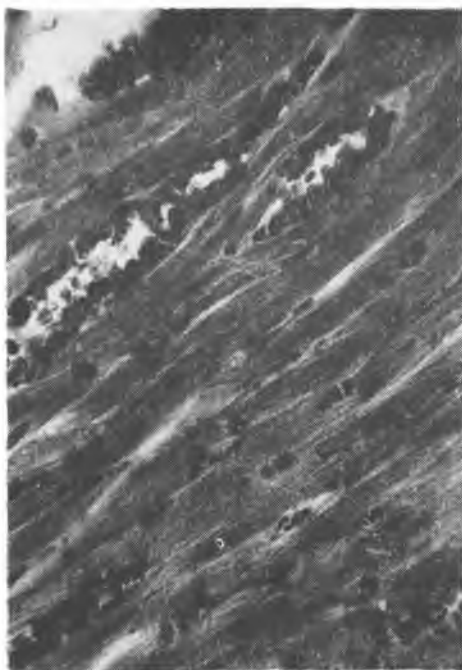
Ryc. 2



Ryc. 3



Ryc. 4



Ryc. 5



Ryc. 6



Ryc. 7



Ryc. 8