

WPLÝW ZHEMOLIZOWANYCH KRWINEK CZERWONYCH NA CZYNNOŚĆ SERCA IZOLOWANEGO

Z Zakładu Fizjologii Człowieka A. M. w Warszawie

Kierownik: prof. dr *Fr. Czubalski* *

W poprzednich pracach autora (7—9) stwierdzone zostało w doświadczeniach przeprowadzonych na kotach hamowanie hipotensyjnego działania autohemolizatów krwinek czerwonych przez adrenalinę. Powyższy hamujący wpływ adrenaliny nie był znoszony przez dawki dihydroergotaminy, odwracające działanie adrenaliny na ciśnienie krwi.

Wiadomo, że dodatnie działanie adrenaliny na serce trudniej ulega zniesieniu przez środki adrenolityczne niż inne dodatnie jej działania. Może ono ujawniać się jeszcze przy dawkach środka adrenolitycznego odwracających działanie adrenaliny na ciśnienie krwi. W związku z powyższym, przy analizie wyników otrzymanych w cytowanych pracach autora, należało wziąć pod uwagę możliwość udziału sercowej komponenty dodatniego działania adrenaliny w zjawisku hamowania efektów autohemolizatów. Materiał doświadczalny, przytoczony w tych pracach, nie wystarczał dla całkowitego wyłączenia poglądu głoszącego, że hamowanie efektów autohemolizatów przez adrenalinę, pozbawioną swego dodatniego działania na ciśnienie krwi, zależy od zachowanego jeszcze jej dodatniego działania na serce. Przypuszczenie takie jednak usprawiedliwione byłoby jedynie w przypadku istnienia silnego depresyjnego działania autohemolizatów na serce — działania głównie odpowiedzialnego za ich efekty hipotensyjne. Warunek powyższy wynika ze stopnia zahamowania efektów autohemolizatów przez adrenalinę, zazwyczaj bardzo wysokiego.

Jak widać z powyższego, można dokładniej ocenić rolę dodatniego działania adrenaliny na serce w zjawisku hamowania hipotensyjnych efektów autohemolizatów na podstawie zbadania charakteru działania tych ostatnich na serce. Praca niniejsza służy temu właśnie celowi.

W piśmiennictwie naukowym istnieją pewne dane, odnoszące się do działania zhemolizowanych krwinek czerwonych lub wyciągów z nich na serce. *Fleisch* i *Weger* stwierdzili, że większe dawki zhemolizowanych krwinek czerwonych ssaków (stężenie zhem. krwi — 1 : 30 — 1 : 50) powodują na świeżym sercu żaby (preparat Strauba) ujemną inotropię, po której zazwyczaj następuje zwiększenie się amplitudy skurczów serca oraz przyspieszenie jego czynności. O wiele bardziej wrażliwe na hemolizat jest hipodynamiczne (tzn. wyczerpane długą pracą w warunkach izolacji) serce żaby. Hipodynamiczne serce żaby reaguje na niewielkie już

* Część doświadczeń została przeprowadzona w Dziale Fizjopatologii Instytutu Hematologii w Warszawie. Dr *J. Dubrowskiemu* kierownikowi Działu Fizjopatologii I. H. — dziękuję za umożliwienie mi wykonania tych doświadczeń w jego pracowni.

dawki hemolizatu (stężenie zhem. krwi 1 : 50 — 1 : 2000) od razu przyspieszeniem czynności oraz zwiększeniem amplitudy skurczów. Przy zastosowaniu małych dawek hemolizatu nie pojawia się prawie zupełnie, w odróżnieniu od świeżego serca żabiego, faza hamulcowa poprzedzająca dodatni efekt ino- i chronotropowy. Poza tym hemolizat zastosowany w przypadkach nieregularnej czynności serca żabiego przywraca tę czynność do normy.

Wyniki podobne w zasadzie otrzymali *Knoll* i współprac., którzy stwierdzili, że wyciągi z krwinek czerwonych konia stosowane w koncentracji $2,5-5,0 \times 10^{-5}$ przywracają w obecności chininy do normy czynność izolowanego serca żaby, osłabioną przez dawkę 50—100 μg chininy. W podobnym stężeniu działają powyższe wyciągi na hipodynamiczny mięsień brodawkowy serca kota. Dawka 50—200 mg wyciągu z krwinek czerwonych konia wywiera w ciągu 1—2 godzin silny wpływ kardiotoniczny na preparat sercowo-płucny psa, czynnościowo niewydolny w wyniku zadziałania nań kwasem barbiturowym.

Jak wynika z badań *Fleischa* i *Wegera* oraz *Studera*, *Fleischa* i *Croisiera* czynnik działający w opisany wyżej sposób na izolowane serce żaby jest identyczny z czynnikiem wazodilatacyjnym i hipotensyjnym hemolizatu krwinek czerwonych. Pod względem chemicznym został on zidentyfikowany przez tych badaczy jako w głównej mierze kwas adenozynotrójfosforowy. Podobne poglądy reprezentują również *Binet* i *Burstein*, *Chambliss* i współprac. oraz *Deyrup* i *Walcott*, natomiast *Knoll* i współprac. na podstawie swych badań biologicznych i chemicznych twierdzą, że za kardiotoniczne działanie wyciągów z krwinek czerwonych nie są odpowiedzialne aminy sympatykomimetyczne, nukleotydy fosforowe oraz jony Ca. Zidentyfikowanie przez *Fleischa* i współprac. hipotensyjnego ciała czynnego krwinek czerwonych jako w głównej mierze kwasu adenozynotrójfosforowego nie przeczy jednak istnieniu w hemolizacie innych jeszcze ciał czynnych o nieco odmiennych właściwościach biologicznych i chemicznych, dających jednak takie same w zasadzie efekty ciśnieniowe i sercowe.

Jak widać z powyższego przeglądu piśmiennictwa w zakresie problemu działania zhemolizowanych krwinek czerwonych na czynność serca, istniejące w tej dziedzinie dane są nieliczne i ograniczają się albo do serca zwierzęcia zimnokrwistego, albo też do serca ssaka zmienionego przez działanie czynników chemicznych. Nie ma natomiast wśród nich danych odnoszących się do wpływu hemolizatu krwinek czerwonych na czynność świeżego izolowanego serca ssaka, w związku z czym przeprowadzenie w tym kierunku własnych badań staje się niezbędne dla wyjaśnienia sformułowanego powyżej zagadnienia udziału dodatniego działania adrenaliny na serce w hamowaniu hipotensyjnych efektów hemolizatów.

METODYKA

Podstawowa część doświadczeń przeprowadzona została na kotach, których serca świeżo po wyizolowaniu poddawane były perfuzji wg metody *Langendorffa*. Do perfuzji używano płynu *Ringer-Locke'a* nasyconego tlenem, odpowiednio ogrzanego. Hemolizat krwinek czerwonych przygotowywano z krwi tego samego kota, którego serce poddawano badaniu. Heparynizowaną krew kota poddawano wiro-

waniu przez 10 min. przy 1500 R. P. M. i następnie oddzielano krwinki od osocza. Usuwano przy tym górną warstwę odwirowanych krwinek, zawierającą krwinki białe. Pozostałą masę krwinkową płukano w fizjologicznym roztworze NaCl i powtórnie wirowano w ten sam sposób jak za pierwszym razem, usuwając znów górną warstwę odwirowanych krwinek. Praktycznie wolną od krwinek białych i płytek krwi masę krwinek czerwonych hemolizowano przez dodanie do niej wody destylowanej w stosunku: 4 części wody destylowanej na 1 część masy krwinkowej. Po oddzieleniu płynnej części hemolizatu od strąków doprowadzano go do izotonii dodając doń 1 część 4,5% roztworu NaCl. 1 ml przyrządzonego w ten sposób hemolizatu odpowiadał 1/6 ml krwinek czerwonych.

Hemolizat o temperaturze pokojowej wstrzykiwano bezpośrednio do kaniuli sercowej. Kontrolę stanowiło wstrzykiwanie analogicznych ilości płynu Ringer-Locke'a o tej samej temperaturze.

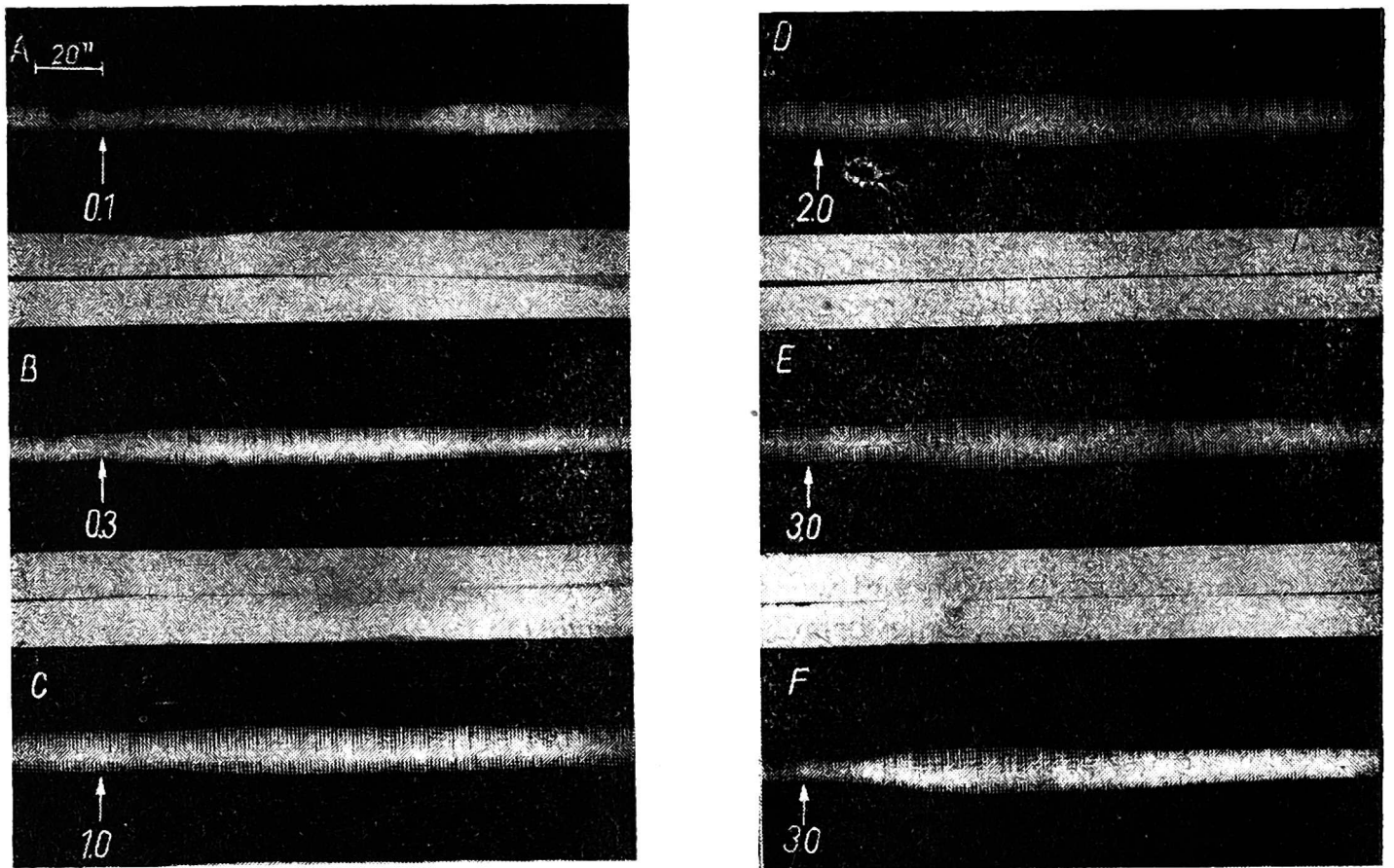
Drugą część doświadczeń przeprowadzano na świeżych i hipodynamicznych izolowanych sercach żaby w okresie letnim. Serca żabie przygotowywane były wg metody Strauba. Do perfuzji używano płynu Ringera dla zimnokrwistych. Hemolizat krwinek czerwonych przygotowywano z krwi kociej w taki sam sposób, jak to robiono w doświadczeniach z izolowanym sercem kota. Krwinki czerwone hemolizowano przez dodanie wody destylowanej w stosunku: 7 części wody destylowanej na 1 część masy krwinkowej i następnie hemolizat doprowadzano do izotonii przez dodanie 1 części 4,5% roztworu NaCl. 1 ml przyrządzonego w ten sposób hemolizatu odpowiadał 1/9 ml krwinek czerwonych. Hemolizat o temp. pokojowej wstrzykiwano bezpośrednio do kaniuli sercowej. Dla kontroli wstrzykiwano analogiczne ilości płynu Ringera dla zimnokrwistych o tejże temperaturze.

WYNIKI

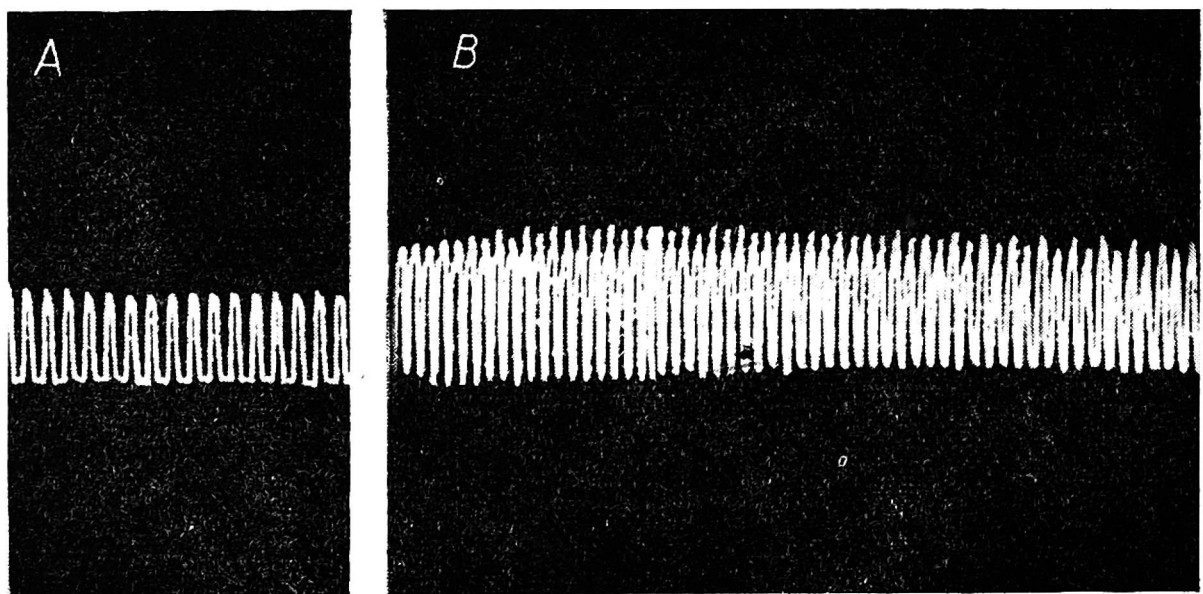
Doświadczenia ze świeżym izolowanym wg *Langendorffa* sercem kocim (33 testy na 4 sercach) wykazały, że wstrzyknięcie hemolizatu w dawkach 0,1—10 ml do kaniuli sercowej wywołuje zawsze dodatni efekt inotropowy. Wrażliwość poszczególnych serc na wstrzykiwany do płynu perfuzyjnego hemolizat różniła się, na jednym i tym samym sercu jednak utrzymywała się w przybliżeniu na stałym poziomie przez cały czas trwania doświadczenia. We wszystkich doświadczeniach wyraźnie ujawniała się zależność wielkości dodatniego efektu inotropowego od wielkości dawki. Efekt ten był tym większy, im większa dawka hemolizatu była wstrzyknięta do kaniuli sercowej (ryc. 1). Godny podkreślenia jest fakt, że przy tak dużych dawkach hemolizatu jak 5—10 ml miał miejsce ciągle jeszcze wyraźny dodatni efekt inotropowy, proporcjonalnie większy od efektów wywoływanych przez dawki mniejsze, nie stwierdzano natomiast objawów porażenia serca.

O ile dodatni efekt inotropowy był stałym i wyraźnie zaznaczonym zjawiskiem towarzyszącym wstrzykiwaniu hemolizatu do płynu perfuzyjnego, o tyle zmiany w zakresie częstotliwości skurczów serca były przeważnie niestałe i zaznaczone słabiej, występując dopiero w przypadkach stosowania dużych dawek hemolizatu, choć i wtedy zresztą nie występowały na wszystkich sercach. W części doświadczeń stwierdzono mianowicie dodatni chronotropowy efekt hemolizatu na izolowanym sercu kota przy dawkach hemolizatu wynoszących 5 ml. Przy początkowej częstotliwości skurczów wyrażającej się liczbą 10 skurczów na 10 sek. wstrzyknięcie do kaniuli sercowej 5 ml hemolizatu wywoływało wzrost

częstotliwości o 4 skurcze na 10 sek. (ryc. 2). W pozostałych doświadczeniach dawki hemolizatu, wynoszące 0,1—10 ml, nie wpływały w bardziej wyraźny sposób na częstotliwość skurczów serca.



Ryc. 1. A, B, C, D, E, F. Dodatni efekt inotropowy na izolowanym sercu kocim po wstrzyknięciu do kaniuli hemolizatu krwinek czerwonych kota w dawkach 0,1-3 ml (1 ml hemolizatu — 1/6 ml krwinek czerwonych). Strzałkami zaznaczono początek wstrzykiwania hemolizatu. Liczby przy strzałkach oznaczają dawki hemolizatu w ml.

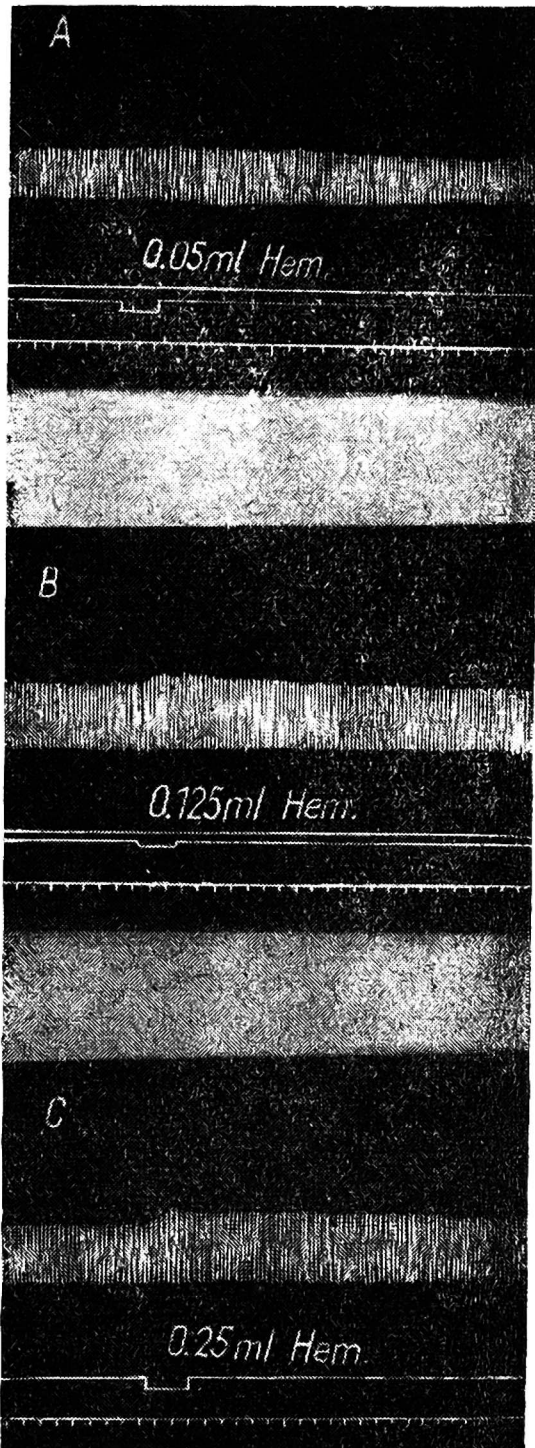


Ryc. 2. Dodatni efekt chronotropowy na izolowanym sercu kota. A — wykres czynności serca przed podaniem hemolizatu; B — wykres czynności serca po wstrzyknięciu do kaniuli sercowej 5 ml hemolizatu krwinek czerwonych (1 ml hemolizatu — 1/6 krwinek czerwonych).

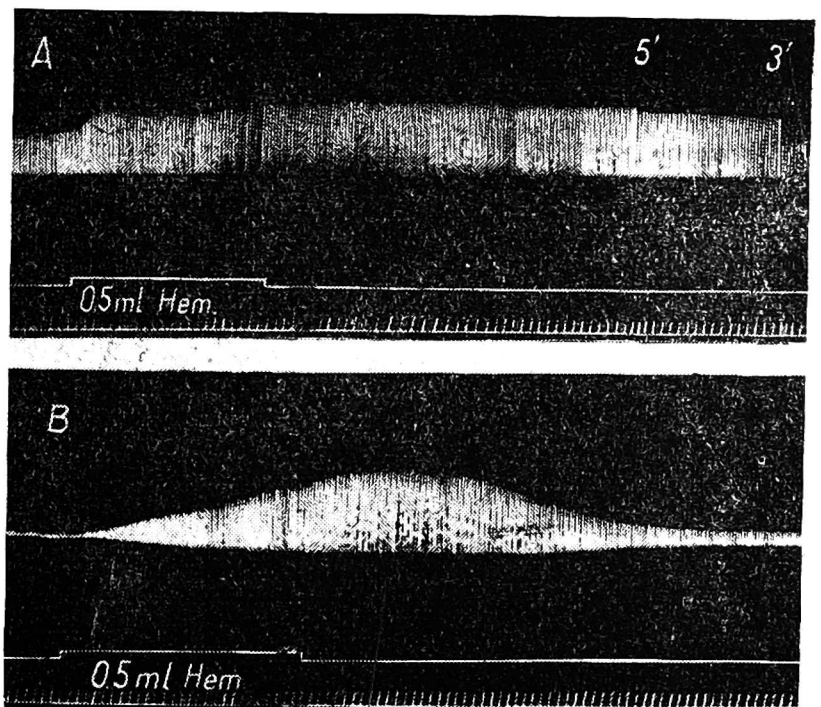
Testy kontrolne, polegające na wprowadzaniu do kaniuli sercowej płynu Ringer-Locke'a w ilościach odpowiadających stosowanym dawkom hemolizatu, pozwoliły na wykluczenie mechanicznych i innych czynników,

związanych z samą procedurą wstrzykiwania do kaniuli sercowej, jako mogących grać rolę w wywoływaniu dodatnich efektów inotropowych, występujących przy wstrzykiwaniu hemolizatów.

W drugiej części doświadczeń badano wpływ hemolizatów krwinek czerwonych kota na czynność świeżego i hipodynamicznego serca żaby izolowanego wg metody *Strauba*. W 36 testach przeprowadzonych na 5 sercach żabich stwierdzono, że wstrzyknięcie do kaniuli sercowej hemolizatu w dawkach 0,05—1 ml wywołuje w każdym przypadku wyraźny dodatni efekt inotropowy, co do wielkości w przybliżeniu proporcjonalny w stosunku do dawki hemolizatu (ryc. 3). Wzrost amplitudy skurczów serca żaby nie był poprzedzany w niniejszych doświadczeniach jakkolwiek wyraźniejszą fazą hamulcową. W niektórych jedynie przypadkach była ta faza zauważalna, choć i wtedy była ledwie widoczna. Tak jak w doświadczeniach z izolowanym sercem kota, tak i w doświadczeniach z sercem żaby zaobserwowano indywidualne różnice w zakresie wrażliwości serc na hemolizat. Wrażliwość ta w miarę upływu czasu pracy serca i w miarę rozwijania się stanu hipodynamii wybitnie wzrastała (ryc. 4).



Ryc. 3. A, B, C. Dodatni efekt inotropowy na izolowanym sercu żaby po wstrzyknięciu do kaniuli sercowej hemolizatu krwinek czerwonych kota w dawkach: 0,05—0,25 ml (1 ml hemolizatu — 1/9 ml krwinek czerwonych). Na zdjęciach od góry ku dołowi: 1) wykres czynności serca; 2) sygnał Depreza; 3) czas (1 działka — 1 sek.)



Ryc. 4. Wzrost wrażliwości izolowanego serca żaby na hemolizat krwinek czerwonych kota w wyniku rozwoju stanu hipodynamii. A — działanie 0,5 ml hemolizatu (1 ml hemolizatu — 1/9 krwinek czerwonych) na świeże serce żaby; B — działanie 0,5 ml hemolizatu na to samo serce żaby, znajdujące się w stanie hipodynamii. Na zdjęciach od góry ku dołowi: 1) wykres czynności serca; 2) sygnał Depreza; 3) czas (1 działka — 1 sek.)

W większości przypadków nie stwierdzono zauważalnych zmian częstotliwości czynności serca w związku z wstrzykiwaniem hemolizatów do kaniuli sercowej. W jednym tylko sercu i to jedynie na samym początku pracy z nim, dawki hemolizatu, wynoszące 0,1—1 ml, wywoływały ujemny efekt chronotropowy. Nieco później takie same dawki pozostawały bez wpływu na częstotliwość pracy serca.

Kontrolne wprowadzanie płynu *Ringera* dla zimnokrwistych do kaniuli sercowej w dawkach analogicznych w stosunku do stosowanych dawek hemolizatu nie dawało żadnych dodatnich efektów inotropowych i pozostawało bez wpływu na częstotliwość pracy serca.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Z przedstawionych w niniejszej pracy doświadczeń wynika, że hemolizat krwinek czerwonych kota wywołuje dodatni efekt inotropowy na świeżym sercu izolowanym kota oraz na świeżym i hipodynamicznym sercu żaby. Dodatni efekt inotropowy, występujący po wstrzyknięciu hemolizatu do kaniuli sercowej jest zjawiskiem stałym i bardzo wyraźnie zaznaczonym. Pod tym względem izolowane serca kota i żaby reagują w jednakowy sposób na ciała czy też ciała czynne zawarte w hemolizacie krwinek czerwonych. Działanie natomiast hemolizatu na częstotliwość skurczów serca występuje jedynie w części doświadczeń i jest zaznaczone przeważnie słabo. W niektórych doświadczeniach z izolowanym sercem kota spostrzegano dodatni chronotropowy efekt hemolizatu, towarzyszący dodatniemu efektowi inotropowemu. W doświadczeniach przeprowadzonych na sercu żaby nie stwierdzono występowania pod wpływem hemolizatu dodatniego efektu chronotropowego, zaobserwowano natomiast na jednym sercu efekt chronotropowy ujemny, który występował na samym początku doświadczenia a później całkowicie zniknął.

Jak wynika z powyższego, wyniki doświadczeń autora, przeprowadzonych na izolowanym sercu żaby, zasadniczo zgodne są z wynikami *Fleischa* i *Wegera*. Różnica między nimi polegałaby na tym, że w niniejszych badaniach nie stwierdzano wyraźniejszej fazy ujemnej, która w doświadczeniach *Fleischa* i *Wegera* poprzedzała fazę dodatniego efektu inotropowego oraz że nie zauważono dodatniego chronotropowego działania hemolizatu.

Należy zastanowić się pokrótce nad faktem niestałości chronotropowego działania hemolizatów krwinek czerwonych, występującej w doświadczeniach autora. Być może, działanie to związane jest z różnymi dodatkowymi substancjami, występującymi w krwinkach czerwonych w zmiennej ilości i nie stale. Fakt istnienia w hemolizacie co najmniej dwóch ciał czynnych został podkreślony już w pracy *Fleischa* i *Wegera*, którzy badali farmakologicznie właściwości frakcji hemolizatu. Nie można również wyłączyć indywidualnych cech poszczególnych serc w zakresie reaktywności w stosunku do hemolizatu jako przyczyny opisanego niestałości chronotropowych efektów hemolizatów.

Z przedstawionych badań wynika, że udział sercowej komponenty działania hemolizatów krwinek czerwonych kota w wywoływaniu spadków ciśnienia tętniczego krwi jest przy małych dawkach hemolizatów przynajmniej mało prawdopodobny. Hemolizaty krwinek czerwonych wywołują na izolowanym sercu ssaka — tak jak i na sercu zwierzęcia zimnokrwistego

stego — dodatni efekt inotropowy, a więc efekt przeciwstawny depresyjnemu działaniu na serce, mogącemu stanowić przyczynę spadku ciśnienia tętniczego krwi. Teoretycznie, co prawda, istnieje możliwość nieco odmiennego działania hemolizatu na serce *in situ*. Mogą wtedy wchodzić w grę rozmaite reakcje odruchowe, wywoływane przez hemolizat. Jest to jednak mało prawdopodobne dla niewielkich dawek hemolizatów.

Wyniki powyższych badań czynią więc jeszcze mniej uzasadnione przypuszczenie, że dodatnie działanie adrenaliny na serce bierze jakikolwiek poważniejszy udział w hamowaniu hipotensyjnych efektów hemolizatów. Stwierdzonym w poprzednich pracach autora.

WNIOSKI

1. Wstrzyknięcie do kaniuli sercowej hemolizatu krwinek czerwonych kota w dawkach 0,1—10 ml wywołuje na izolowanym wg metody Langendorffa sercu kocim wyraźny dodatni efekt inotropowy.

2. Większe dawki hemolizatu wywołują jednocześnie w części doświadczeń również i dodatni efekt chronotropowy, który jest jednak przeważnie słabiej zaznaczony.

3. Wstrzyknięcie do kaniuli sercowej hemolizatu krwinek czerwonych kota w dawkach 0,05—1 ml wywołuje na izolowanym wg metody Strauba sercu żaby wyraźny dodatni efekt inotropowy, nasilający się w miarę rozwijania się w sercu stanu hipodynamii.

Е. Литвин

ВЛИЯНИЕ ГЕМОЛИЗИРОВАННЫХ ЭРИТРОЦИТОВ НА ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА

С о д е р ж а н и е

Приводимые здесь исследования производились на свежих сердцах кошек, изолированных по методу Лянгендорфа, а также на свежих и гиподинамических сердцах лягушек, приготовленных по методу Штрауба. Гемолizat эритроцитов изготовлялся из кошачьей крови. Эритроциты гемолизировались путем прибавления дистиллированной воды, а затем гемолizat приводился к изотонии. 1 мл применявшегося автором гемолизата отвечал при исследованиях на кошачьих сердцах 1/6 мл эритроцитов, в исследованиях же на лягушечьих сердцах 1/9 мл эритроцитов.

Исследования автора показали, что впрыскивание гемолизата в дозах 0,1—10 мл в сердечную канюлю вызывает в изолированном сердце кошки ясный положительный инотропный эффект. Более крупные дозы гемолизата оказывают на сердце кошки в части опытов незначительный положительный хронотропный эффект.

Дозы гемолизата 0,05—1 мл, впрыскнутые в сердечную канюлю, вызывают также на изолированном по методу Штрауба сердце лягушки ясный положительный инотропный эффект. Положительное инотропное действие гемолизата становится все резче по мере развития в сердце состояния гиподинамии.

В свете выше изложенных исследований становится мало правдоподобным предположение, что гипотензионные эффекты гемолизатов зависят от депрессорного действия этих веществ на сердце.

J. Litwin

INFLUENCE OF HEMOLYZED ERYTHROCYTES ON THE FUNCTION OF THE ISOLATED HEART

Summary

These investigations were conducted on the fresh hearts of cats, isolated according to Langendorff's method and on the fresh and hypodynamic hearts of frogs, prepared according to Straub's method. The hemolyzate of erythrocytes was prepared from the blood of cats. The erythrocytes were hemolyzed by adding the distilled water; then the hemolyzates were brought to isotonia. 1 ml of hemolyzate used by the author corresponded in the research on the hearts of cats to 1/6 ml of erythrocytes, and in the research on the hearts of frogs — to 1/9 ml of erythrocytes.

The author's investigations showed that the injection of hemolyzate in the doses of 0,1 to 10 ml to the heart's canule has a distinct inotropic effect on the isolated heart of the cat. Bigger doses of hemolyzate exert an inconsiderable chronotropic effect in a part of the experiments on the heart of the cat.

The doses of hemolyzate, amounting to 0,05—1 ml, injected to the heart's canule, have also a distinct positive inotropic effect on the heart of the frog isolated according to the Straub's method. A positive inotropic action of the hemolyzate becomes ever more distinct with the development in the heart of the state of hypodynamia.

In the light of the above research the assumption that the hypotensive effect of the hemolyzates depends on the depressive influence of those substances on the heart — becomes little probable.

PIŚMIENICTWO

1. Binet L., Burstein M.: C. R. Soc. Biol., 1950, 144, 1335. — 2. Binet L., Burstein M.: J. de Physiol., 1951, 43, 649. — 3. Chambliss I. R., Demming J., Wells K., Cline W. W., Eckstein R. W.: Am. J. Physiol., 1950, 163, 545. — 4. Deyrup I. J., Walcott W. W.: Am. J. Physiol., 1950, 160, 509. — 5. Fleisch A., Weger P.: Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiol., 1938, 239, 476. — 6. Knoll J., Tardos L., Komlos E., Kelemen K.: Acta Physiol. Acad. Scientiarum Hung., 1954, 5, (supl.) 61. — 7. Litwin J.: Bull. de l'Acad. Polonaise des Sciences Cl. II, 1954, 2, 117. — 8. Litwin J.: Acta Physiol. Polonica: 1954, 5, 279. — 9. Litwin J.: Acta Physiol. Polonica 1955, 2. — 10. Studer A., Fleisch A., Croisier M.: Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiol., 1938, 241, 78.

Otrzymano: 21. XII. 1954.