

Zakład Fizjologii Człowieka. Instytut Patologii Klinicznej. Wydział Lekarski. Akademia
Medyczna w Lublinie

Kierownik: prof. dr Wiesław Hołobut

Stanisław Zbigniew ŁOZOWSKI

Porównanie pobudliwości skurczowej śledziony królika, szczura i świnki morskiej na substancje sympatykomimetyczne

Сравнение сократительной возбудимости селезенки кролика, крысы
и морской свинки на симпатикомиметические вещества

The Comparison of the Contractive Reactivity of the Isolated Spleen of a Rabbit,
Rat and Guinea Pig to Sympathicomimetic Substances

Badania nad czynnością skurczową śledziony wykazały, że istnieje gatunkowe i osobnicze zróżnicowanie pobudliwości tego narządu na środki pobudzające. Małą wrażliwość na adrenalinę i noradrenalinę wykazuje śledziona człowieka, podczas gdy śledziona królika (12) jest bardzo wrażliwa na hormony sympatykomimetyczne. Na działanie izoproterenolu śledziona królika reaguje skurczem (12) natomiast nie obserwowano zmian wielkości ze strony śledziony u człowieka (1), psa (14) i rekina (15). Wyraźnie mniejszą pobudliwość pod względem acetylocholiny wykazuje śledziona psa (5) i królika (12) w porównaniu ze śledzioną kota (4). Na działanie angiotenzyny śledziona kota reaguje skurczem (8, 17), natomiast śledziona ludzka pozostaje bez zmian (1). Istnieją również wyraźne różnice w pobudliwości na środki pobudzające ze strony śledziony w obrębie jednego gatunku. Większą wrażliwość na adrenalinę aniżeli na noradrenalinę wykazuje śledziona psa (7, 16) i królika (12). We własnych badaniach stwierdzono duże różnice w reaktywności śledziony królika na adrenalinę i izoproterenol. zupełny brak pobudliwości na alupent, a także niewielkie różnice w pobudliwości na histaminę, acetylocholinę i serotoninę (13).

Celem obecnej pracy jest zbadanie i porównanie pobudliwości skurczowej śledziony królika, szczura i świnki morskiej na adrenalinę, noradrenalinę, izoproterenol i alupent. Do badań zastosowano metodykę podaną przez Benella i wsp. (1964), pozwalającą rejestrować skurcze całej izolowanej śledziony *in vitro*.

METODYKA BADAŃ

Doświadczenia przeprowadzono na śledzionie królików, szczurów i świnek morskich *in vitro* metodą typową dla narządów izolowanych. Śledzionę odciętą w całości

ważono, mierzono jej długość i umieszczano w naczyniu zawierającym 50 ml roztworu Krebsa w temperaturze 37°C, który był nasycony tlenem z dodatkiem CO₂. Zmiany długości śledziony rejestrowano przy pomocy miografu izotonicznego, którego stosunek ramion dawał 10-krotne powiększenie. Ramię piszące dźwigni obciążano odważnikiem 2-gramowym. Pod jego wpływem następowało powolne wydłużenie śledziony w osi zawieszenia. Czas potrzebny na osiągnięcie ostatecznej długości był najdłuższy w przypadku śledziony królika i wynosił średnio 1,5 godziny. Okres ten przyjęto za początek doświadczeń dla wszystkich śledzion, chociaż dla szczura i świnki morskiej był w równej mierze krótszy i wynosił około 60 minut.

Pobudliwość śledzion badano na następujące substancje sympatykomimetyczne: adrenalinę i noradrenalinę „Polfa”, izoproterenol „Winthrop” i alupent „Boehringer”. Substancje te podawano w roztworze o identycznym składzie z roztworem kąpieli w objętości nie przekraczającej 0,5 ml.

W toku doświadczeń ustalano dawkę substancji, która wywoływała skurcz śledziony wielkości 5 mm, niezależnie od czasu osiągnięcia jego szczytu. Taką ilość substancji w mikrogramach przeliczano na jeden gram ciężaru i jeden cm długości badanej śledziony. W ten sposób wyliczone dawki progowe służyły do porównywania zarówno pobudliwości gatunkowej, jak i osobniczej na stosowane substancje. Istotność różnic wyliczano na podstawie testu t-Studenta.

WYNIKI BADAŃ

Wyniki badań pobudliwości izolowanej śledziony królika, szczura i świnki morskiej na adrenalinę (A), noradrenalinę (NA), izoproterenol (IZO) i alupent (AT) przedstawia tab. 1, na której wykazano liczbę doświadczeń, średni iloczyn ciężaru i długości śledzion oraz średnie wartości dawek progowych wraz z odchyleniem standardowym. Doświadczenia przeprowadzono na 10 śledzionach każdego gatunku zwierzęcia. Iloczyn ciężaru i długości śledziony wynosił średnio dla królika 17,1, szczura — 5,2 i świnki morskiej 4,4. Poza tymi różnicami w wielkości, śledziona królika była bardziej elastyczna, podczas gdy pozostałe wykazywały dużą twardość i kruchość.

Badania wykazały, że izolowana śledziona królika, szczura i świnki reagowały skurczem na adrenalinę i noradrenalinę, śledziona królika kurczyła się również pod wpływem izoproterenu oraz żadna śledziona badanych gatunków zwierząt nie wykazywała zmian wielkości pod wpływem alupentu nawet w największych ze stosowanych dawek (50 µg/50 ml).

Z porównania dawek progowych adrenaliny i noradrenaliny dla śledziony królika, szczura i świnki morskiej widać, że istnieje duże zróżnicowanie gatunkowe pobudliwości skurczowej tego narządu na obie aminy katecholowe. Największą reaktywność wykazała śledziona królika, wyraźnie mniejszą — szczura, a najmniejszą — świnki morskiej. Dawka progu tych substancji była 50 razy większa dla śledziony szczura i 75 razy dla świnki. Różnice te są znamienne statystycznie między dawkami dla królika i szczura ($P < 0,01$), a nieistotne między dawkami dla szczura i świnki morskiej ($P > 0,05$). Również duże różnice w zachowaniu się ba-

Tab. 1. Pobudliwość skurczowa śledziony królika, szczura i świnki morskiej na adrenalinę (A), noradrenalinę (NA), izoproterenol (IZO) i alupent (AT).
The contractive reactivity of the isolated spleen of rabbit, rat and guinea pig upon adrenaline (A), noradrenaline (NA), isoproterenol (IZO) and alupent (AT).

Gatunek zwierzęcia	n	g × cm	Substancje w dawkach dobowych = $\frac{\mu\text{g}^*}{\text{g} \times \text{cm}}$			
			A	NA	IZO	AT
			$\bar{x} \pm \sigma$	$\bar{x} \pm \sigma$	$\bar{x} \pm \sigma$	$\bar{x} \pm \sigma$
Królik	10	17,1	0,020 ± 0,005	0,025 ± 0,005	10,000 ± 3,000	—
Szczur	10	5,2	1,000 ± 0,200	1,000 ± 0,2000	—	—
Świnka morska	10	4,4	1,500 ± 0,400	1,500 ± 0,400	—	—

n — ilość doświadczeń, g × cm — iloczyn ciężaru i długości śledziony, $\bar{x} \pm \sigma$ — średnia arytmetyczna z odchyleniem standardowym, * — wyliczane na 50 ml roztworu Krebsa.

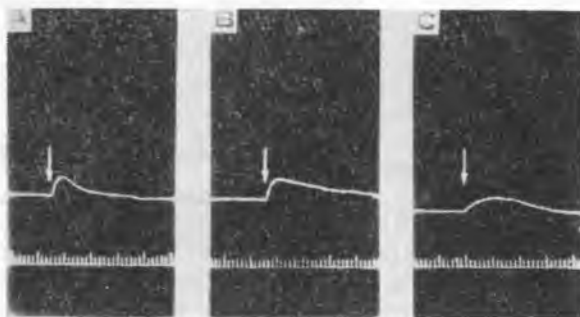
n — number of experiments, g × cm — mean values of weight and length product, $\bar{x} \pm \sigma$ — arithmetic means with standard deviation, * — counted for 50 ml of Krebs solution.

danych śledzion stwierdzono względem izoproterenolu, który wywoływał efekt skurczowy tylko w śledzionie królika, a pozostawał nieaktywny w stosunku do śledziony szczura i świnki morskiej. Wszystkie śledziony okazały się zupełnie areaktywne na działanie alupentu.

Pobudliwość skurczowa śledziony na stosowane substancje nie była jednakowa w grupie zwierząt tego samego gatunku, chociaż pod względem farmakologicznym należą one do jednej grupy związków sympatykomimetycznych. Największe różnicowanie pobudliwości na te substancje stwierdzono ze strony śledziony królika. Największą wrażliwość okazała ona na adrenalinę. Badania pozwoliły wykryć reakcję minimalną tego narządu na adrenalinę przy stężeniu niższym niż 0,04 $\mu\text{g}\%$. Odpowiednie stężenie noradrenaliny było nieznacznie większe i wynosiło 0,05 $\mu\text{g}\%$. Wrażliwość śledziony tego zwierzęcia na izoproterenol była bardzo mała i jej dawka progowa w porównaniu z adrenaliną była 500 razy większa. Wartość pobudliwości śledziony królika na te trzy substancje, wywołujące jej skurcz, wyrażone procentami pobudliwości w stosunku do adrenaliny przedstawiają się następująco: adrenalina — 100%, noradrenalina 75%, izoproterenol — 0,2%.

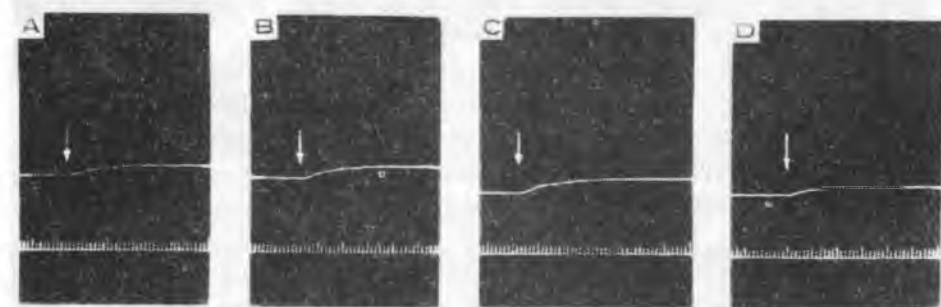
Nie stwierdzono różnic w pobudliwości na adrenalinę i noradrenalinę ani ze strony śledziony szczura, ani świnki morskiej. Aktywność tych dwu hormonów adrenergicznych w stosunku do tych śledzion była jednakowa. Przedstawione na ryc. 1 i 2 kimogramy ilustrują na przykła-

dzie jednego doświadczenia charakter reakcji skurczowej badanych śledzion na substancje wykazujące działanie pobudzające. Widoczne na kymogramach skurcze były wywołane dawkami progowymi nieznacznie przekraczającymi wartości progowe.



Ryc. 1. Zapisy miograficzne skurczów śledziony królika *in vitro*. Kimogramy: A — 0,4 µg A, B — 0,4 µg NA, C — 200 µg IZO. Wszystkie dawki były wyliczone na 50 ml roztworu Krebsa. Strzałki — moment podania substancji. Długość strzałki — 2 cm, czas — co 10 sekund

The miogram tracings of the rabbit spleen contractions *in vitro*. Kymograms: A — 0,4 µg A, B — 0,4 µg NA, C — 200 µg IZO. All doses were counted for 50 ml of Krebs solution. Arrows — administration of drugs. Length of arrow — 2 cm, time marker — every ten seconds



Ryc. 2. Zapisy miograficzne skurczów śledziony szczura (A, B) i świnki morskiej (C, D) *in vitro*. Kimogramy: A — 1,100 µg A, B — 1,100 µg NA, C — 1,700 µg A, D — 1,700 µg NA. Objasnienia jak na ryc. 1

The miogram tracings of the rat (A, B) and guinea pig (C, D) spleen contractions *in vitro*. Kymograms: A — 1,100 µg A, B — 1,100 µg NA, C — 1,700 µg A, D — 1,700 µg NA. For explanation see Fig. 1

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wszystkie badane śledziony okazały się pobudliwe na adrenalinę i noradrenalinę, tylko śledzioną królika na izoproterenol, a żadna na alupent.

Skurcz izolowanej śledziony królika, szczura i świnki morskiej wywołany działaniem A i NA jest zgodny z reakcją obserwowaną przez innych autorów na śledzionach psa (7, 14, 16, 19), kota (11, 18) i rekina (15). Śledziona królika wykazała większą, chociaż nie istotną statystycznie, pobudliwość skurczową na A aniżeli na NA. Podobną różnicę w działaniu tych dwu amin katecholowych otrzymali Ottis, Davies i Green (1957) oraz Davies, Gamble i Withrington (1973) na śledzionie psa. Niejednakową aktywność przejawiają te neurohormony adrenergiczne również względem innych narządów i układów (9). Śledziona szczura i świnki morskiej były pobudliwe w jednakowym stopniu na A i NA. Również Opdyke i Opdyke (1971) nie obserwowali różnicy w działaniu tych hormonów na śledzionę rekina.

Badania wykazały duże zróżnicowanie pobudliwości badanych śledzion zarówno na A, jak i na NA: duża wrażliwość śledziony królika oraz mała szczura i świnki morskiej. Należałoby również spodziewać się, że śledziona tych zwierząt spełniają niejednakowe funkcje hemodynamiczne. Zależność tę widać wyraźnie w czynności śledziony ludzkiej, która jest mało wrażliwa na hormony sympatykomimetyczne oraz odgrywa bardzo małą rolę hemodynamiczną. Funkcja ta polega na magazynowaniu krwi przez śledzionę i na włączaniu jej w większych lub mniejszych ilościach do krążenia w czasie jej skurczu.

Skurcz śledziony pod wpływem A i NA zachodzi w wyniku działania tych regulatorów neurowegetatywnych na mięśniowe elementy kurczliwe znajdujące się w torebce (6, 7). Stwierdzono, że mięśnie gładkie torebki są bardzo wrażliwe na pobudzenie sympatykomimetyczne (3, 7). Mechanizm działania skurczowego A i NA na śledzionę polega na pobudzeniu alfa adrenergicznych receptorów (15).

Brak reakcji ze strony śledziony szczura i świnki na podanie IZO jest zgodny z zachowaniem się śledziony człowieka (1), psa (14) i rekina (15) na działanie tego beta-adrenergicznego hormonu. Fakt, że tylko śledziona królika reagowała na IZO świadczy o gatunkowej wrażliwości tego zwierzęcia na tę substancję, jednak w porównaniu z adrenaliną, pobudliwość ta była bardzo mała. Jakkolwiek pobudzające działanie IZO na mięśnie gładkie jest rzadko spostrzegane, to jednak efekt taki stwierdzili Kaiser i wsp. (1964) na naczyniach krwionośnych żylnych, określając go jako „niezwykły”. Dawka progowa IZO pobudzająca śledzionę królika do skurczu była bardzo duża. Znana jest właściwość farmakologiczna IZO, że właśnie w dużych dawkach wykazuje, poza typowym działaniem rozkurczowym, związanym z receptorami beta-adrenergicznymi, również działanie pobudzające, zachodzące za pośrednictwem receptorów alfa-adrenergicznych.

Alupent nie wykazał działania na czynność ruchową śledziony żadne-

go badanego zwierzęcia nawet przy użyciu 10-krotnie większych dawek niż IZO (50 $\mu\text{g}/50\text{ ml}$). W budowie chemicznej AT mało różni się od IZO i pod względem farmakologicznym jest zaliczany, podobnie jak IZO, do substancji beta-adrenergicznych, jednak działanie alupentu w tym względzie jest silniejsze i bardziej specyficzne. Alupent wykazuje na mięśnie gładkie wyłącznie działanie rozkurczowe (11) i dlatego jego wpływ na czynność ruchową badanych śledzion nie ujawnił się w postaci skurczu.

Skurcz śledzion badanych zwierząt pod wpływem A i NA i brak jego pod wpływem AT potwierdzałby pogląd, że zachodzi on w wyniku pobudzenia receptorów alfa-adrenergicznych, których obecność potwierdzono w śledzionach niektórych zwierząt, a przede wszystkim w mięśniach gładkich torebki (15). Należy przypuszczać, że skurcz śledziony królika wywołany przez IZO zachodził również na drodze pobudzenia alfa-adrenergicznych receptorów.

WNIOSKI

1. Badano pobudliwość skurczową izolowanej śledziony królika, szczura i świnki morskiej na adrenalinę, noradrenalinę, izoproterenol i alupent. Wszystkie śledziony kurczyły się pod wpływem A i NA, tylko śledzioną królika pod wpływem IZO i żadna śledzioną pod wpływem AT.

2. Największą pobudliwość na A i NA wykazała śledzioną królika, mniejszą — szczura, a najmniejszą — świnki morskiej. Śledzioną królika najsilniej reagowała na A (100%), słabiej na NA (75%), bardzo słabo na IZO (0,2%).

3. Aktywność skurczowa A i NA względem śledziony szczura i świnki morskiej była jednakowa.

PIŚMIENNICTWO

1. Ayers A. B., Davies N. B., Withrington P. G.: *Brit. J. Pharmacol.* **14**, 17—30, 1972.
2. Benelli G., Della Bella D., Gandini A.: *Brit. J. Pharmacol.* **22**, 211—219, 1964.
3. Blakely A. G. Hm.: *Proc. Roy. Soc.* **171 B**, 201—211, 1968.
4. Brandon K. W., Rand M. J.: *J. Physiol.* **157**, 18—32, 1961.
5. Daly M. de B., Scott M. J.: *J. Physiol.* **156**, 246—259, 1961.
6. Davies N. B., Withrington P. G.: *Brit. J. Pharmacol.* **41**, 1—7, 1971.
7. Davies N. B., Ganble J., Withrington P. G.: *J. Physiol.* **228**, 13—25, 1973.
8. Herting G., Suko J.: *Brit. J. Pharmacol.* **26**, 686—696, 1966.
9. Hołobut W.: *Acta Physiol. Polon.* **15**, 33—46, 1964.
10. Kaizer A. G., Ross J., Braunwald E.: *J. Pharmac. Exp. Therap.* **144**, 156—166, 1964.
11. Knopp A.: *Acta Chir. Scand.* **137**, 291—300, 1971.

12. Łozowski S. Z.: Streszczenia Komunikatów XII Zjazdu P.T.F. Olsztyn 1972.
13. Łozowski S. Z.: Acta Physiol. Polon. (w druku).
14. Opdyke D. F.: Am. J. Physiol. **219**, 102—106, 1970.
15. Opdyke D. F., Opdyke N. F.: Am. J. Physiol. **221**, 623—625, 1971.
16. Ottis K., Davis J. E., Green H. D.: Am. J. Physiol. **189**, 599—604, 1957.
17. Thoenen H., Hürlimann A., Haefely W.: Med. et Pharmacol. Exptl. **13**, 379—387, 1965.
18. Toghill P. J., Prichard B. N. C.: Clin. Sci. **26**, 203—212, 1964.
19. Ulf L.: Acta Chir. Scand. **137**, 291—297, 1971.

Otrzymano 9 VII 1973.

РЕЗЮМЕ

Автор исследовал сократительную возбудимость изолированной селезенки кролика, крысы и морской свинки на адреналин, норадреналин, изопротеренол и илюпент. опыты проводились методом, типичным для изолированных органов. Раствор Кребса, являющийся питательной жидкостью, насыщался кислородом с добавлением CO_2 . Сокращения регистрировались при помощи изотонического миографа. Температура водной бани равнялась 37°C . Возбудимость определялась на основе пороговой дозы вещества, вызывающей пятимиллиметровое сокращение, которое вычислялось на 1 грамм веса и 1 см длины органа, а также на 50 см^3 раствора Кребса. Произведение веса и длины селезенки кролика равнялось 17,1, крысы 5,2 и морской свинки 4,4.

В результате исследований установлено, что селезенки изучаемых животных сокращались под влиянием адреналина и норадреналина, а под влиянием изопротеренола сокращалась только селезенка кролика. Алюпент вообще не вызывал у исследованных животных сокращений селезенки. На основе пороговой дозы констатируется, что самую большую возбудимость на адреналин и норадреналин проявляет селезенка кролика, меньшую — крысы, а самую небольшую — свинки. Наиболее интенсивно реагировала селезенка кролика на адреналин (100%), слабее — на норадреналин (75%) и очень слабо на изопротеренол (0,2%). Сократительная активность адреналина и норадреналина у селезенки крысы и морской свинки была одинаковая.

SUMMARY

The contractive reactivity of the isolated spleen of a rabbit, rat and guinea pig to adrenaline, noradrenaline, isoproterenol and alupent was studied. The experiments were performed *in vitro* with a typical method for the isolated organs. Krebs solution used as the nutrient fluid, was saturated with oxygen with addition of 5% carbon dioxide. The bath

temperature was 37°C. The contractions were registered by means of an isotonic miograph. The reactivity was determined on the base of the treshhold dose, evoking 5 mm contraction, calculated for 1 gram solution. The product of weight and length for rabbit spleen was 17,1, for rat spleen — 5,2 and for guinea pig — 4,4.

It was found that the spleens of the examined animals responded *in vitro* with contraction to adrenaline and noradrenaline but only the rabbit spleen contracted under influence of isoproterenol. Alupent evoked no contraction response of the spleens of the studied animals. The comparison of the threshold doses indicates that the reactivity to adrenaline and noradrenaline was greatest in rabbit spleen, less in the rat spleen and least in the guinea pig spleen. The reactivity of the rabbit spleen was the greatest to adrenaline (100%), smaller to noradrenaline (75%) and barely visible to isoproterenol (0,2%). There was no difference in the contractive activity between adrenaline and noradrenaline with regard to rat and guinea pig spleens.