

Krystyna Herbaczyńska-Cedro



**BADANIA NAD ODCZYNEM ADRENERGICZNYM
WE WCZESNYM OKRESIE ZAWAŁU DOŚWIADCZALNEGO U PSA
Z UWZGLĘDNIENIEM ZMIAN HISTOENZYMATYCZNYCH W MIĘŚNIU SERCA**

ZS317
H4359

Z Zespołu Neurofizjologii
Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
Polskiej Akademii Nauk
Kierownik Zespołu: Doc.dr med. Witold Karczewski

1 z Zakładu Anatomii Patologicznej
2 Centralnego Szpitala Klinicznego
Instytutu Kształcenia Podyplomowego
Wojskowej Akademii Medycznej
Kierownik Zakładu: Prof.dr med. Zygmunt Ruszczewski

Praca na stopień doktora nauk medycznych
Promotor: Prof.dr med. Zygmunt Ruszczewski

Warszawa 1968

<http://rcin.org.pl>

Szanownemu Panu Dyrektorowi
z podziękowaniem
za umożliwienie mi
wykonania pracy w Zespole
Instytutu Farmaceutycznego-Cochran

Aby uzasadnić celowość podjętych przez nas badań należy przedstawić pokrótce fakty, które skłaniają do stwierdzenia, że odczyn układu adrenergicznego może mieć znaczenie dla powstawania i przebiegu zawału serca. Koncepcja pracy powstała w oparciu o wyniki badań eksperymentalnych, obserwacje kliniczne i anatomicopatologiczne dostarczające dowodów na udział mechanizmów pozanaczyniowych w patogenezie choroby wieńcowej i zawału serca.

Przegląd piśmiennictwa dotyczącego tych problemów pozwala na skoncentrowanie się na następujących zagadnieniach:

- jaki jest wpływ hormonów układu adrenergicznego na metabolizm i obraz morfologiczny mięśnia serca,
- w jakich warunkach dochodzi do ujawnienia tego wpływu u ludzi,
- jakie czynniki współdziałają z katecholaminami w doprowadzaniu do zmian patologicznych w mięśniu serca.

Do rozwoju wielokierunkowych badań nad udziałem czynników adrenergicznych w powstawaniu martwicy mięśnia serca skłoniły obserwacje morfologiczne, wskazujące na powstawanie ognisk martwicy w sercu zwierząt doświadczalnych pod wpływem podawania katecholamin /5,17,69,86,92,107/. Do analogicznych zmian doprowadzały katecholaminy endogenne, uwalniane przez drażnienie ośrodkowego układu nerwowego /108/ i układu współczulnego /5/, jak również wyzwalone przez bodźce emocjonalne /38,60/ i sensoryczne.

Powiązanie reakcji układu adrenergicznego, manifestującej się uwalnianiem katecholamin z nadnerczy i ze współczulnych zakończeń nerwowych /21,52/, z pobudzeniem ośrodkowego układu nerwowego stało się punktem wyjścia do badań nad regulacją centralną odczynu adrenergicznego. Ten kierunek badań, rozpoczęty na materiale doświadczalnym i kontynuowany u ludzi, podkreśla rolę

stanów emocjonalnych /21,24,106/, czynników środowiskowych /63,64,74/, konstytucji psychicznej /16,30,87/ w doprowadzaniu do nadmiernego pobudzenia układu adrenergicznego. Wyraża się to zwiększonym wydzielaniem i wydalaniem katecholamin /14,16,30/. Skutki tego odczynu w odniesieniu do czynności serca i jego morfologii zbliżone są do wywołanych nadmiarem katecholamin w warunkach eksperymentu /78/.

W ten sposób powiązано ze sobą odległe na pozór zjawiska - wpływy psychiczne i bodźce zewnętrzne, objęte najogólniej mianem czynników stressowych, z czynnością i metabolizmem mięśnia serca. Dalszym potwierdzeniem tej zależności są badania epidemiologiczne i dane statystyczne, które wskazują na fakt, że czynniki sprzyjające zwiększonej aktywności układu adrenergicznego predysponują do wystąpienia objawów choroby wieńcowej /29,74,87,88/. Badania nad zawartością katecholamin we krwi krążącej wskazują na zwiększone wydzielanie adrenaliny u osób z objawami klinicznymi niewydolności wieńcowej /12,54/ i wydalanie katecholamin w moczu większe niż u osób zdrowych /30/. Stąd wynikło zainteresowanie badaczy rolą katecholamin w patogenezie choroby wieńcowej i zawału serca, oraz mechanizmem powstawania hipoksji i w konsekwencji - martwicy serca pod wpływem tych amin.

Wielokierunkowe badania tego zjawiska rozszerzyły teorię Gollwitzer-Meiera dotyczącą przyczyn niedotlenienia wywołanego przez katecholaminy /34,35,36/. Okazało się bowiem, że mechanizm hipoksji wynika nie tylko ze zwiększonego zużycia tlenu przy nieekonomicznym wzroście pracy serca /32,77/, ale także z gorszego ukrwienia serca na skutek zmian w rozmieszczeniu krwi wieńcowej /7,98,99/. Wynikiem działania katecholamin jest więc

dysproporcja między aktualnym ukrwieniem mięśnia serca i jego zapotrzebowaniem na tlen, co doprowadza do niedotlenienia sierdza.

Badania doświadczalne wykazały, że efekt ten jest wybitnie spotęgowany przy upośledzonej drożności naczyń wieńcowych /76, 100/. Analogicznej sytuacji można się spodziewać u ludzi. Stąd niewątpliwa rola zaburzeń lipidowych i miażdżycy jako czynników predysponujących do choroby wieńcowej /11,41,63,66,74,87/, Znany wpływ katecholamin na metabolizm lipidów /44/ podkreśla ich znaczenie w patogenezie tej choroby.

Badania wykazały, że do martwicy mięśnia serca, niezależnej od zmian naczyniowych, dochodzi u zwierząt w wyniku hipokaliemii /70,84/, oraz podawania hormonów z grupy mineralokortykoidów /94,95/. Podobne zjawisko obserwowano także u ludzi /23, 96/. Skojarzenie tych czynników z hipoksyjnym wpływem katecholamin jest poważnym zagrożeniem dla serca /68,84,85,97/, a jak wiadomo, wydzielanie hormonów kory nadnerczy stymulowane jest przez te same bodźce, które zwiększają aktywność układu adrenergicznego /24,78/.

Tak przedstawiają się w najkrótszym zarysie obecne poglądy na martwicę mięśnia serca, w powstaniu której przyczyny naczyniowe odgrywają niewątpliwą, ale nie wyłączną rolę.

Jakkolwiek rozpowszechnienie miażdżycy naczyń wieńcowych wzrosło na przestrzeni ostatnich dziesiątków lat /22,102/ nie tłumaczy to zwiększonej zachorowalności na zawał serca, ani też wysokiej śmiertelności z tego powodu /82/. Zmiany w naczyniach wieńcowych są niejednokrotnie bardziej nasilone u osób zmarłych z innych przyczyn, aniżeli u tych, którzy zmarli z powodu zawału /2,66/. Opracowane na dużym materiale statystyki anatomopatologiczne podają wiele przypadków zachowanej drożności naczyń

wieńcowych u zmarłych z rozpoznaniem zawału serca /2,4,28/. Jak wynika z powyższego, powstawanie martwicy serca o pozanaczyniowym pochodzeniu wykroczyło poza warunki eksperymentu i znalazło potwierdzenie w patologii ludzkiej.

Równolegle do prac nad wzajemnym powiązaniem wpływów hormonalnych i przesunięć jonowych w doprowadzaniu do martwicy mięśnia serca prowadzono badania morfologiczne nad charakterem i nasileniem zmian w sercu wywołanych przez katecholaminy i ich pochodne. Większość tych prac przedstawia obraz histologiczny serca poddanego działaniu katecholamin, stosowanych w dawkach dochodzących do kilkudziesięciu mg/kg./5,83,86/. Ilości te doprowadzały do powstania ognisk martwicy, a nasilenie zmian było proporcjonalne do stosowanych dawek. Zmiany wsteczne we włóknach mięśniowych, wyrażające się zwiększoną kwasochłonnością cytoplazmy, zatarciem prążkowania, obrzękiem i segmentacją włókien, ujawniały się po podaniu amin sympatykomimetycznych w ilości nie przekraczającej 0,5 mg/kg /5,83,92/. Większe dawki prowadziły do pojawienia się nacieków zapalnych w przestrzeni śródmiąższowej, zwyrodnienia i martwicy włókien mięśniowych, a w późniejszym okresie - do proliferacji fibroblastów i ogniskowego zwłóknienia mięśnia serca /83/. Zastosowanie metod histochemicznych i enzymohistochemicznych do oceny zaburzeń metabolicznych zachodzących w mięśniu serca pod działaniem katecholamin, pozwoliło na wykazanie zmian wcześniejszych niż ujawnione metodami histologicznymi. Polegały one na gromadzeniu tłuszczów w cytoplazmie komórki mięśniowej i spadku aktywności enzymów oddechowych /26, 92,110/, przy równoczesnym wzroście aktywności dehydrogenazy mleczanowej w surowicy /91/ i - nieco późniejszym - zwiększeniu poziomu transaminaz /43/.

Obserwowane zmiany histoenzymatyczne są analogiczne do tych, jakie stwierdzali liczni autorzy w warunkach ostrego niedokrwienia mięśnia serca po podwiązaniu tętnicy wieńcowej. Spadek aktywności enzymów tkankowych, występujący w ciągu pierwszych kilku godzin po zamknięciu światła tętnicy, wyprzedza zmiany uchwytnie metodami histologicznymi. Aktywność enzymów takich jak dehydrogenaza kwasu jabłkowego czy dehydrogenaza kwasu β -hydroksymasłowego ulega zmniejszeniu już w okresie od 30 do 90 minut po zamknięciu światła tętnicy /65/. Spadek aktywności dehydrogenazy mleczanowej i bursztynianowej następuje według różnych autorów w czasie od 90 minut do 4 godzin /9,27,65,93,109/, natomiast aktywność ATPazy, fosfatazy zasadowej i esteraz niespecyficznych nie ulega zmianie we wczesnym okresie niedokrwienia mięśnia serca /27,42,50/. Pierwsze zmiany uchwytnie przy barwieniu hematoksyliną i eozyną występują po upływie jednej do 2 godzin niedokrwienia, a ujawniają się wyraźniej dopiero po 4-6 godzinach /65,93/. Szybko postępujące zmiany histoenzymatyczne w niedokrwionym mięśniu przy braku cech martwicy w badaniu rutynowym ograniczają możliwości rozpoznawania wczesnych zawałów serca u ludzi. Dotyczy to zwłaszcza przypadków, w których zgon nastąpił wkrótce po wystąpieniu objawów klinicznych zawału, wcześniej niż pojawiły się jednoznaczne objawy morfologiczne, dostępne badaniu rutynowemu.

Wobec licznych danych wskazujących na udział endogennych katecholamin w doprowadzaniu do martwicy mięśnia serca, zrozumiałe jest zainteresowanie badaczy ich zachowaniem i rolą w przebiegu zawału serca u ludzi. Oznaczanie poziomu katecholamin we krwi w przebiegu zawału nie wykroczyło dotychczas poza warunki doświadczalne. Przeprowadzał je Richardson u psów i wykazał

wzrost stężenia noradrenaliny we krwi w pierwszej i drugiej dobie po zawale /91/.

U ludzi badania nad zachowaniem się katecholamin w przebiegu zawału opierają się na oznaczaniu ich zawartości w moczu. Większość prac dotyczących tego zagadnienia wskazuje na zwiększone wydalanie katecholamin u chorych na zawał serca /3,31,46,56,72, 112/. Niemniej jednak wyniki autorów dotyczące rodzaju aminy wydalonej w nadmiarze różnią się od siebie. Część badań wskazuje na zwiększone wydalanie noradrenaliny u większości badanych, przy równoczesnym wzroście wydalania adrenaliny u pozostałych /31,56/. Z innych prac wynika, że aminą wydalaną w nadmiarze jest wyłącznie noradrenalina /3/ lub adrenalina /72/, a jeszcze inne podają mieszaninę obu amin /46/. Krańcowo różne wyniki uzyskali Raab i Giggie /75/, którzy nie stwierdzili zwiększonego wydalania katecholamin u żadnego z badanych chorych.

Rozbieżność tych danych wynika w pewnym stopniu z różnej techniki oznaczania katecholamin, kolorymetrycznej - w pierwszych badaniach /72,75/, fluorymetrycznej - w późniejszych /3,31,56/. Nie wiemy dotychczas w jakim stopniu filtracja kłębkowa, wchłanianie zwrotne, wydalanie kanalikowe oraz pH moczu wpływają na ostateczną zawartość w nim katecholamin, co także musi być brane pod uwagę przy interpretacji wyników. Trudno dokładnie określić w jakim stopniu wydalanie adrenaliny czy noradrenaliny w moczu jest odbiciem ich zawartości we krwi krążącej. Oznaczanie katecholamin w moczu dobowym pozwala na ogólną ocenę ich ilości w pierwszej dobie, czy też w następnych dniach po zawale, nie daje natomiast wglądu w dynamikę odczynu podczas pierwszych godzin.

Warunek ten spełnia metoda biologiczna oznaczania katecholamin we krwi krążącej /114/, przy pomocy której badano zachowanie się katecholamin we wczesnym okresie doświadczonego zawału

serca /103/. Badania te wykazały, że we wczesnym okresie zawału poziom katecholamin we krwi krążącej wzrasta, przy czym aminą wydzielaną do krwiobiegu jest w około 70% przypadków adrenalina. Wzrost ilości krążących katecholamin obserwowano u większości badanych zwierząt /80%/, przy czym stwierdzono wyraźną korelację między adrenalinemią pozawałową a zaburzeniami rytmu serca /104/. Zwiększone wydalenie adrenaliny przez chorych z zawałem przebiegającym z zaburzeniami rytmu /112/ sugeruje istnienie podobnej zależności u ludzi. Z obserwacji klinicznych wiadomo, że wczesny okres zawału serca obciążony jest największym ryzykiem prognostycznym i najwyższą śmiertelnością /25,46,58,67/, związaną w większości przypadków z zaburzeniami rytmu /49,67/.

Jak wynika z omówionych uprzednio zagadnień, katecholaminy, poprzez wpływ na metabolizm mięśnia serca i krążenie wieńcowe, mogą prowadzić do niedotlenienia i martwicy serca. Stwierdzono, że wydzielaniu katecholamin w zawale doświadczalnym towarzyszy w większości przypadków pojawienie się zaburzeń rytmu. Wiadomo jednocześnie, że zaburzenia rytmu są przyczyną wysokiej śmiertelności we wczesnym okresie zawału serca u ludzi, przy czym często nie stwierdza się zmian morfologicznych uzasadniających zgon. Można sądzić, że brak objawów morfologicznych wynika z faktu, że powstające w sercu zmiany histoenzymatyczne pozostają nieuchwytnie w badaniu rutynowym, a ich prześledzenie możliwe jest jedynie w warunkach eksperymentu. Biorąc pod uwagę dane dotyczące wpływu katecholamin na metabolizm i obraz morfologiczny serca, wydaje się celowe przebadać czy odczyn adrenergiczny, wyrażający się wzmożonym wydzielaniem katecholamin i pogarszający przebieg zawału przez wpływ na zaburzenia rytmu, posiada swój wykładnik morfologiczny. Istotne byłoby wyjaśnienie, czy i w jakim stopniu wydzielanie katecholamin związane przyczynowo

z zawałem wpływa na nasilenie zmian w mięśniu serca, ocenianych przy pomocy metod histoenzymatycznych. Pozwoli to, być może, odpowiedzieć na pytanie, czy bezpośredni wpływ katecholamin na mięsień serca w przebiegu zawału nie jest jednym z czynników odpowiedzialnych za dysproporcję między ciężkością obrazu klinicznego a wynikami autopsji.

Celem pracy było więc zbadanie, czy i jaka zależność istnieje między nasileniem zmian histoenzymatycznych w mięśniu serca a wydzielaniem do krwiobiegu katecholamin we wczesnym okresie doświadczalnego zawału serca.

M a t e r i a ł i m e t o d y

Doświadczenia wykonano na 30 psach obojga płci o wadze od 6,5 do 13 kg. Zwierzęta usypiano podając dożylnie Hexobarbital Natrium /40 mg/kg/, a następnie we wlewie dożylnym Chloralozę w 1% roztworze /100 mg/kg/. Ciśnienie krwi rejestrowano w sposób ciągły w tętnicy szyjnej przy pomocy manometru rtęciowego. Zwierzęta utrzymywano na oddechu kontrolowanym przy użyciu pompy oddechowej typu Starling. W każdym doświadczeniu rejestrowano w sposób ciągły poziom katecholamin we krwi krążącej metodą biologiczną według Vane'a. Klatkę piersiową otwierano w linii środkowej, po czym otwierano osierdzie. Dalsze postępowanie było odmienne w każdej z trzech grup, na które podzielono zwierzęta doświadczalne.

Grupa I. U 23 zwierząt podwiązano przednią gałąź zstępującą lewej tętnicy wieńcowej w 1/3 dolnej. Ciągłą rejestrację poziomu katecholamin we krwi prowadzono przez 2 godziny od chwili podwiązania tętnicy, po czym wyjmowano serce, odcinając je od wielkich naczyń. Wycinki mięśnia serca do badania morfologicznego i enzymohistochemicznego pobierano natychmiast po wyjęciu serca i zawsze z tego samego miejsca. Badano fragment mięśnia leżący

poniżej podwiązki na tętnicy wieńcowej, oraz wycinek mięśnia ze ściany tylnej lewej komory, nie objęty niedokrwieniem. Badania przeprowadzone w tej grupie zwierząt miały na celu porównawczą ocenę zmian w mięśniu serca w zależności od wydzielania katecholamin po zawale.

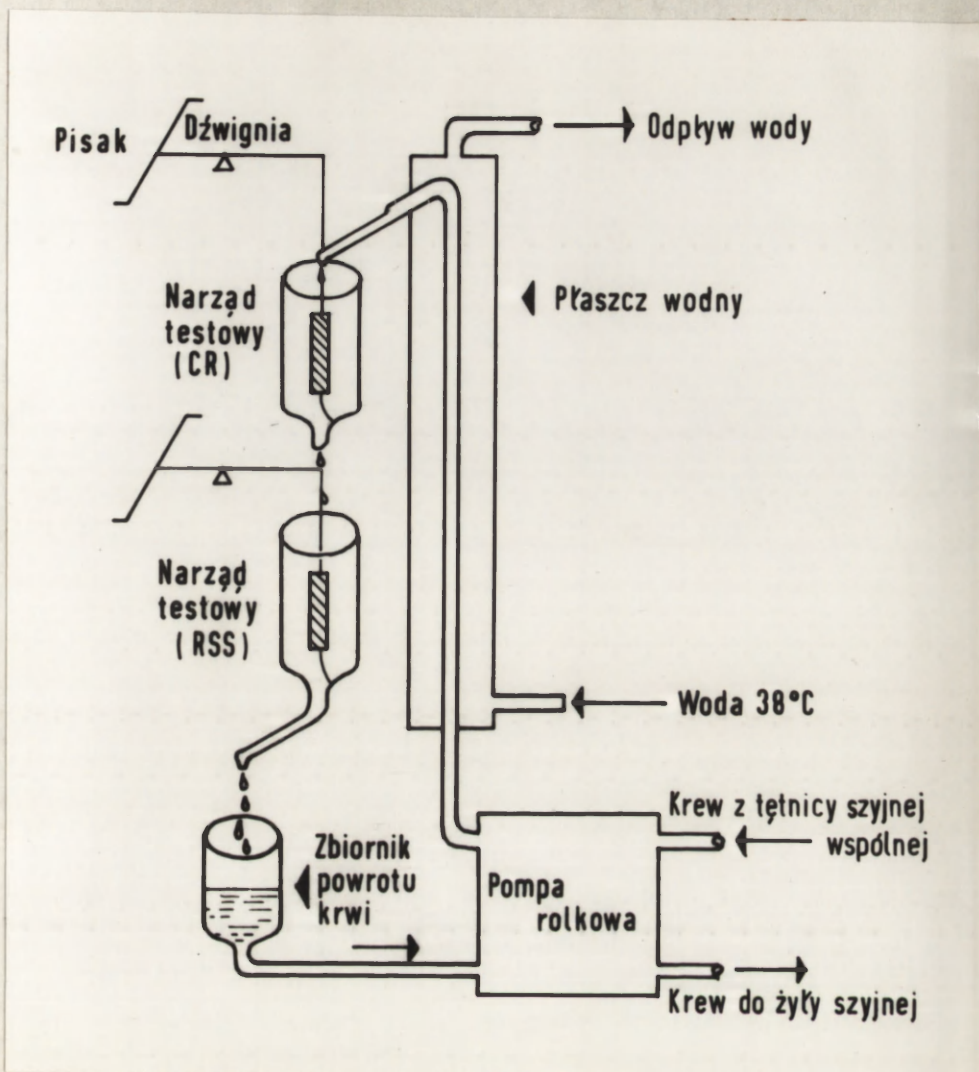
Grupa II obejmowała 5 zwierząt, którym po otwarciu klatki piersiowej i osierdzia podawano przez okres dwóch godzin adrenalinę /adrenalinum hydrochloricum Polfa - 16 ug/ml soli fizjologicznej/ w ciągłym wlewie dożylnym. Ilość podawanej adrenaliny dobrana była w ten sposób, aby odpowiadała przeciętnemu wydzielaniu adrenaliny endogennej u zwierząt poprzedniej grupy. Badanie morfologiczne i enzymohistochemiczne przeprowadzono, aby ocenić wpływ tych ilości adrenaliny egzogennej na obraz mięśnia serca bez zawału. W tym celu po zakończeniu 2-godzinnego wlewu adrenaliny pobierano z wyciętego w całości serca wycinek ze ściany przedniej lewej komory. Miejsce pobrania wycinka odpowiadało tej części mięśnia, która znajdowała się poniżej podwiązki na tętnicy wieńcowej u zwierząt z zawałem.

Grupa III. Dwa zwierzęta stanowiły kontrolę metody. U zwierząt tych po otwarciu klatki piersiowej i osierdzia prowadzono 2-godzinną obserwację poziomu katecholamin we krwi krążącej. Po wyjściu serca pobierano do badania fragment mięśnia ze ściany przedniej lewej komory o lokalizacji takiej jak u zwierząt w omówionych powyżej grupach doświadczalnych. Badanie morfologiczne i enzymohistochemiczne przeprowadzone u zwierząt kontrolnych miało na celu sprawdzenie, czy zastosowane warunki doświadczenia nie wpływają na aktywność badanych enzymów i na obraz histologiczny serca.

U wszystkich badanych zwierząt prowadzono rejestrację elektrokardiograficzną przy użyciu mingografu Elema Schönander 42 B,

oraz stałe monitorowanie czynności serca przy pomocy oscyloskopu. Zapisu krzywej ekg dokonywano stosując odprowadzenia kończynowe, a u zwierząt z podwiązaną tętnicą wieńcową prowadzono także rejestrację bezpośrednio z obszaru niedokrwienia przy pomocy elektrody nasierdziowej. W niektórych doświadczeniach kontrolowano wysycenie krwi tętniczej tlenem przy pomocy oksymetru /typ 057, prod.ZSRR/ w celu sprawdzenia, czy zaobserwowane wydzielanie katecholamin nie jest związane z niedotlenieniem zwierzęcia. Krew do oznaczeń gazometrycznych pobierano z tętnicy szyjnej wspólnej po upływie 1 godziny od podwiązania tętnicy wieńcowej, oraz po 2 godzinach - bezpośrednio przed zakończeniem doświadczenia.

Szczegółowego omówienia wymaga metoda biologiczna oznaczania katecholamin we krwi krążącej /114/. Zasadą metody jest zastosowanie 2 narządów izolowanych - odbytnicy kurczęcia /chick rectum - CR/ /61/, oraz dna żołądka szczura /rat stomach strip - RSS/ /113/, omywanych w sposób ciągły krwią tętniczą zwierzęcia. Krew wyprowadzona z tętnicy szyjnej, przesuwana przez pompę rolkową z szybkością 10 ml/min. omywa narządy testowe, po czym powraca do żyły szyjnej zwierzęcia. Oba narządy reagują rozkurczem na podawaną z zewnątrz lub wydzielaną do krwiobiegu endogenną adrenalinę, a jeden z nich - skrawek żołądka szczura /RSS/ - także na noradrenalinę. Dźwignia połączona z narządem testowym rejestruje na kimografie rozkurcz narządu. Z reakcji obu narządów można wnioskować, która amina wydziela się do krwiobiegu /6,105/. Ilość wydzielanych katecholamin określa się przez porównanie uzyskanego rozkurczu z reakcją narządów na dożylną infuzję znanej dawki adrenaliny lub noradrenaliny. Przed uruchomieniem krążenia zewnętrznego do omywania narządów testowych podawano psom heparynę /Heparinum Polfa/ w dawce 1000 j.m./kg wagi. Schemat układu krążenia pozaustrojowego dla oznaczania katecholamin metodą biologiczną przedstawia ryc.1.



Ryc. 1

Przygotowanie materiału do badania morfologicznego i enzymo- histochemicznego

Każdy pobrany wycinek mięśnia serca dzielono na 3 części, z których jedną zamrażano natychmiast w mieszaninie suchego lodu z acetonem -70°C , a pozostałe umieszczano odpowiednio w zbuforowanym 1% roztworze wodnym formaliny $\text{pH } 7,2 - 7,4$ i w płynie Carnoy.

Metodyka badania morfologicznego i enzymohistochemicznego

1. Wycinki mięśnia serca utrwalone w płynie Carnoy zata-
piano w parafinie i krojono na mikrotomie na skrawki o grubości
około 4 μ . W części skrawków oznaczano zawartość glikogenu me-
todą Mc Manusa - Mowry z kontrolnym trawieniem diastazą /55/.

Z pozostałych skrawków sporządzano preparaty histologiczne barwione hematoksyliną i eozyną /115/.

2. W wycinkach utrwalonych w zbuforowanym roztworze formaliny oznaczano aktywność esteraz niespecyficznych, fosfatazy kwaśnej i zasadowej oraz ATPazy błon komórkowych i - w części doświadczeń ATPazy mitochondrialnej. W tym celu krojono tkankę na mikrotomie mroźeniowym na skrawki o grubości od 12 - 15 μ . Aktywność esteraz niespecyficznych oznaczano metodą Gomoriego przy użyciu octanu α -naftolu/55/. Aktywność fosfatazy kwaśnej i zasadowej wykrywano metodą Gomoriego stosując jako substrat β -glicerofosforan sodu /73/. Do oceny ATPazy błon komórkowych i ATPazy mitochondrialnej zastosowano metodę Wachsteina i Meisel /55/. Zestawienie składu i pH płynu inkubacyjnego oraz temperatury i czasu inkubacji w poszczególnych stosowanych metodach ilustruje tabela I.

3. Zamrożony w temperaturze -70°C wycinek mięśnia serca krojono w kriostacie na skrawki o grubości około 7 μ . Po wysuszeniu zanurzano skrawki w zimnym acetonie i płukano w buforze fosforanowym o pH 7,4. W tak przygotowanych skrawkach oznaczano aktywność dehydrogenazy bursztynianowej i mleczanowej metodą według Nachlasa /55/. Skład płynów inkubacyjnych oraz warunki inkubacji do wykrywania aktywności badanych dehydrogenaz przedstawia tabela II.

T a b e l a I

Zestawienie zastosowanych metod badania enzymohistochemicznego

Badany enzym	Metoda	Substrat	Skład płynu inkubacyjnego	pH	temp.	Czas inkubacji	Wynik reakcji
Esterazy niespecyficzne	wg Gomoriego	octan α -naftolu	20 mg 1% octanu α -naftolu w 0,5 ml acetonu 10 ml buforu fosforanowego 40 mg soli dwuazowej Fast Garnet /	7,2 8,0 7,4	20 ^o C	45 min.	w miejscu lokalizacji esteraż powstaje drobnoziarnisty pomarańczowo-brązowy osad
Fosfataza zasadowa	wg Gomoriego	β -glicero fosforan sodu	10 ml 2% β -glicerofosforanu sodu 10 ml 2% 2-etylobarbituranu 2 ml 2% CaCl ₂ 1 ml 2% MgSO ₄ 20 ml H ₂ O dest.	9	37 ^o C	2 godz.	Miejsca aktywności enzymu wybarwiają się na kolor brązowo-czarny
Fosfataza kwaśna	wg Gomoriego	β -glicero fosforan sodu	80 mg β -glicerofosforanu sodu 12,5 ml 0,2 M buforu octanowego pH 5,5 0,5 ml 0,4 M Pb /NO ₃ /2 H ₂ O dest. do 50 ml	5,5	37 ^o C	1 godz. 30 min.	Brunatno-czarny strąk siarczku ołowiu w miejscu aktywności enzymu
ATPaza	wg Wachsteina i Meisel	sól 2-sodowa ATP	25 mg soli 2-sodowej ATP 20 ml 0,2 M buforu Tris-HCl 3 ml 2% Pb/NO ₃ /2 5 ml 0,1 M MgSO ₄ H ₂ O dest. do 50 ml	7,2	37 ^o C	1 godz.	Brunatne złogi siarczku ołowiu w miejscu lokalizacji ATPazy

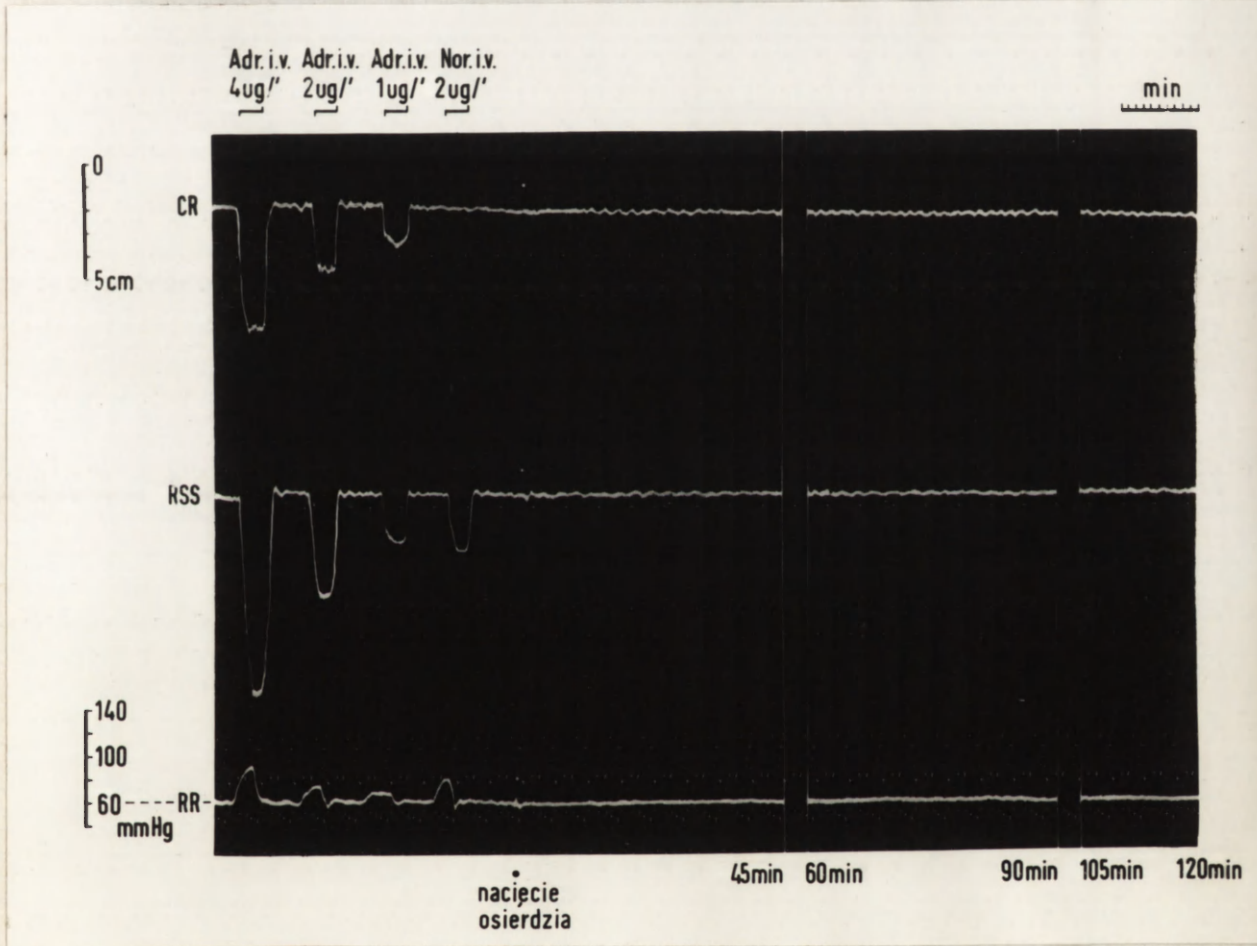
Wykrywanie aktywności badanych dehydrogenaz metodą Nachlasa

Badany enzym	Substrat	Skład płynu inkubacyjnego	pH	temp.	Czas inkubacji	Wynik reakcji
Dehydrogenaza bursztynianowa	Bursztynian sodu	1M bursztynian sodu - 3 ml Nitro BT 1 mg/mlH ₂ O - 7,5 ml 0,1M bufor fosforanowy pH 7,4 - 7,5 ml H ₂ O dest. do 30 ml	7,4	37°0	45 min.	W miejscu aktywności enzymu ciemno - niebieskie strąty formazanu
Dehydrogenaza mleczanowa	Mleczan sodu	1M mleczan sodu pH 7,4 - 0,1 ml NAD - 3 mg 0,1M azydek sodu - 0,1 ml Nitro BT 1 mg/mlH ₂ O - 0,25 ml 0,1M bufor fosforanowy pH 7,4 - 0,3 ml H ₂ O dest. do 1 ml				

W y n i k i

I. Oznaczanie katecholamin we krwi krążącej. Badanie elektrokardiograficzne i gazometryczne.

1. U 2 zwierząt, które stanowiły kontrolę metody, 2-godzinna obserwacja po otwarciu klatki piersiowej i osierdza nie wykazała wydzielania do krwi uchwytnej ilości katecholamin. Przebieg doświadczenia kontrolnego ilustruje ryc.2.



Ryc.2. Pies o 10 kg /Doświadczenie nr 1/. Dolna krzywa przedstawia zapis ciśnienia tętniczego /RR/. Krzywa górna i środkowa - to rejestracja zachowania się obu narządów testowych, odbytncicy kurczenia /chick rectum - CR/ oraz skrawka żołądka szczura /rat stomach strip - RSS/, omywanych krwią tętniczą. Początek zapisu przedstawia rozkurcz obu narządów testowych pod wpływem znanych dawek adrenaliny podawanej w kolejnych wlewach dożylnych w ilości 4, 2 i 1 $\mu\text{g}/\text{min}$. Na infuzję dożylną noradrenaliny /2 $\mu\text{g}/\text{min}$ / reaguje rozkurczem tylko jeden narząd testowy - skrawek żołądka szczura /RSS/. 2-godzinna obserwacja po otwarciu osierdza nie wykazuje uchwytnej zmiany stężenia katecholamin we krwi.

Obraz elektrokardiograficzny tych zwierząt nie ulegał zmianie w okresie obserwacji.

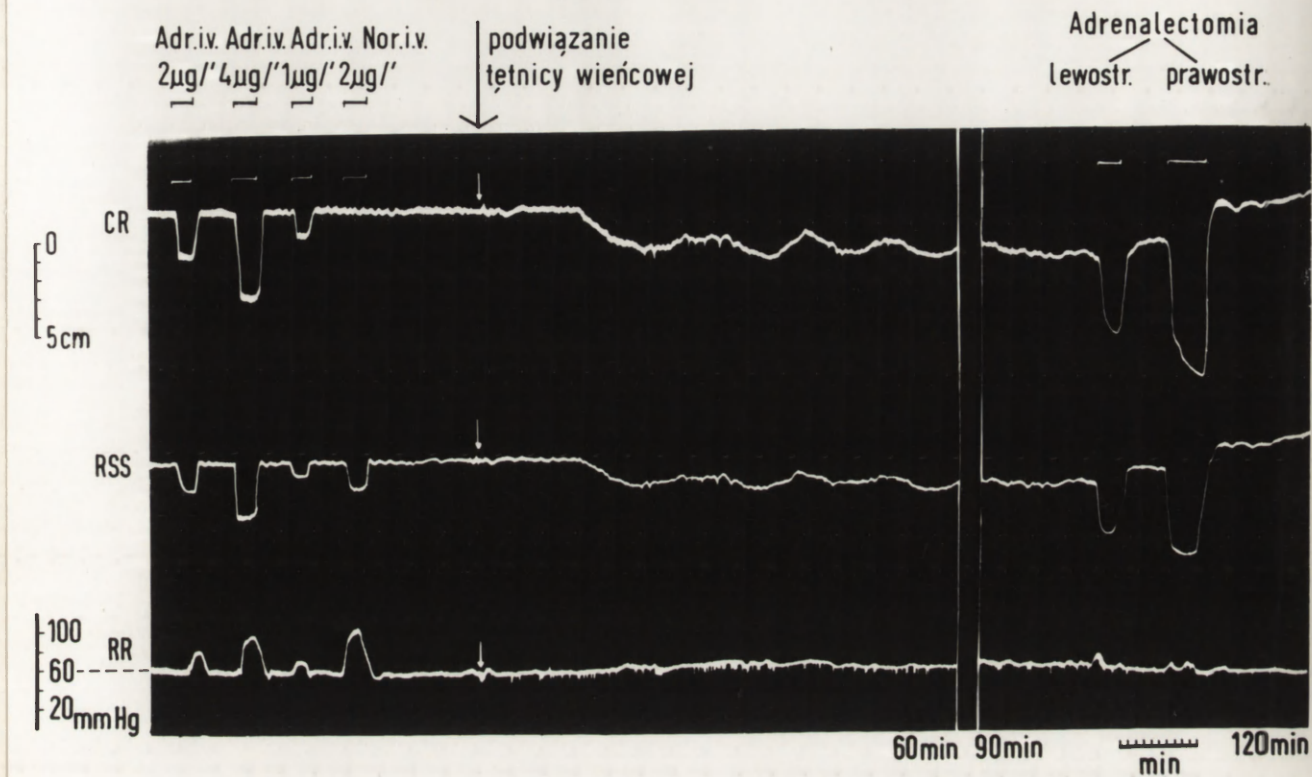
2. W grupie 23 zwierząt, którym podwiązano tętnicę wieńcową w 14 przypadkach stwierdzono zwiększone wydzielanie katecholamin w okresie 2-godzinnej obserwacji po dokonaniu zawału doświadczalnego,

- w 11 przypadkach aminą wydzielaną do krwiobiegu była adrenalina
- u 2 psów stwierdzono zwiększenie ilości noradrenaliny we krwi,
- u 1 zwierzęcia - mieszaninę obu amin.

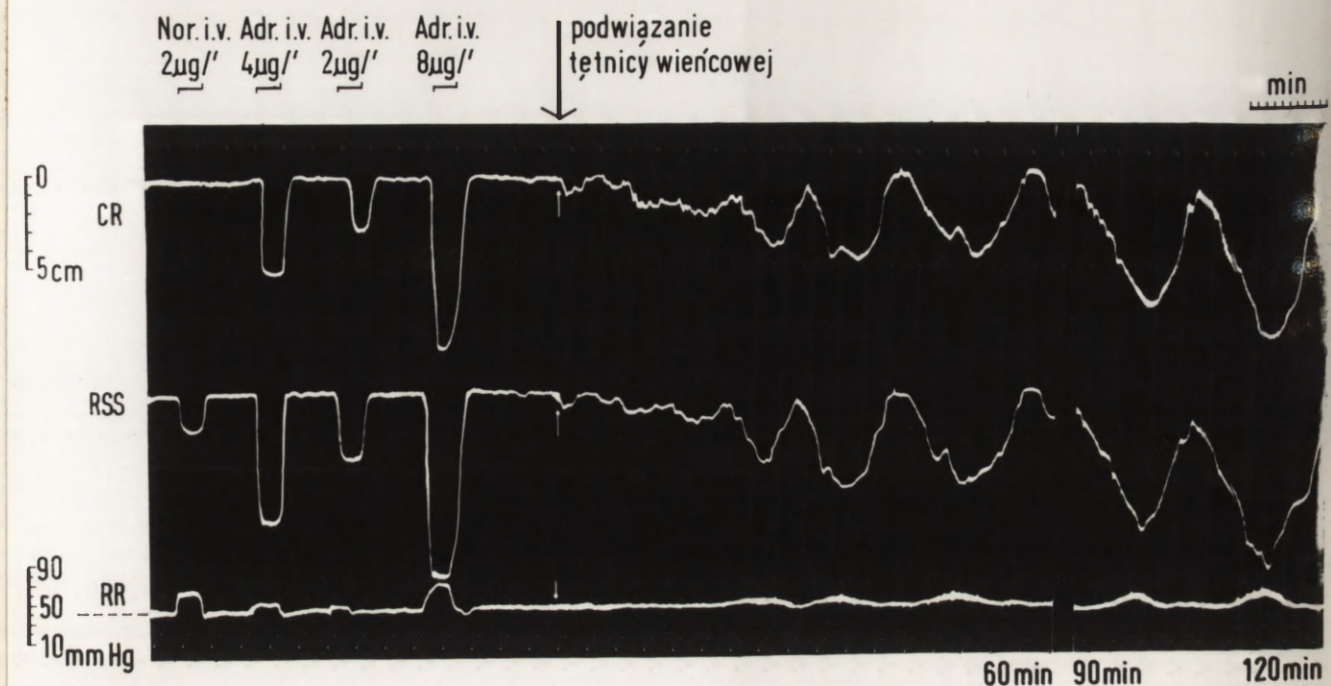
U 9 zwierząt nie stwierdzono zwiększonej sekrecji katecholamin po 2 godzinach obserwacji po podwiązaniu tętnicy wieńcowej.

Wzrost wydzielania katecholamin do krwi krążącej notowano najczęściej już w ciągu pierwszych 15 minut od chwili podwiązania tętnicy wieńcowej, a najpóźniej - w 35-tej minucie po zawale. Wydzielanie katecholamin osiągało wartości od 1 do 8 $\mu\text{g}/\text{min}$. w poszczególnych doświadczeniach, czyli od 0,1 do 1,2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$.

Obserwacja wydzielania endogennych katecholamin po podwiązaniu tętnicy wieńcowej wykazała, że wydzielanie to ma różne nasilenie i odmienny przebieg w poszczególnych doświadczeniach. Dotyczy to zwłaszcza doświadczeń, w których aminą wydzielaną do krwi była adrenalina. W większości przypadków obserwowano stopniowy wzrost ilości krążącej adrenaliny, aż do osiągnięcia stałego poziomu, na którym utrzymywało się jej stężenie aż do zakończenia obserwacji. U niektórych zwierząt wydzielanie miało charakter falisty, czego odbiciem był synchroniczny, powtarzający się wielokrotnie rozkurcz obu narządów testowych. Przebieg doświadczeń ilustrujących różny stopień i charakter wydzielania przedstawiają ryciny 3 i 4.

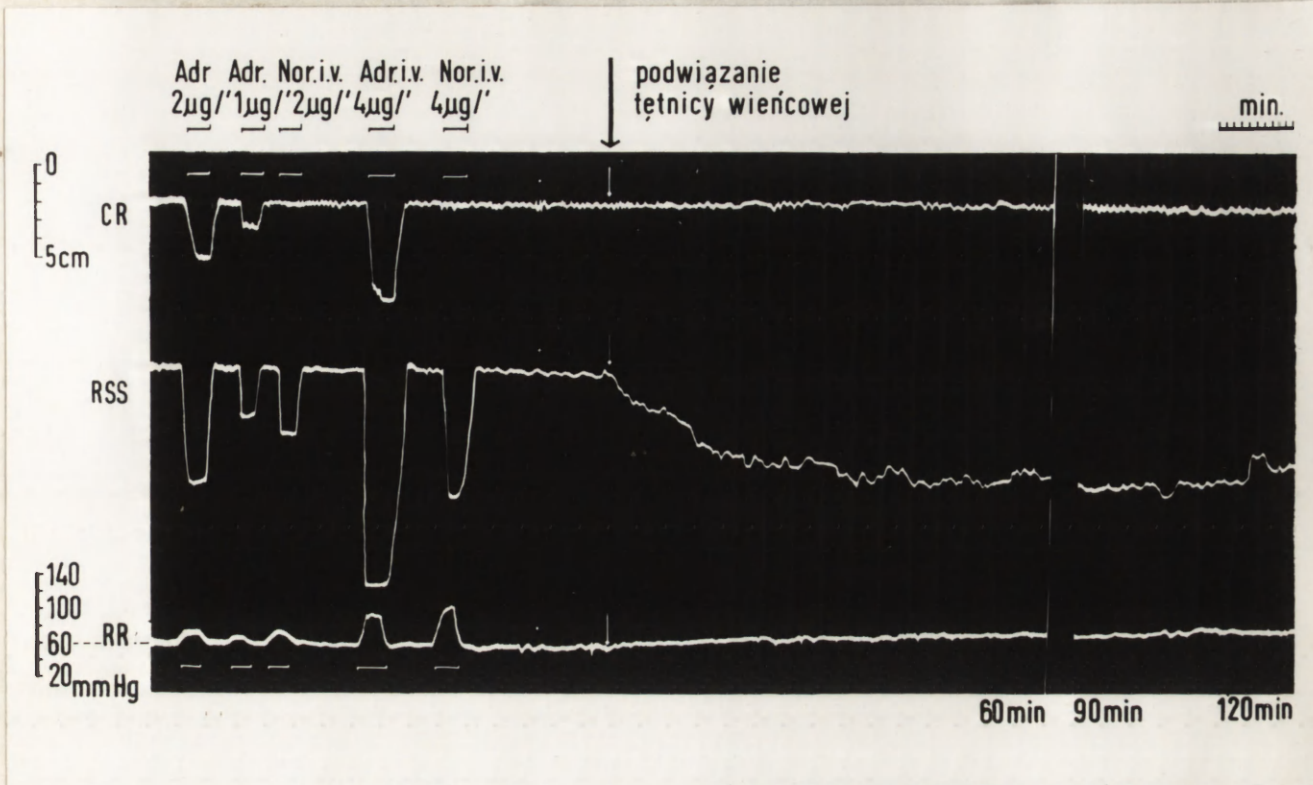


Ryc.3. Pies ♀ 6,8 kg /Doświadczenie nr 20/. Wstępna kalibracja dożylną infuzją adrenaliny /2, 4 i 1 $\mu\text{g}/\text{min}.$ / wykazuje proporcjonalny do dawki adrenaliny rozkurcz obu narządów testowych. Podanie noradrenaliny /2 $\mu\text{g}/\text{min}.$ / wywołuje rozkurcz tylko jednego narządu - skrawka żołądka szczura /RBS/. Po upływie około 15 minut od podwiązania tętnicy wieńcowej stopniowy, synchroniczny rozkurcz obu narządów wskazuje na zwiększenie ilości krążącej adrenaliny. Maksymalny rozkurcz narządów odpowiada reakcji na podanie adrenaliny w ilości 2 $\mu\text{g}/\text{min}.$ i utrzymuje się aż do chwili usunięcia nadnerczy. Adrenalectomia powoduje przejściowy wzrost wydzielania. Po usunięciu nadnerczy napięcie narządów testowych - a tym samym i linia zapisu - powracają do stanu wyjściowego, co świadczy o zmniejszeniu ilości krążących katecholamin. Zapis ciśnienia krwi /RR/ pokazuje reakcję presyjną na wlew adrenaliny i noradrenaliny.



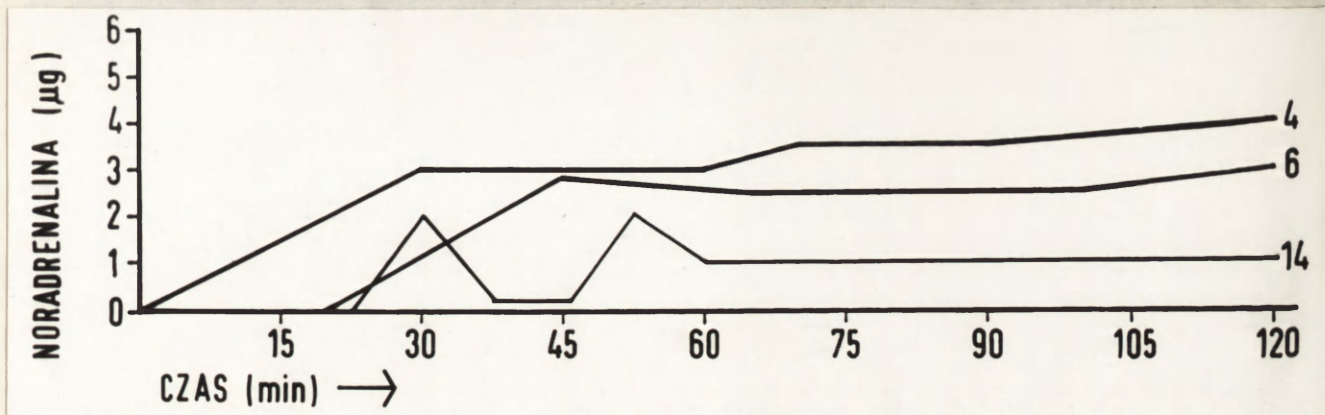
Ryc.4. Pies ♂, 6,5 kg/Doświadczenie nr 9/. Na wstępną infuzję noradrenaliny /2 µg/min. reaguje rozkurczem jeden narząd testowy - RRS. Następnie - proporcjonalna do dawki adrenaliny /4, 2 i 8 µg/min./ reakcja obu narządów. Podwiązanie tętnicy wieńcowej wywołuje natychmiastową reakcję obu narządów - powolny rozkurcz, nasilający się po upływie około 25 minut. Świadczy to o stopniowym zwiększaniu się ilości endogennej adrenaliny we krwi krążącej. Osiąga ona stężenie odpowiadające podaniu 2 µg adrenaliny na minutę podczas wstępnej kalibracji narządów testowych. W ciągu pierwszych 60 minut od podwiązania tętnicy wieńcowej linia zapisu powraca trzykrotnie do poziomu wyjściowego, po czym natychmiast następuje gwałtowny rozkurcz narządów. Przemawia to za tym, że wydzielanie endogennej adrenaliny przebiega rzutami. Maksymalne wydzielanie obserwowane w ostatnich 30 minutach doświadczenia osiąga wielkość odpowiadającą 8 µg adrenaliny na minutę. Na zapisie ciśnienia tętniczego zaznaczony jest efekt presyjny wydzielającej się adrenaliny

Jak wspomniano, w większości, bo w 11 doświadczeniach, aminą wydzielaną do krwi po podwiązaniu tętnicy wieńcowej była adrenalina. Zwiększoną sekrecję noradrenaliny obserwowano jedynie w trzech przypadkach, w tym - w jednym doświadczeniu mieszaninę obu badanych amin. Ilustracją jednego z dwóch doświadczeń, w których podwiązaniu tętnicy wieńcowej towarzyszył wzrost poziomu krążącej noradrenaliny jest rycina 5.

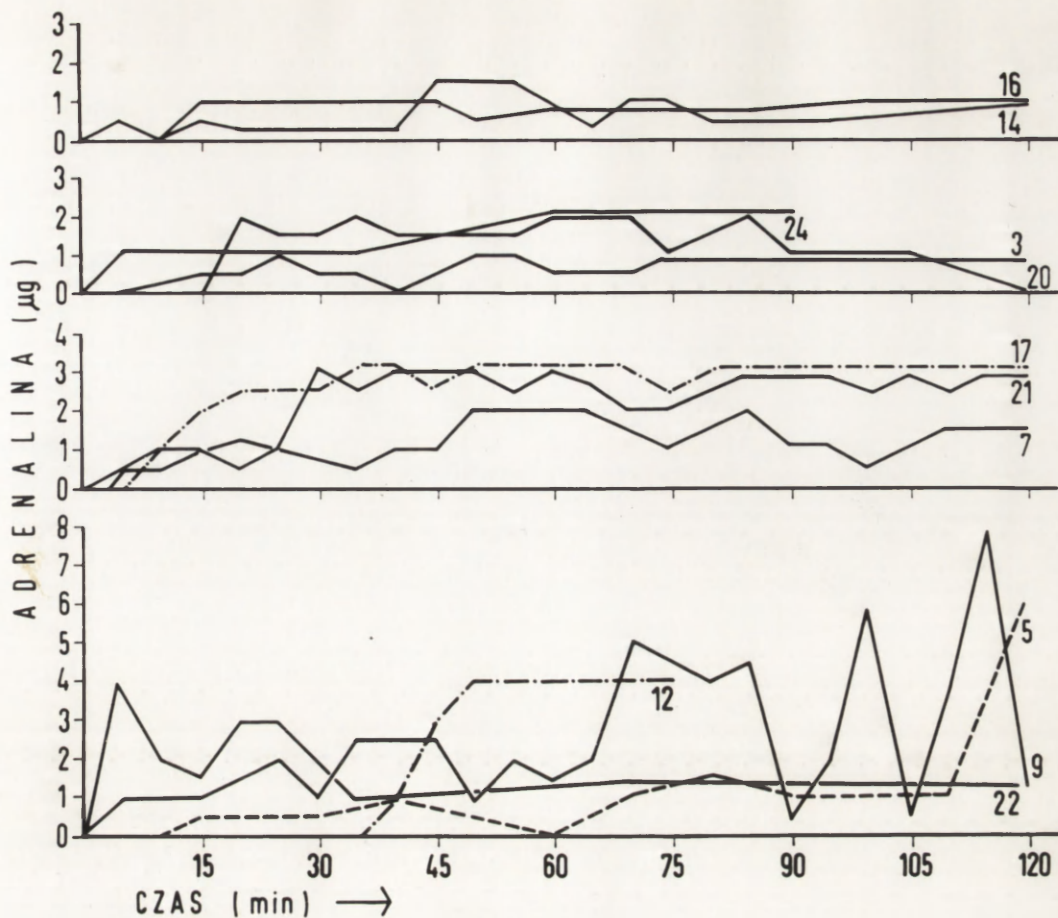


Ryc.5. Pies ♂, 11 kg /Doświadczenie nr 4/. Wstępna kalibracja obu narządów testowych wskazuje na typową, różnicową reakcję rectum kurczącego /CR/ i skrawka żołądka szczura /RBS/ na podawane aminy. Widoczny jest rozkurcz obu narządów testowych pod wpływem wlewu adrenalin /2, 1 i 4 µg/min./ i rozkurcz jednego z nich /RBS/ podczas infuzji noradrenalin /2 i 4 µg/min./. Reakcja obu narządów jest proporcjonalna do dawki. Podwiązaniu tętnicy wieńcowej towarzyszy natychmiastowy rozkurcz skrawka żołądka szczura /RBS/, podczas gdy napięcie drugiego narządu nie ulega zmianie. Świadczy to o zwiększonym wydzielaniu noradrenalin do krwi. Rozkurcz narządu nasila się stopniowo, aż osiąga wielkość taką, jak pod wpływem wlewu dożylnego noradrenalin w ilości 4 µg/min.

Dla zilustrowania wielkości i charakteru wydzielania katecholamin podczas 2-godzinnej obserwacji po podwiązaniu tętnicy wieńcowej, przedstawiono schematycznie na ryc.6 i 7 wydzielanie adrenalin i noradrenalin w poszczególnych doświadczeniach.



Ryc.6

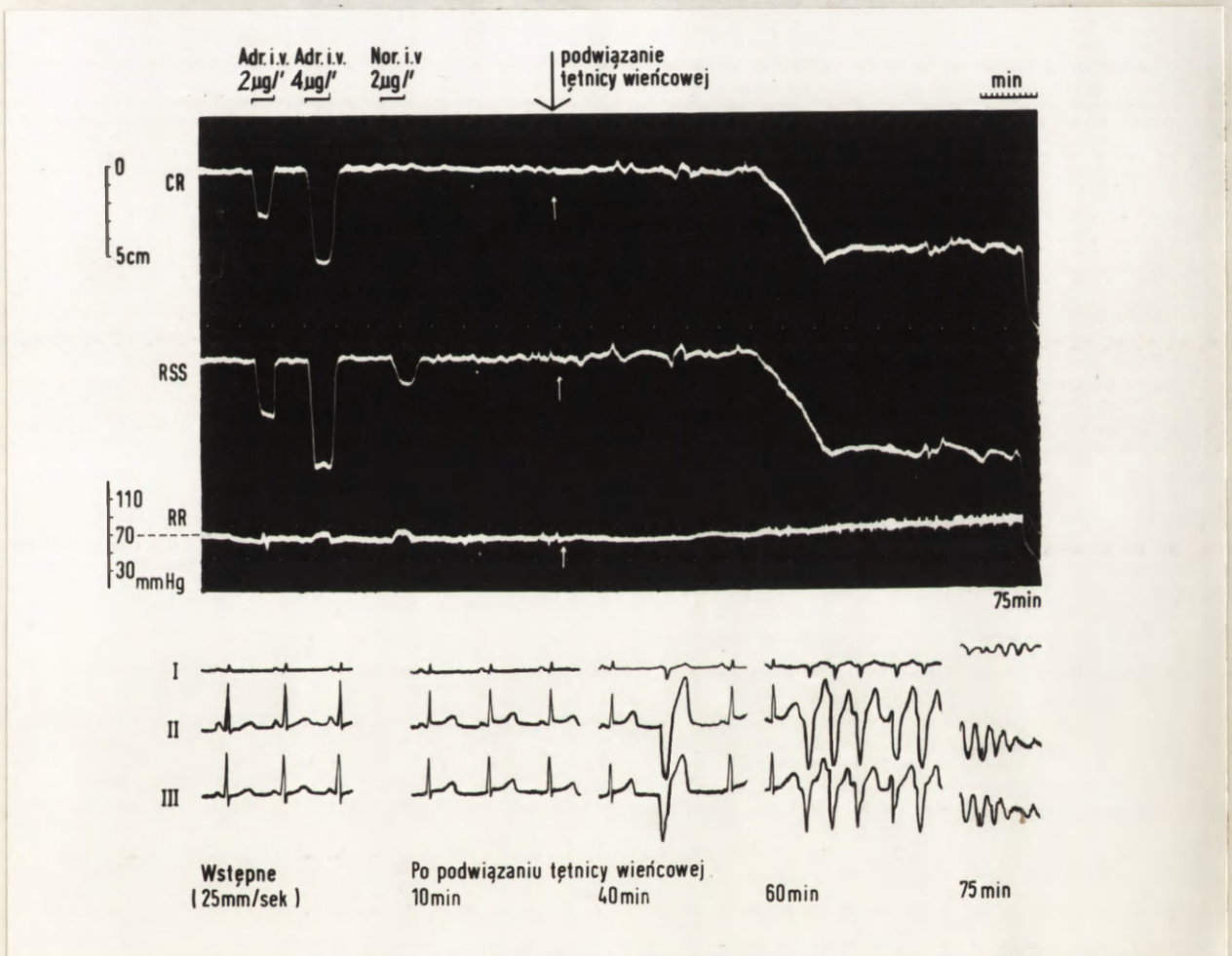


Ryc.7. Cyfry oznaczają numery doświadczeń. Obserwowane w doświadczeniu nr 14 wydzielanie mieszaniny katecholamin przedstawiono na 2 wykresach, jako wydzielanie adrenaliny i osobno noradrenaliny. Migotanie komór, które wystąpiło w 2 doświadczeniach /nr 12 i nr 24/ skróciło czas obserwacji do 75 i 90 minut.

U wszystkich badanych zwierząt podwiązanie tętnicy wieńcowej znalazło odbicie w obrazie ekg, który wykazał cechy typowe dla świeżego zawału mięśnia serca.

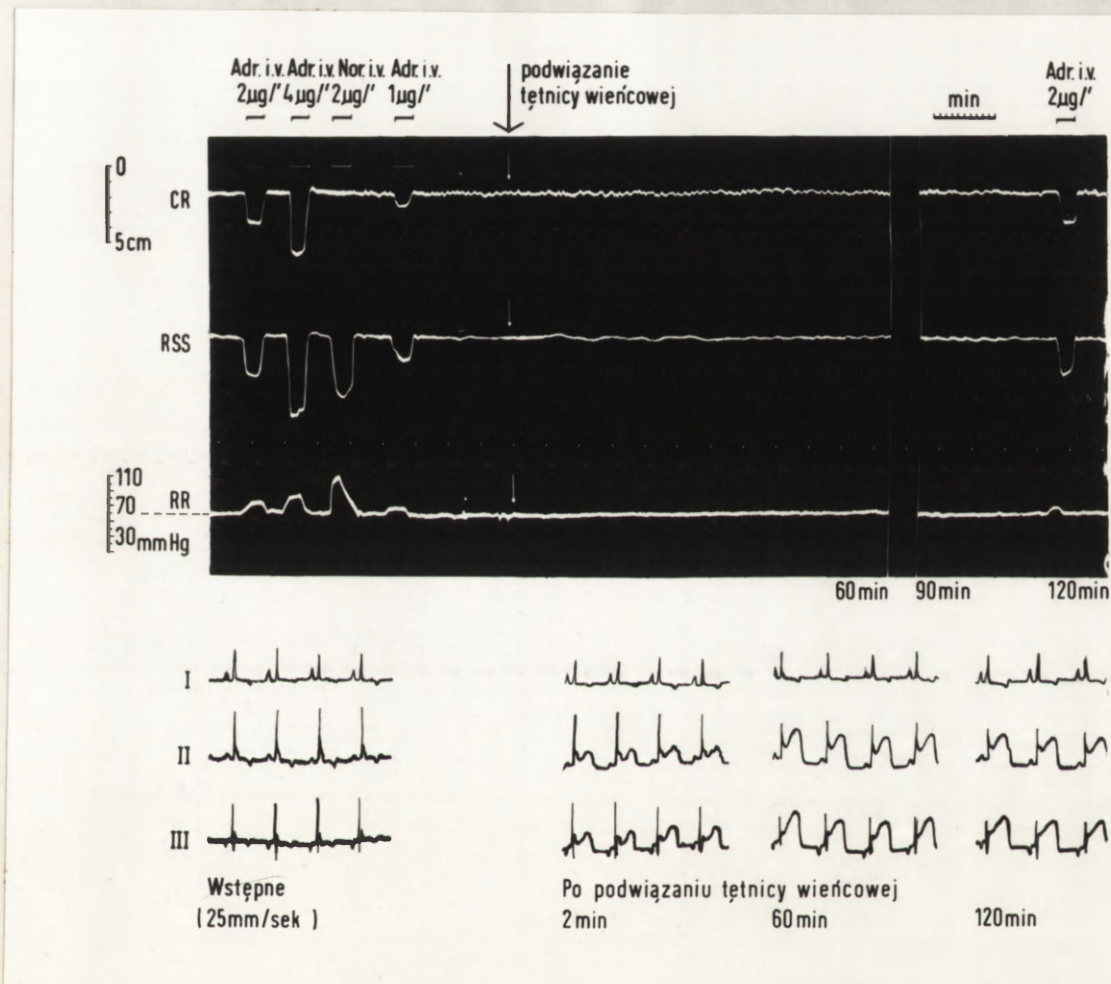
W grupie 11 zwierząt, u których stwierdzono zwiększone wydzielanie adrenaliny po podwiązaniu tętnicy wieńcowej, w 9 przypadkach obserwowano zaburzenia rytmu serca. Zaburzenia te występowały pod postacią skurczów dodatkowych komorowych z jednego lub wielu ośrodków, częstoskurczu komorowego /w trzech doświadczeniach/ i migotania komór /w dwóch doświadczeniach/. Zaburzeń tych nie obserwowano u zwierząt wydzielających noradrenalinę, towarzyszyły one natomiast wydzielaniu mieszaniny obu amin.

W doświadczeniach, w których po podwiązaniu tętnicy wieńcowej nie stwierdzano wydzielania uchwytynych ilości katecholamin do krwiobiegu, pojedyncze skurcze dodatkowe komorowe wystąpiły u trzech z. pośród dziewięciu zwierząt. Obraz zaburzeń rytmu współistniejących ze zwiększoną sekrecją adrenaliny po podwiązaniu tętnicy wieńcowej przedstawia rycina 8.



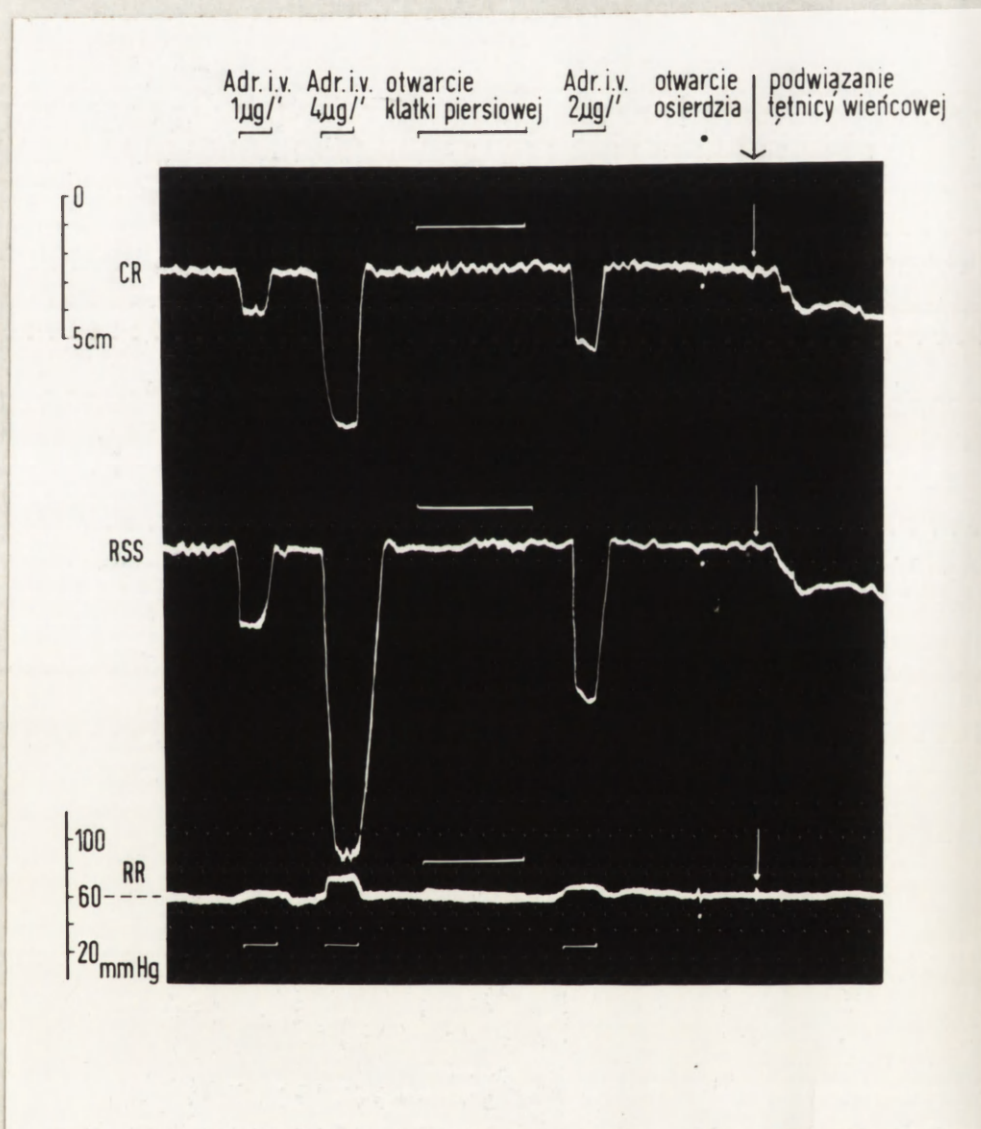
Ryc.8. Pies ♂, 13 kg /Doświadczenie nr 12/. Na początku zapisu zarejestrowano rozkurcz obu narządów testowych po podaniu wstępnej dawki adrenaliny /2 i 4 µg/min./, oraz reakcję jednego narządu /RBS/ na wlew noradrenaliny /2 µg/min./. Po upływie około 35 minut od podwiązania tętnicy wieńcowej synchroniczny rozkurcz obu narządów wskazuje na wydzielanie adrenaliny. Rozkurcz osiąga po upływie dalszych 10 minut wielkość odpowiadającą reakcji narządów na wlew 4 µg adrenaliny na minutę, utrzymując się na tym poziomie do końca obserwacji. Stopniowemu wzrostowi stężenia adrenaliny we krwi towarzyszy pojawianie się zaburzeń rytmu pod postacią skurczów dodatkowych komorowych, - początkowo pojedynczych, następnie gromadnych, które przechodzą w migotanie komór w 75 minucie po zamknięciu światła w tętnicy wieńcowej. Zapis ciśnienia /krzywa dolna - RR/ wykazuje stopniowy jego wzrost do 90 mm Hg równoczesny ze wzrostem ilości krążącej adrenaliny.

Typowy przebieg doświadczenia, w którym nie obserwowano zwiększonej sekrecji katecholamin po podwiązaniu tętnicy wieńcowej przedstawia rycina 9.



Ryc.9. Pies σ , 7,2 kg /Doświadczenie nr 19/. Wlew adrenaliny /2, 4 i 1 $\mu\text{g}/\text{min}.$ / wywołuje proporcjonalny do dawki rozkurcz obu narządów testowych. Po podaniu noradrenaliny rozkurcza się skrawek żołądka szczura /RSS/. W okresie 2-godzinnej obserwacji po podwiązaniu tętnicy wieńcowej napięcie obu narządów nie ulega zmianie. Przed zakończeniem doświadczenia powtórzono wlew adrenaliny /2 $\mu\text{g}/\text{min}.$ / celem ponownego sprawdzenia wrażliwości narządów testowych na wzrost stężenia adrenaliny we krwi. Otrzymano rozkurcz analogiczny do uzyskanego podczas wstępnej kalibracji. Wobec zachowanej wrażliwości narządów testowych na adrenalinę można stwierdzić, że niezmienna linia zapisu wynikała z braku zwiększonej sekrecji adrenaliny po zawale. W obrazie elektrokardiograficznym cechy świeżego zawału bez zaburzeń rytmu serca.

Przedstawiając otrzymane wyniki badań należy zaznaczyć, że wzrostu wydzielania katecholamin nie obserwowano podczas otwierania klatki piersiowej, a podwiązanie tętnicy wieńcowej nie prowadziło do spadku ciśnienia tętniczego krwi, co mogło by tłumaczyć zwiększoną sekrecję amin. Ilustracją powyższego jest rycina 10.

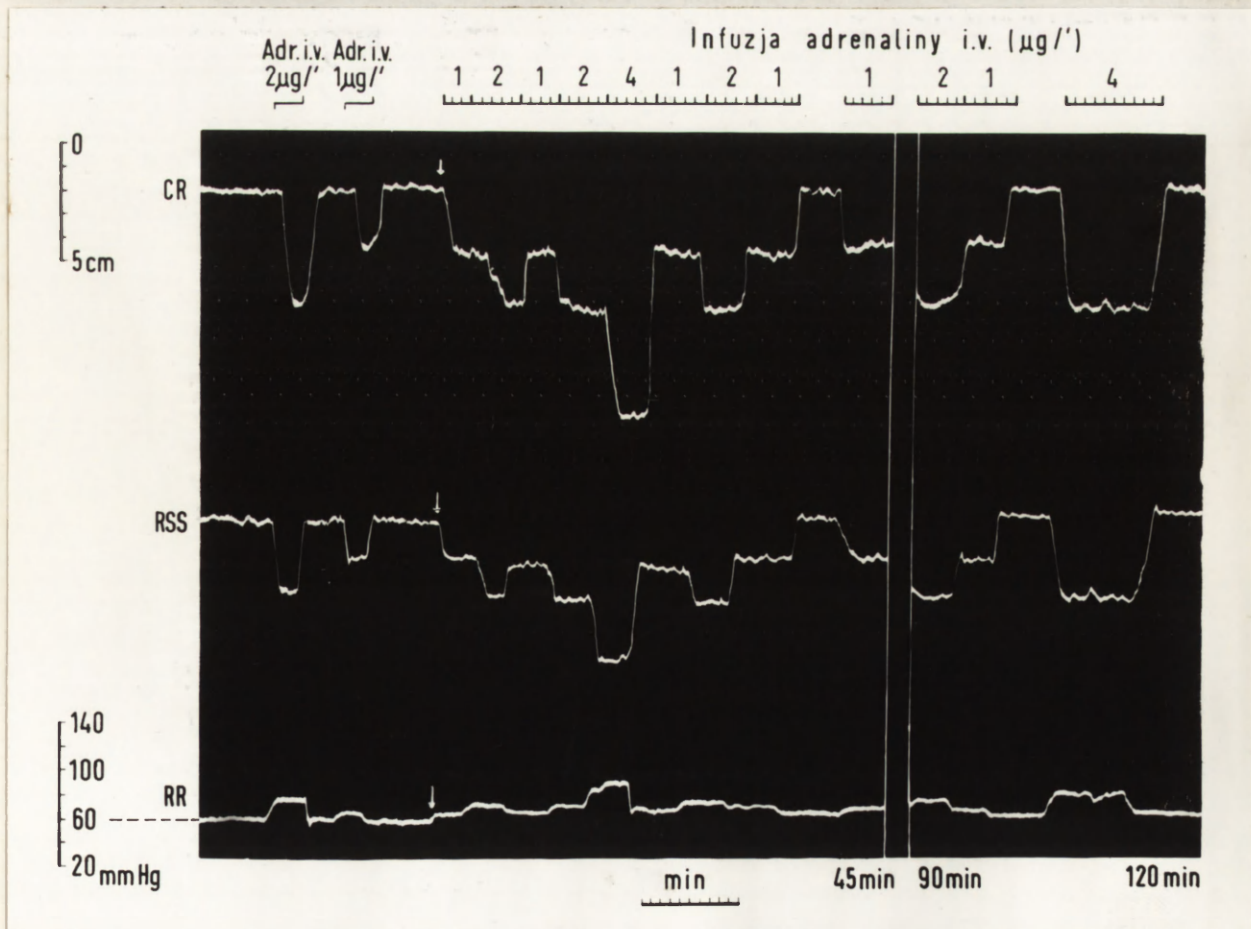


Ryc.10. Pies ♀ 8,5 kg./Doświadczenie nr 21/. Narządy testowe reagują rozkurczem na podawaną we wlewie dożylnym adrenalinę /1, 4 i 2 µg/min./. Otwarcie klatki piersiowej, a także otwarcie osierdzia nie wywołuje zmiany napięcia narządów, co świadczy o braku wydzielania zwiększonej ilości katecholamin. Wydzielanie adrenalin rozpoczyna się po podwiązaniu tętnicy wieńcowej, nie poprzedzone spadkiem ciśnienia krwi.

Wysycenie tlenem krwi tętniczej kontrolowano w 4 doświadczeniach, w których stwierdzono zwiększone wydzielanie katecholamin po podwiązaniu tętnicy wieńcowej /Doświadczenie nr 6,7,9 i 12/.

Celem badania było sprawdzenie, czy wzrost sekrecji amin, obserwowany w tych doświadczeniach, nie jest wywołany niedotlenieniem zwierzęcia. Wysycenie krwi tętniczej tlenem było we wszystkich badanych przypadkach prawidłowe /99,98,98 i 99%/ i nie ulegało zmianie w okresie obserwacji.

3. W grupie zwierząt, którym podawano adrenalinę we wlewie dożylnym nie podwiązując tętnicy wieńcowej, ilość adrenaliny na kilogram wagi zwierzęcia wynosiła średnio 25 μg /23,6, 26,5, 26,5, 26 i 24,2 μg - w poszczególnych doświadczeniach - nr 26, 27, 28, 29, 30/. Dawka ta odpowiadała w przybliżeniu wydzielaniu adrenaliny rzędu 2 $\mu\text{g}/\text{min}$. przez 2 godziny, a takie wydzielanie obserwowano u większości zwierząt ze zwiększoną sekrecją amin po zawale. Rycina 11 jest przykładem eksperymentu, w którym podawano adrenalinę w ciągłym wlewie dożylnym nie przekraczając 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ wagi po 2 godzinach infuzji.



Ryc. 11. Pies σ^1 6,9 kg/Doświadczenie nr 30/. Początek ciągłego wlewu oznaczony strzałką. Cyfry nad linią zapisu oznaczają ilość μg adrenaliny podawanych na minutę.

Podsumowanie omówionej części badań przedstawia się następująco:

- 1/ podwiązania tętnicy wieńcowej dokonano w ostrym eksperymencie u 23 psów i oceniono zachowanie się endogennych katecholamin w okresie 2 godzin od chwili podwiązania tętnicy,
- 2/ zwiększone wydzielanie katecholamin do krwi krążącej stwierdzono w 14 przypadkach, w tym w 11 doświadczeniach - wydzielanie adrenaliny, w dwóch noradrenaliny, a u jednego psa wydzielanie obu amin. U 9 zwierząt nie stwierdzono wydzielania do krwiobiegu uchwytnych ilości katecholamin,
- 3/ wzrost sekrecji katecholamin nie był związany ze spadkiem ciśnienia tętniczego, ani ze zmniejszeniem zawartości tlenu we krwi krążącej,
- 4/ wydzielaniu adrenaliny we wczesnym okresie doświadczalnego zawału serca towarzyszyło w większości przypadków pojawienie się zaburzeń rytmu.

II. Badania morfologiczne i enzymohistochemiczne

1. W preparatach histologicznych barwionych hematoksyliną i eozyną stwierdzono:

- a/ u zwierząt które stanowiły kontrolę metody - obraz prawidłowy,
- b/ w grupie 23 zwierząt, którym podwiązano tętnicę wieńcową obserwowano w obrębie niedokrwionego mięśnia zwiększenie kwasochłonności włókien mięśniowych oraz zatarcie prążkowania. Zmiany te uwidoczniły się u 16 zwierząt tej grupy, przy czym nie stwierdzono zależności między występowaniem powyższych zmian a wydzielaniem katecholamin w okresie obserwacji. W preparatach ze ściany tylnej lewej komory obraz histologiczny mięśnia był u wszystkich zwierząt prawidłowy,
- c/ nie stwierdzono zmian w preparatach histologicznych sporządzonych z wycinków serca zwierząt otrzymujących adrenalinę.

2. We wszystkich badanych wycinkach stwierdzono spadek zawartości glikogenu. Dotyczyło to zarówno zwierząt u których nie wywoływano zawału, jak i tych, którym podwiązano tętnicę wieńcową.

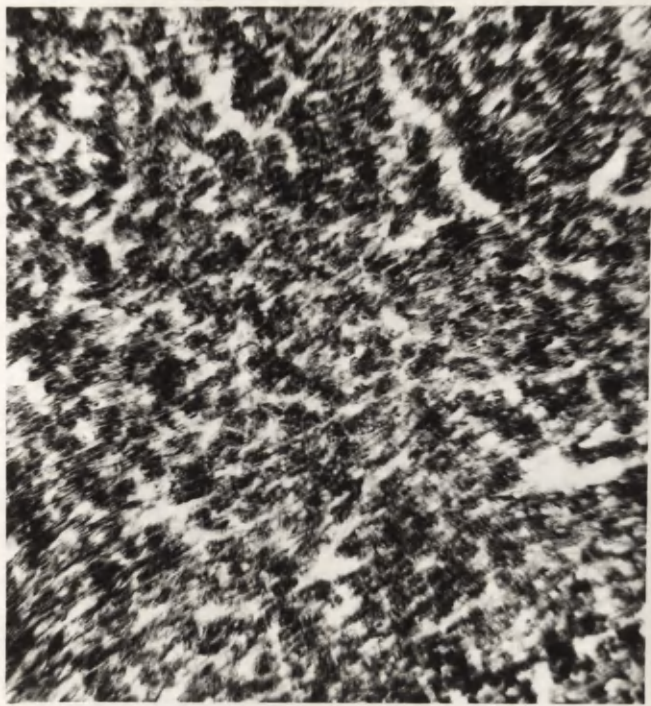
3. Aktywność ATPazy błon komórkowych i ATPazy mitochondrialnej pozostawała niezmienną po dwóch godzinach od podwiązania tętnicy, niezależnie od wydzielania katecholamin, jak również prawidłowa była u zwierząt otrzymujących wlew adrenaliny.

4. Słabą aktywność enzymatyczną fosfatazy kwaśnej stwierdzono w preparatach pochodzących ze ściany tylnej lewej komory u zwierząt z zawałem, a także w wycinkach serca zwierząt otrzymujących wlew adrenaliny. Odczyn na fosfatazę kwaśną nie ulegał wzmożeniu w warunkach trwającego 2 godziny niedokrwienia badanej tkanki.

5. Wysoka aktywność fosfatazy zasadowej wykrywana w śródbłonku naczyń włosowatych nie ulegała zmianie w obrębie niedokrwionego mięśnia serca.

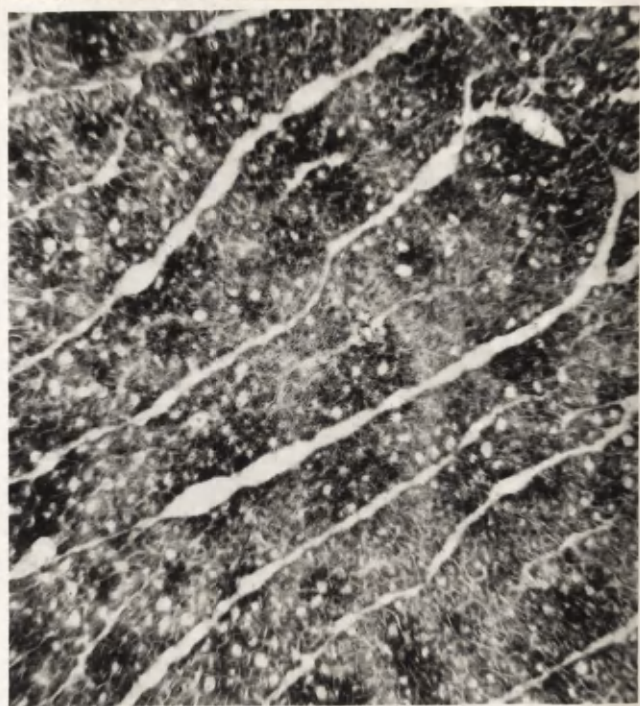
6. Aktywność esteraz niespecyficycznych nie ulegała zmianie u większości zwierząt, jakkolwiek w niektórych preparatach z miejsca zawału obserwowano niewielkie zmniejszenie intensywności odczynu.

7. Największe zmiany stwierdzono w aktywności enzymatycznej dehydrogenaz - mleczanowej i bursztynianowej. Celem dokładniejszej oceny zmian aktywności tych enzymów przeprowadzono trójstopniową klasyfikację intensywności reakcji w odniesieniu do odczynu w prawidłowym mięśniu serca. Kryteria podziału odczynu enzymatycznego na poszczególne stopnie aktywności przedstawiają się następująco:



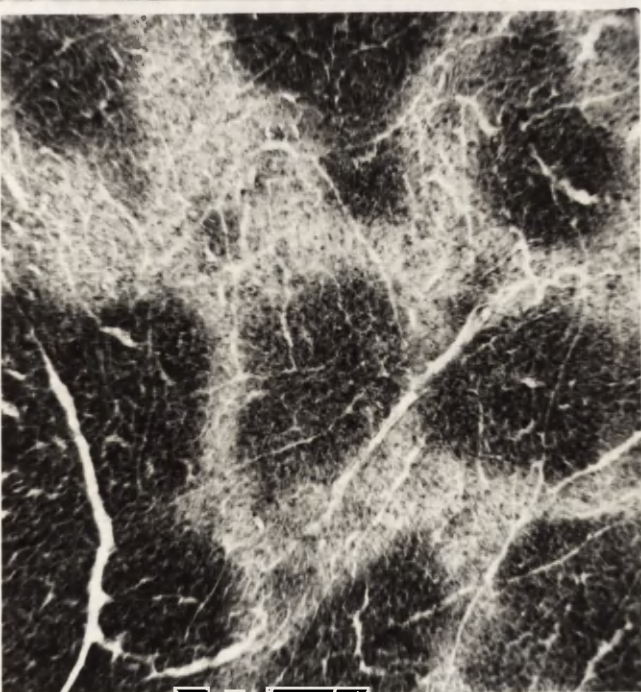
Fot.1

Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej w zdrowym mięśniu serca /+++/. Obfite skupienia formazanu w obrębie włókien mięśniowych. Reakcja enzymatyczna występuje pod postacią zlewających się ze sobą ciemnoniebieskich ziarnistości /x 100/



Fot.2

Pierwszy stopień spadku aktywności dehydrogenazy bursztynianowej /++/. Drobne ogniska zmniejszenia aktywności enzymu rozproszone wśród włókien mięśniowych wykazujące prawidłowy odczyn /x 100/



Fot.3

II stopień spadku aktywności /+/. Ogniskowy spadek aktywności obejmujący większą ilość włókien mięśniowych. Odczyn na dehydrogenazę bursztynianową /x 100/



Fot.4

III stopień spadku aktywności dehydrogenazy bursztynianowej /o/. Rozlany spadek aktywności enzymu aż do całkowitego zaniku /x 100/

Ocena preparatów według powyższych kryteriów i zestawienie wyników badań wykazały zależność aktywności badanych dehydrogenaz od wydzielania katecholamin po podwiązaniu tętnicy wieńcowej

U zwierząt, u których podwiązanie tętnicy nie wywołało wydzielania uchwytnych ilości katecholamin, stwierdzono niewielki spadek aktywności dehydrogenaz w obrębie niedokrwionego mięśnia serca, dotyczący zwłaszcza dehydrogenazy mleczanowej. Aktywność obu badanych dehydrogenaz była w obrębie tylnej ściany serca tych zwierząt niezmienną. Aktywność odżyznu enzymatycznego u zwierząt tej grupy ilustruje tabela 3.

T a b e l a III.

AKTYWNOŚĆ DEHYDROGENAZ W MIĘŚNIU SERCA ZWIERZĄT
BEZ KATECHOLAMINEMII POZAWAŁOWEJ

Nr doświadczenia		8	10	11	13	15	18	19	23	25
OBSZAR ZAWAŁU	Dh. mlec	++	+++	++	++	++	+++	++	++	+
	Dh. burszt	+++	++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++
SCIANA TYLNA	Dh. mlec	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
	Dh. burszt	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Czas obserwacji (godz)		2	2	2	2	2	2	2	2	2

W wycinkach pochodzących od zwierząt, u których stwierdzono wydzielanie adrenaliny, obserwowano wybitny spadek aktywności dehydrogenaz w mięśniu serca poniżej miejsca podwiązania tętnicy, niezależnie od ilości wydzielanych katecholamin. Wyrażał się on zanikiem aktywności dehydrogenazy mleczanowej u większości badanych zwierząt i zmniejszeniem aktywności dehydrogenazy bursztynianowej, odpowiadającym II stopniowi zmian według przyjętej klasyfikacji. Zestawienie intensywności reakcji enzymatycznej

u zwierząt wydzielających adrenalinę po zawale przedstawia tabela IV.

T a b e l a IV

AKTYWNOŚĆ DEHYDROGENAZ W MIĘSIU SERCA
ZWIERZĄT Z ADRENALINIĄ POZAWĄŁOWĄ

Nr. doświadczenia	3	5	7	9	12	14	16	17	20	21	22	24	
µg. Adrenaliny /min	1	6	2	8	4	1	1	3	2	4	4	2	
ug. Adrenaliny/kg/min	0,12	0,50	0,19	1,20	0,30	0,15	0,10	0,37	0,30	0,60	0,40	0,24	
Obszar zawału	Dh. mlecz	0	0	0	+	++	0	+	0	0	+	0	0
	Dh. burszt.	+	+	+	+	++	+	+	+	+	++	0	++
Ściana tylna	Dh. mlecz	+	+	+	+	++	+	++	+	+	+	++	+
	Dh. burszt.	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++
Czas obserwacji (godz)	2	2	2	2	1h15'	2	2	2	2	2	2	1h30'	

U zwierząt wydzielających noradrenalinę stwierdzono niewielki, drobnoogniskowy spadek aktywności obu dehydrogenaz /T stopień zmian/ w obrębie niedokrwionego mięśnia.

Ciągła 2-godzinna infuzja adrenaliny wywoływała w mięśniu serca zmiany podobne do obserwowanych w obrębie ściany tylnej lewej komory u zwierząt wydzielających spontanicznie adrenalinę. Stwierdzono drobnoogniskowy spadek aktywności i zmienną intensywność zabarwienia, wynikającą ze skupienia formazanu w obrębie mitochondriów o zmienionym kształcie. Intensywność reakcji enzymatycznej u zwierząt otrzymujących ciągły wlew adrenaliny ilustruje tabela V.

T a b e l a V

AKTYWNOŚĆ DEHYDROGENAZ W MIĘSNIU
SERCA ZWIERZĄT BEZ ZAWAŁU PO 2 GODZINNEJ
INFUZJI ADRENALINY

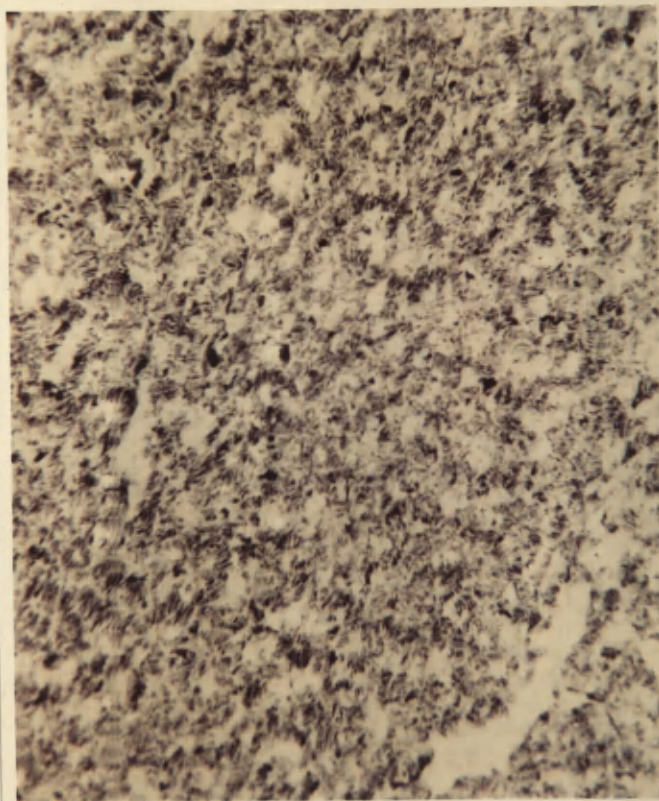
Nr. doświadczenia	26	27	28	29	30
Adrenalina egz. µg/kg/min	0,18	0,22	0,22	0,22	0,20
Dh. mlecz	+	+	+	++	++
Dh. burszt.	+	+	++	++	++

Podsumowaniem powyższych obserwacji jest zestawienie wyników odczynu enzymatycznego w zależności od wydzielenia adrenali po zawale i podawania adrenaliny egzogennej./Tabela VI/.

T a b e l a VI

AKTYWNOŚĆ DEHYDROGENAZ W POSZCZEGÓLNYCH GRUPACH DOŚW.

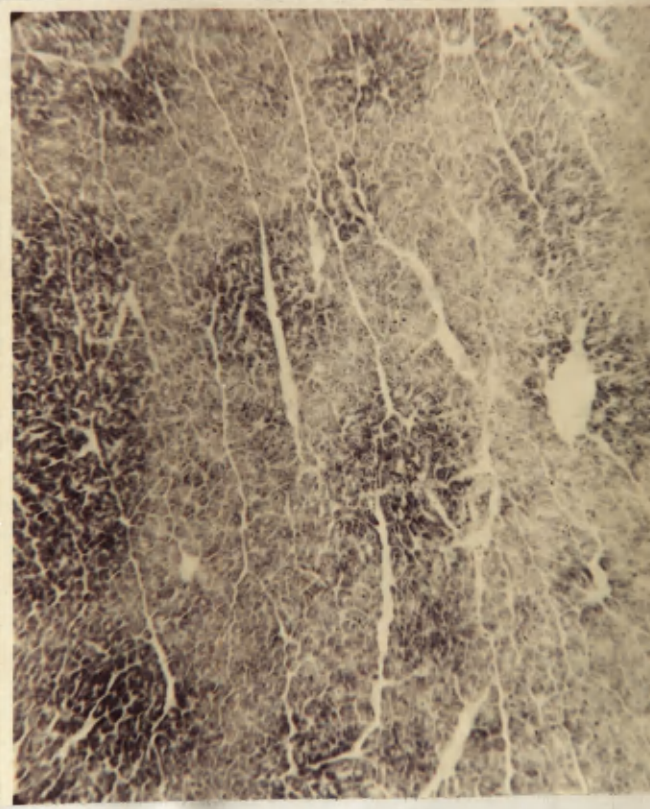
Ilość zwierząt	RODZAJ EKSPERYMENTU		Rodzaj odczynu	ZMIANY HISTOENZYMATYCZNE (ilość zwierząt na grupę)			
				akt.praw. +++	st I ++	st II +	st III 0
9	ZAWAŁ BEZ ADRENALINEMII	MIEJSCE ZAWAŁU	Dh. m	2	6	1	
			Dh. b	6	3		
		ŚCIANA TYLNA	Dh. m	8	1		
			Dh. b	9			
12	ZAWAŁ Z ADRENALINEMIA	MIEJSCE ZAWAŁU	Dh. m		1	3	8
			Dh. b		3	8	1
		ŚCIANA TYLNA	Dh. m		3	9	
			Dh. b		11	1	
5	ADRENALINEMIA EGZ. BEZ ZAWAŁU	ŚCIANA PRZEDNIA	Dh. m		2	3	
			Dh. b		3	2	



Fot.5

Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej w sercu psa nie wydzielającego katecholamin podczas 2-godzinnej obserwacji po podwiązaniu tętnicv.

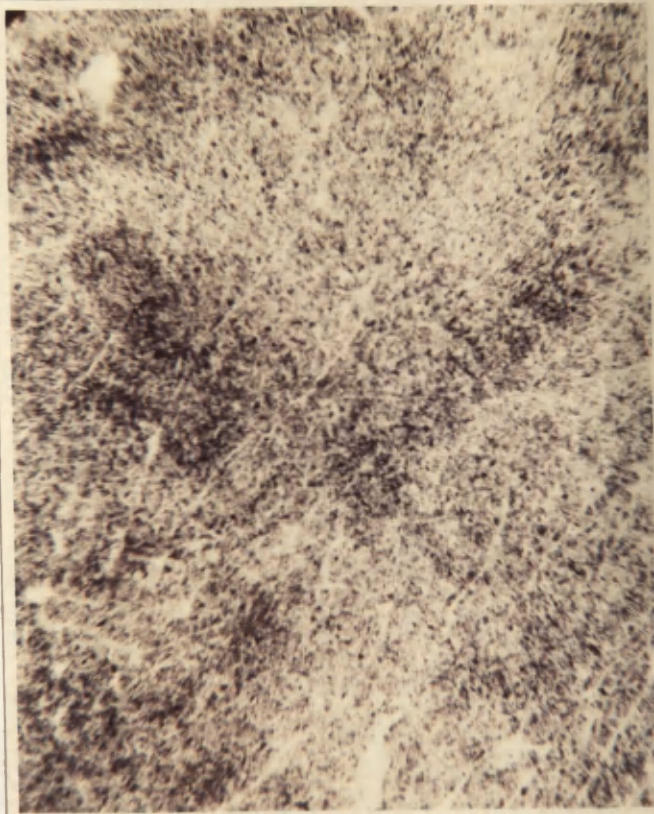
Fot.6



Fot.7

Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej w sercu psa wydzielającego do krwi adrenaline przez 2 godziny po podwiązaniu tętnicy wieńcowej

Fot.8



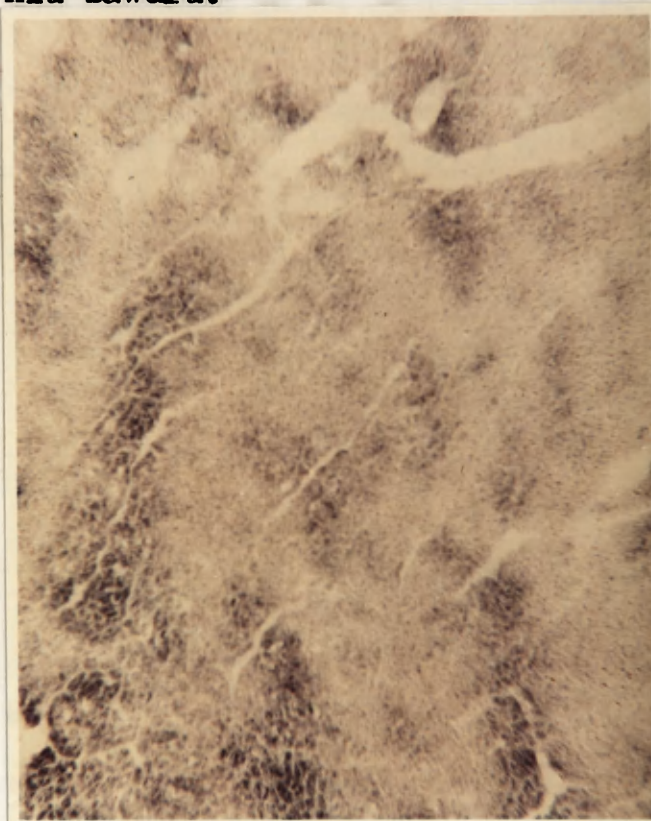
Fot.9

Aktywność dehydrogenazy mleczanowej w sercu psa, u którego nie stwierdzono wydzielania uchwytanych ilości katecholamin po dokonaniu zawału.



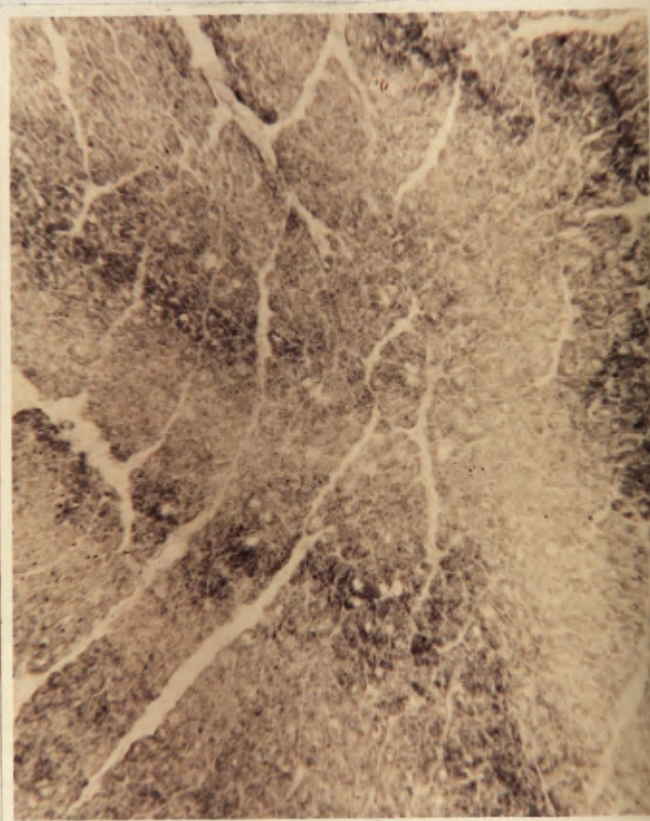
Fot.10

Aktywność dehydrogenazy mleczanowej w sercu psa, u którego nie stwierdzono wydzielania uchwytanych ilości katecholamin po dokonaniu zawału.



Fot.11

Odczyn na dehydrogenazę mleczanową w sercu psa wydzielającego adrenalinę po podwiązaniu tętnicy wieńcowej.

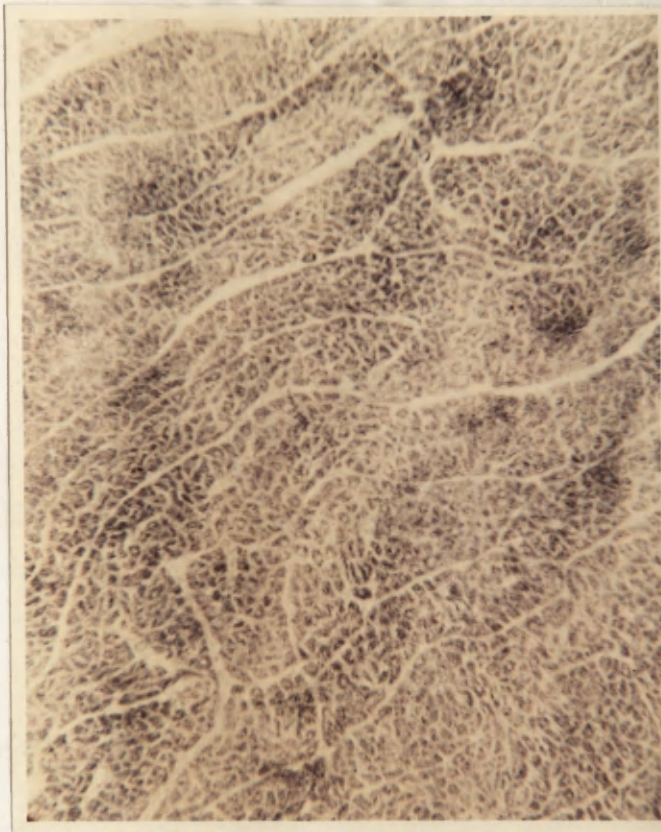


Fot.12

Odczyn na dehydrogenazę mleczanową w sercu psa wydzielającego adrenalinę po podwiązaniu tętnicy wieńcowej.

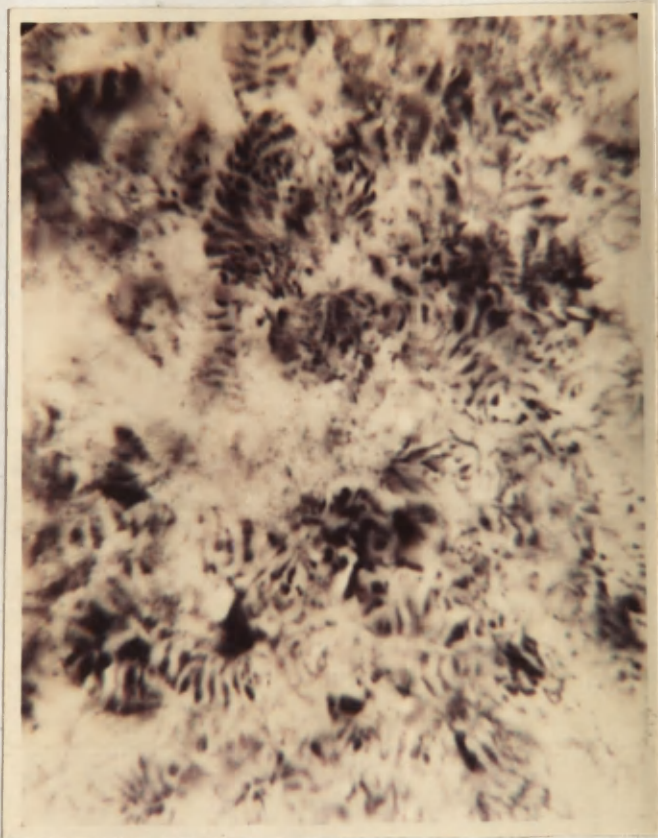
Opis fotografii

- Fot.5. Drobnogniskowy spadek aktywności dehydrogenazy bursztynianowej w mięśniu serca poniżej podwiązki na tętnicy wieńcowej /x 100/.
- Fot.6. Prawidłowa aktywność enzymu poza obszarem niedokrwienia. Odczyn na dehydrogenazę bursztynianową /x 100/.
- Fot.7. Preparat z miejsca poniżej podwiązki na tętnicy wieńcowej widoczny rozkłany spadek aktywności dehydrogenazy bursztynianowej /x 100/.
- Fot.8. Fragment mięśnia ze ściany tylnej lewej komory. Pomimo tego, że znajdował się on poza obszarem niedokrwienia, intensywność odczynu enzymatycznego dehydrogenazy bursztynianowej uległa zmniejszeniu /x 150/.
- Fot.9. Preparat z niedokrwionej na skutek podwiązania tętnicy części mięśnia serca. Widoczny ogniskowy spadek aktywności dehydrogenazy mleczanowej.
- Fot.10. Równomierny odczyn w obrębie ściany tylnej serca /x 100/.
- Fot.11. Wybitny spadek aktywności dehydrogenazy mleczanowej i miejscami całkowity jej zanik w niedokrwionej części mięśnia /x 150/.
- Fot.12. Analogiczne zmiany w mięśniu serca poza obszarem niedokrwienia. Odczyn na dehydrogenazę mleczanową /x 150/.



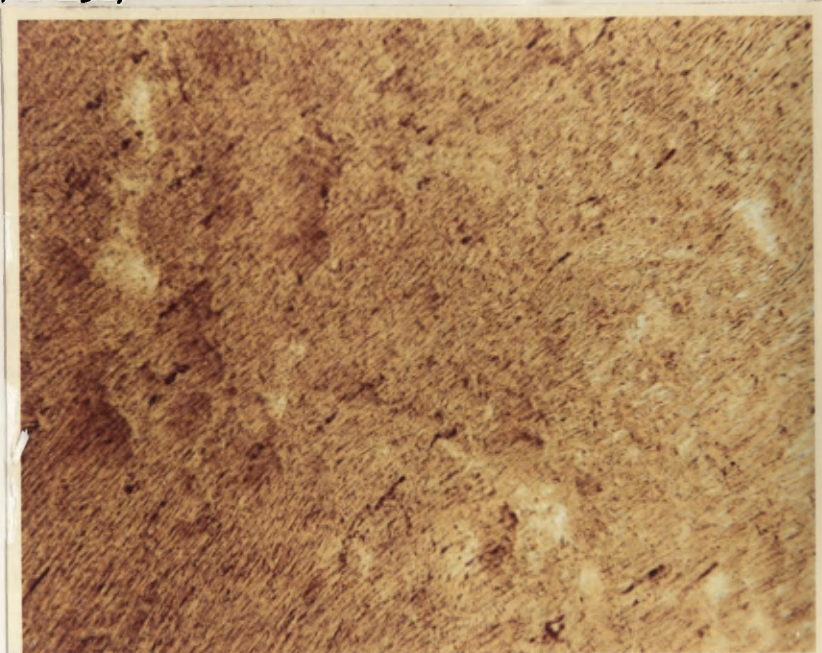
Fot.13

Zmniejszona aktywność dehydrogenazy bursztynianowej u zwierzęcia bez zawaku po podaniu adrenaliny w ilości odpowiadającej wydzielaniu po podwiązaniu tętnicy wieńcowej /x 150/



Fot.14

Ten sam preparat w powiększeniu 800 razy. Obfite strąty formazanu w obrębie mitochondriów o zmienionym kształcie.



Fot.15

Odczyn na esterazy niespecyficzne. Preparat z obszaru niedokrwienia w 2 godziny po podwiązaniu tętnicy wieńcowej /x 100/.

Przeprowadzone badania morfologiczne i enzymahistochemiczne wykazały:

- 1/ zwiększoną kwasochłonność włókien mięśniowych i zatarcie prążkowania w preparatach histologicznych z obszaru niedokrwienia,
- 2/ niezmienną aktywność ATPazy mitochondrialnej i ATPazy błon komórkowych oraz fosfatazy zasadowej u wszystkich badanych zwierząt,
- 3/ ocena aktywności esteraz niespecyficznych wykazała zmniejszenie intensywności odczynu w części wycinków serca z obszaru zawału, niezależnie od wydzielania katecholamin po podwiązaniu tętnicy,
- 4/ spadek aktywności dehydrogenazy mleczanowej i bursztynianowej w mięśniu serca niedokrwionym przez podwiązanie tętnicy był wybitny u zwierząt wydzielających adrenalinę po zawale w porównaniu ze zwierzętami nie wydzielającymi katecholamin. U zwierząt ze wzmożoną sekrecją adrenaliny spadek aktywności dehydrogenaz stwierdzano także w tej części serca, która znajdowała się poza obszarem niedokrwienia. Podawanie adrenaliny egzogennej w ilości odpowiadającej wydzielaniu po zawale, doprowadzało do analogicznych zmian w zdrowym mięśniu serca. Zestawienie wyników przeprowadzonych badań morfologicznych przedstawia tabela VII. Podział na grupy doświadczalne oraz zachowanie się katecholamin i rytmu serca u poszczególnych zwierząt przedstawiono w tabeli VIII.

Zestawienie wyników badania histologicznego i enzymohistochemicznego

Grupa doświadczalna	Rodzaj odczynu Miejsce badane	H + E	ATP aza	Esterazy niespecy- ficzne	Fosfata- za zasadowa	Fosfata- za kwaśna	Dehydrogena- za mleczanowa x	Dehydrogena- za bursztyniano- wa x	Obserwacja poziomu ka- techolamin we krwi
I Podwiązanie tętnicy wieńcowej	Obszar niedokrwie- nia	Zwiększo- na kwa- sochłon- ność włókien zatarcie prążko- wania	aktyw- ność prawi- dłowa	ogniskowy spadek aktywności	aktywność prawidło- wa	Niska aktyw- ność	rozlany spadek aktywności		wydzielanie katecholamin po podwiązaniu tętnicy
							drobnoogniskowy spadek aktywności		brak wydziela- nia uchwytnych ilości katecho- lamin
	poza obsza- rem niedokrwie- nia	obraz prawi- dłowy	aktyw- ność prawi- dłowa	aktywność prawidło- wa	aktywność prawidło- wa	niska aktyw- ność	ogniskowy spadek aktywności	wydzielanie	brak wydzie- lania
II Podawanie adrenali- ny bez podwzię- cia tętnicy	przednia ściana lewej komory	obraz prawi- dłowy	aktyw- ność prawi- dłowa	aktywność prawidło- wa	aktywność prawidło- wa	niska aktyw- ność	ogniskowy spadek aktywności		adrenalinemia egzogenna
III Kontrola metody	przednia ściana lewej komory	obraz prawi- dłowy	aktyw- ność prawi- dłowa	aktywność prawidło- wa	aktywność prawidło- wa	niska aktyw- ność	aktywność prawidłowa		bez wydziela- nia katecho- lamin

x - Aktywność badanych dehydrogenaz u zwierząt poszczególnych grup doświadczalnych przedstawia szczegółowo tabela VI.

T a b e l a VIII

Ocena poziomu katecholamin i zachowanie się rytmu serca u zwierząt w poszczególnych grupach doświadczalnych

Nr dośw.	Rodzaj eksperymentu	Waga /w kg/ oraz płeć	Wydzielanie katecholamin				Zaburzenia rytmu	Czas obserwacji /w godz/	
			Adrenalina		Noradrenalina				
			µg/min	µg/kg/min	µg/min	µg/kg/min			
1	Kontrola	10 ♂	-	-	-	-	/ - /	2	
2	metody	9 ♀	-	-	-	-	/ - /	2	
3	wielocowej	8,5 ♂	1	0,12	-	-	/ - /	2	
4		11 ♂	-	-	4	0,36	/ - /	2	
5		12 ♂	6	0,50	-	-	/ - /	2	
6		8,8 ♂	-	-	3	0,34	/ - /	2	
7		10,8 ♀	2	0,19	-	-	/ - /	2	
8		8,4 ♀	-	-	-	-	/ - /	2	
9		6,5 ♂	8	1,2	-	-	+	2	
10		6,7 ♂	-	-	-	-	+	2	
11		10 ♂	-	-	-	-	+	2	
12		tętnicy	13 ♂	4	0,30	-	-	+++ t.v. fibril.	1 godz 15 min
13		Podwiązanie	11 ♂	-	-	-	-	/ - /	2
14			6,5 ♂	1	0,15	2	0,3	+	2
15	8 ♀		-	-	-	-	+	2	
16	10 ♂		1	0,1	-	-	++	2	
17	8 ♂		3	0,37	-	-	+	2	
18	10 ♂		-	-	-	-	/ - /	2	
19	7,2 ♂		-	-	-	-	/ - /	2	
20	6,8 ♀		2	0,3	-	-	+	2	
21	8,5 ♀		4	0,6	-	-	+	2	
22	10 ♀		4	0,4	-	-	+++ t.v.	2	
23	10 ♂		-	-	-	-	/ - /	2	
24	8,5 ♂		2	0,24	-	-	+++ t.v. fibril.	1 godz 30 min	
25	7,5 ♀		-	-	-	-	/ - /	2	
26	Adrenalinemia egzogenna		Ilość podanej adrenaliny /µg/kg/min/						
27		7,6 ♀		0,18			/ - /	2	
28		9 ♂		0,22			/ - /	2	
29		8,3 ♂		0,22			/ - /	2	
30		8,5 ♀		0,22			/ - /	2	
		6,9 ♂		0,20			/ - /	2	

Objaśnienia znaków: /-/- bez zaburzeń rytmu
+ do 10 skurczów dodatkowych na minutę
++ do 20 skurczów dodatkowych na minutę
+++ powyżej 20 skurczów dodatkowych na minutę
t.v. częstoskurcz komorowy
fibril. migotanie komór

O m ó w i e n i e w y n i k ó w

Wyniki przeprowadzonych badań należy rozpatrywać w oparciu o dane piśmiennictwa dotyczące dwóch zasadniczych zagadnień, połączonych w niniejszej pracy przez jej założenia i metodykę. Jeden problem - to wpływ katecholamin na obraz morfologiczny serca, drugi - to zmiany morfologiczne i histoenzymatyczne powstające w sercu we wczesnym zawale.

Badając te zmiany na naszym materiale doświadczalnym stwierdzono, że zarówno obraz morfologiczny /53,93/ jak i aktywność enzymów takich jak ATPaza i fosfataza zasadowa odpowiadają danym piśmiennictwa dotyczącym intensywności tych odczynów we wczesnym zawale serca /27,42,50/. Badając reakcję enzymatyczną dehydrogenazy mleczanowej i bursztynianowej po upływie 2 godzin od podwiązania tętnicy wieńcowej, można się spodziewać uchwytanego spadku aktywności tych enzymów /9,65,89,93,109/. W jednakowych dla wszystkich zwierząt warunkach doświadczalnych spadek ten był w tym samym czasie wyraźniejszy u zwierząt wydzielających adrenalinę. Wydzielanie tej aminy nie miało natomiast wpływu na aktywność enzymów będących późnym wskaźnikiem niedotlenienia tkanek, jak ATPaza, esterazy i fosfataza zasadowa.

Z zachowania się aktywności badanych dehydrogenaz można wnioskować o aktualnym stopniu hipoksji mięśnia serca. Wydaje się, że większe nasilenie zmian enzymatycznych w obszarze zamkniętego naczynia u zwierząt wydzielających adrenalinę, w porównaniu z niewydzielającymi, wynika z faktu, że do niedotlenienia wywołanego zamknięciem naczynia tętniczego dołączył się wpływ endogennej adrenaliny.

Dowodów na powstawanie niedotlenienia i marwicy mięśnia serca pod wpływem katecholamin dostarcza całokształt badań omówionych we wstępie pracy. Jak wynika z badań morfologicznych

do powstania ogniskowej martwicy w mięśniu serca doprowadzały aminy sympatykomimetyczne podawane w dawkach znacznie większych od ilości katecholamin wydzielanych, lub podawanych zwierzętom w naszym modelu doświadczalnym /26,83,86/.

Rozległość stwierdzanych zmian martwiczych była proporcjonalna do stosowanych dawek, z których najniższe stosowane przez autorów dawki - rzędu 1-2 mg/kg /83/ - przewyższały wielokrotnie ilość katecholamin w naszych doświadczeniach, wynosząc przeciętnie 0,4 μ g/kg.

Z przeprowadzonych doświadczeń wynika, że ta ilość katecholamin - zbyt mała aby wywołać zaawansowaną martwicę tkanki, widoczną w badaniu rutynowym, może być czynnikiem decydującym o powstaniu wczesnych objawów martwicy, uchwytnych w badaniu enzymohistochemicznym. Zmiany te, wyrażające się spadkiem aktywności dehydrogenazy mleczanowej i bursztynianowej, ~~widoczniły~~ widoczniły się w mięśniu uprzednio zdrowym pod wpływem wlewu adrenaliny. U zwierząt, którym podwiązano tętnicę wieńcową, wydzielające się katecholaminy doprowadziły do nasilenia zmian enzymatycznych w niedokrwionym fragmencie serca i wywołały je w obrębie tylnej ściany - poza obszarem zawału. Badając przy pomocy metod histochemicznych i mikroskopu elektronowego powstawanie zmian w sercu pod wpływem amin sympatykomimetycznych, autorzy zwracają uwagę na początkowy wzrost aktywności dehydrogenazy bursztynianowej /26/. To nasilenie odczynu wyraża się wybitnym nagromadzeniem formazanu w obrębie obrzmiałych mitochondriów. Wyprzedza ono spadek aktywności enzymu, a wiąże się prawdopodobnie z pobudzającym wpływem amin na metabolizm tlenowy serca. Można przypuszczać, że podobne zmiany obserwowane w części naszych preparatów, powstały w takim mechanizmie.

Badając przyczyny spadku aktywności enzymów w niedotlenionej tkance, autorzy wskazują na udział czynników takich, jak nagro-

madzenie metabolitów, brak aktywatorów i energii niezbędnej do resyntezy enzymów/93/. Prawdopodobne wydaje się skojarzenie tych czynników. Istotną rolę odgrywa zwiększona przepuszczalność błony komórkowej /47/. Ze zjawiskiem tym wiązać można wzrost aktywności dehydrogenazy mleczanowej we krwi we wczesnym zawale serca /20,47/, wykorzystany jako wskaźnik w diagnostyce i ocenie rozległości martwicy /51,111/.

Czynnikiem, który należy brać pod uwagę przy wyciąganiu wniosków z badań morfologicznych u psa, jest krążenie oboczne, w różnym stopniu rozwinięte i topograficznie zmienne u poszczególnych zwierząt /48/. W przedstawionym materiale doświadczalnym nie badano połączeń między naczyniami wieńcowymi, umożliwiającymi krążenie oboczne. U zwierząt wydzielających katecholaminy nie obserwowano w żadnym przypadku aktywności enzymatycznej tak wysokiej, jak w mięśni prawidłowo ukrwionym, a takiej można by się spodziewać przy całkowitym obocznym wyrównaniu krążenia. Jeżeli więc istniała możliwość wyrównania ukrwienia na drodze połączeń między naczyniami wieńcowymi - to nie było ono dostateczne. Zależność między wydzielaniem katecholamin a spadkiem aktywności enzymów sugeruje, że czynnikiem decydującym ostatecznie o stopniu utlenienia tkanki były katecholaminy.

Spadek zawartości glikogenu w obszarze niedokrwienia w 2 godziny po podwiązaniu tętnicy wieńcowej jest zrozumiały w świetle danych piśmiennictwa. Większość autorów uważa, że kilka minut po podwiązaniu tętnicy wieńcowej jest okresem czasu wystarczającym do zaobserwowania zmniejszenia ilości glikogenu w niedokrwionym fragmencie mięśnia /9,18,27/. Pewnym utrudnieniem w ocenie spadku glikogenu w niedokrwionym mięśni serca jest nierównomierne jego rozmieszczenie w sercu prawidłowym /53/. Jak wynika z badań morfologicznych, a także biochemicznych, adrenalina zmniejsza zawartość glikogenu w tkankach przez aktywację fosfo-

rylaz i nasilenie glikogenolizy /44/. Spadek zawartości glikogenu pod wpływem adrenaliny wyprzedza wywołane przez nią inne zmiany histoenzymatyczne i morfologiczne /26/. Wydaje się jednak, że zmniejszenie ilości glikogenu stwierdzone w naszych badaniach należy wiązać raczej z techniką pobierania materiału /9,53/, gdyż zmiany te stwierdzono we wszystkich wycinkach serca. Wydaje się, że należy brać pod uwagę możliwość zużycia glikogenu w pobawionym dopływu krwi, a jeszcze pracującym sercu - jakkolwiek opinie badaczy odnośnie tego zagadnienia nie są jednomyślne /13/.

Trudny do wytłumaczenia jest spadek aktywności esteraz niespecyficznych, obserwowany w miejscu zawału w niektórych badanych wycinkach i niezależny od wydzielania katecholamin. Jak podaje piśmiennictwo, uchwytnie zmniejszenie aktywności esteraz w mięśniu serca występuje dopiero w późnym okresie niedokrwienia, a niezmienną aktywność tych enzymów utrzymuje się przez okres kilkunastu godzin /50/.

Aktywność fosfatazy kwaśnej oznaczano opierając się na doniesieniach, które podają zwiększenie aktywności tego enzymu w warunkach niedotlenienia tkanek /10,71/. W naszym materiale, podobnie jak w badaniach innych autorów /65/, nie zaobserwowano tego zjawiska, co wiązać można z wyjściową niską aktywnością tego enzymu w prawidłowym mięśniu serca.

Reasumując omówione wyniki badań należy podkreślić następujące fakty:

- 1/ pod wpływem endogennych katecholamin nasilają się zmiany histoenzymatyczne wywołane zamknięciem naczynia wieńcowego,
- 2/ spadek aktywności badanych dehydrogenaz - mleczanowej i bursztynianowej następuje również w nieobjętej zawałem części serca,
- 3/ powstające pod wpływem katecholamin zmiany histoenzymatyczne dotyczą wyłącznie enzymów będących wczesnym wskaźnikiem nie-

dotlenienia i nie znajdują odbicia w obrazie morfologicznym serca.

Jakkolwiek celem badań była ocena zależności zmian w mięśniu serca od wydzielania obu katecholamin, obserwacje i wnioski z pracy dotyczą szczególnie adrenaliny. Wynika to z faktu, że po podwiązaniu tętnicy wieńcowej wydzielanie tej aminy obserwowano w większości przypadków, co zgodne jest z wynikami dotychczasowych badań /103/. U części badanych zwierząt nie obserwowano zwiększonego wydzielania katecholamin po podwiązaniu tętnicy wieńcowej. Opierając się na badaniach, podkreślających indywidualny charakter i nasilenie odczynu hormonalnego u ludzi /16/, można przypuszczać istnienie podobnej, indywidualnej wrażliwości u poszczególnych zwierząt, warunkującej wydzielanie katecholamin w przebiegu zawału doświadczalnego.

Nasze obserwacje potwierdziły fakt, że wydzielana w nadmiarze do krwi adrenalina pochodzi głównie, jeżeli nie wyłącznie, z nadnerczy. Nie wyklucza to jednak możliwości uwalniania katecholamin do krwi z mięśnia serca, co stwierdzali inni autorzy po podwiązaniu tętnicy wieńcowej /57/, a czego na naszym modelu doświadczalnym nie badano.

W przeprowadzonych badaniach potwierdzono zaobserwowaną uprzednio zależność między występowaniem zaburzeń rytmu, a wydzielaniem katecholamin we wczesnym okresie doświadczalnego zawału serca /104/. Z badań nad mechanizmem powstawania zaburzeń rytmu serca wynika, że miejscowa hipoksja mięśnia sprzyja zwiększeniu pobudliwości i predysponuje lub współdziała w doprowadzaniu do zaburzeń rytmu /39/. Można więc sądzić, że zaburzenia rytmu obserwowane przez nas we wczesnym okresie zawału doświadczalnego wynikają nie tylko z bezpośredniego wpływu adrenaliny na czynność elektryczną serca, ale także z wywołanych przez tę aminę zmian tkankowych.

Jak wynika z badań nad zjawiskami bioelektrycznymi zachodzącymi w wyosobnionym włóknie mięśnia serca, katecholaminy zwiększają zdolność wytwarzania bodźców w układzie automatycznym, między innymi przez obniżenie progu pobudliwości i zmianę przebiegu procesu repolaryzacji /45/. Zwiększają one pobudliwość niższych ośrodków układu automatycznego, stwarzając warunki dla powstania skurczów dodatkowych, trzepotania lub migotania. Badając mechanizm powstawania zaburzeń rytmu serca po zawałe, autorzy postulują, że utrata potasu z niedokrwionego obszaru serca stanowi jeden z czynników odpowiedzialnych za zaburzenia rytmu po podwiązaniu tętnicy wieńcowej /40,79/. Z innych badań wiadomo, że podawanie adrenaliny prowadzi do uwalniania tego kationu z mięśnia serca /80/, z czym także wiązać można jej arytmogenne działanie.

O niewątpliwej roli adrenaliny w doprowadzaniu do zaburzeń rytmu serca w przebiegu zawału świadczy fakt, że substancje blokujące swoiście beta-receptory adrenergiczne skutecznie przeciwdziałają wywołanym przez tę aminę zaburzeniom rytmu. Dotyczy to zarówno adrenaliny egzogennej, podawanej po podwiązaniu tętnicy wieńcowej /59/, jak i wydzielanej spontanicznie w zawałe doświadczalnym /104/.

Jakkolwiek warunki badania doświadczalnego dalekie są od spotykanych w patologii ludzkiej, zestawienie otrzymanych wyników z obserwacjami klinicznymi i anatomopatologicznymi upoważnia do przypuszczeń, że wydzielanie katecholamin może stanowić jeden z czynników wpływających na przebieg zawału i tłumaczących dysproporcję między obrazem klinicznym zawału a wynikami autopsji.

W n i o s k i

1. Obserwacja poziomu katecholamin we krwi krążącej we wczesnym okresie doświadczalnego zawału serca potwierdziła występowanie zwiększonego wydzielania adrenaliny do krwi u większości badanych zwierząt.
2. Potwierdzono istnienie korelacji między wydzielaniem katecholamin a występowaniem zaburzeń rytmu serca po zawale.
3. Wykazano, że wydzielanie adrenaliny wpływa na zmiany histoenzymatyczne w mięśniu serca, będące wczesnym wskaźnikiem niedotlenienia; nasila je w obszarze zawału i doprowadza do ich powstania w obrębie nieobjętej zawałem części serca. Zmiany te nie znajdują wyraźnego odbicia w obrazie histologicznym.
4. Przeprowadzone badania upoważniają do stwierdzenia, że odczyn adrenergiczny we wczesnym zawale, wyrażający się wydzielaniem do krwi katecholamin, pogarsza stan biologiczny mięśnia serca.
5. Wystąpienie tego odczynu we wczesnym okresie zawału serca u ludzi mogło by stanowić jeden z czynników wpływających na przebieg zawału i tłumaczących dysproporcję między obrazem klinicznym a wynikiem badania anatomopatologicznego.



P i ś m i e n n i c t w o

1. Achor, R.W.P., Futch, W.D., Burchell, H.B., Edwards, J.E. /1956/ The fate of patients surviving acute myocardial infarction. *A.M.A.Arch.Int.Med.*, 98:162.
2. Adelson, L., Hoffman, W. /1961/ Sudden death from coronary disease. Related to a lethal mechanism arising independently of vascular occlusion or myocardial damage. *J.A.M.A.*, 176:131.
3. Aleksandrow, D., Januszewicz, W., Wocial, B. /1966/ Wydalanie noradrenaliny, adrenaliny oraz kwasu wanilinomigdałowego w moczu w zawale serca. *Pol.Arch.Med.Wewn.*, 36:437.
4. Allison, R.B., Rodriguez, F.L., Higgins, E.A. jr, Leddy, J.P., Abelman, W., H., Ellis, L.B., Robbins, S.L. /1963/ Clinicopathological correlations in coronary atherosclerosis. *Circulation*, 27:170.
5. Aniczko, S.W., Wiedzeniejewa, Z.I. /1961/ Uszkodzenie mięśnia serca w wyniku drażnienia układu sympatycznego /ros./. *Acta Phys.Acad.Sci.Hung.*, 19:9.
6. Armitage, A.K., Vane, J.R. /1964/ A sensitive method for the assay of catechol amines. *Brit.J.Pharm.Chemother.*, 22:204.
7. Askanas, Z., Ceremużyński, L., Litwin, J., Rywik, H., Semerau-Siemianowski, Z., Stopczyk, M. /1965/ The effect of noradrenaline on the coronary blood flow and on the blood supply of the cardiac muscle. *Pol.Med.J.*, 4:1008.
8. Bajusz, E., Jasmin, G. /1963/ Comparative morphogenesis and enzyme histogenesis of some occlusive and metabolic cardiac necroses. *Rev.Can.Biol.*, 22:181.
9. Bajusz, E., Jasmin, G. /1964/ Histochemical studies on the myocardium following experimental interference with coronary circulation in the rat. *Acta Histochem.*, 18:222.

10. Becker, W.H., Barron, K.D./1961/ The cytochemistry of anoxic and anoxic-ischemic encephalopathy in rats. *Amer. J. Pathol.*, 38:161.
11. Berkowitz, D., Croll, M.W./1962/ Serum cholesterol, triglycerides and radioactive fat tolerance in coronary artery disease. *Circulation*, 26:646.
12. Biase, G., Labriola, E./1964/ Contributo allo studio della catecolaminemia nell'insufficienza coronarica. *Cardiologia pratica*, 15:511.
13. Bloom, W.L./1956/ Glycogenolysis in the anoxic heart. *Amer. J. Physiol.*, 186:518.
14. Bogdonoff, M.D., Estes, E.H., Harlan, W.R., Trout, D.L., Kirshner, N./1961/ Metabolic and cardiovascular changes during a state of acute central nervous system arousal. *J. Clin. Endocr. Met.*, 20:1333.
15. Braunwald, E., Chidsey, C.A., Harrison, D.C., Gaffney, T.E., Kahler, R.L./1963/ Studies on the function of the adrenergic nerve endings in the heart. *Circulation*, 28:958.
16. Byers, S.O., Friedman, M., Rosenman, R.H., Freed, S.C./1962/ Excretion of 3-methoxy-4-hydroxymandelic acid in men with behaviour pattern associated with high incidence of coronary artery disease. *Fed. Proc.*, 21:99.
17. Chappel, C.J., Rona, G., Balazs, T., Gaudry, R./1959/ Comparison of cardiotoxic action of certain sympathomimetic amines. *Can. J. Bioch. Physiol.*, 37:35.
18. Claufield, J., Klionsky, B./1959/ Myocardial ischemia and early infarction. An electron microscopic study. *Amer. J. Pathol.*, 25:489.
19. Mc Donald, L./1960/ Blood coagulation, thrombosis and atherosclerosis in ischaemic heart disease. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 53:35.

20. Dubach, V.C., Orelli, M./1963/ Diagnostische Bedeutung der Hitzenstabilen Isoenzymfraktion der Lactatdehydrogenase beim Herzinfarkt. *Helv. Med. Acta*, 30:585.
21. Elmadjian, F., Hope, J.M., Lamson, E.T./1957/ Excretion of epinephrine and norepinephrine in various emotional states. *J. Clin. Endocr.*, 17:608.
22. Enos, W.F./1962/ Pathology of coronary arteriosclerosis. *Amer. J. Cardiol.*, 9:343.
23. Epstein, F.H. Regulation of major body electrolytes. W książce: Clinical disorders of fluid and electrolyte metabolism. Wyd. M.H. Maxwell, C.R., Kleeman, McGraw-Hill Book Comp., 1962, str. 38.
24. Euler, U.S., Gemzel, C.A., Levi, L., Ström, G./1959/ Cortical and medullary adrenal activity in emotional stress. *Acta Endocrinol.*, 30:567.
25. Fabre, J./1965/. Prognostic et decours de l'infarctus du myocarde. *Schweiz. Med. Wochenschr.*, 95:1553.
26. Ferrans, V.J., Hibbs, R.G., Black, W.C., Weilbaeher, D.G./1964/ Isoproterenol-induced myocardial necrosis. A histochemical and electron microscopic study. *Amer. Heart J.*, 68:71.
27. Fine, G., Morales, A., Scerpella, J.R./1966/ Experimental myocardial infarction. A histochemical study. *Arch. Pathol.*, 82:4.
28. Foord, A.G./1948/ Embolism and thrombosis in coronary heart disease. *J.A.M.A.*, 138:1009.
29. Friedman, M., Rosenman, R.H., Straus, R./1968/ The relationship of behaviour pattern A to the state of the coronary vasculature. *Amer. J. Med.*, 44:525.

30. Friedman, M., StGeorge, S., Byers, S.O., Rosenman, R.H./1960/
Excretion of catecholamines, 17-ketosteroids, 17-hydroxycorticoids and 5-hydroxyindole in men exhibiting a particular behavior pattern /A/ associated with high incidence of clinical coronary artery disease. *J.Clin.Invest.*, 39:758.
31. Gazes, P.C., Richardson, J.A., Woods, E.F./1959/ Plasma catecholamine concentration in myocardial infarction and angina pectoris. *Circulation*, 19:657.
32. Gerola, A., Feinberg, K., Katz, L.N./1959/ Role of catecholamines on energetics of the heart and its blood supply. *Amer.J.Physiol.*, 196:394.
33. Goebel, A., Puchtler, H./1954/ Uber das Verhalten der histochemisch nachweisbaren alkalischen Phosphatase und 5-Nucleotidase im Sauerstoffmangel und Niereninfarkt. *Virchows Archiv*, 326:119.
34. Gollwitzer-Meier, K., Kramer, K., Krüger, E./1936/ Die Wirkung des Adrenalins auf die Energetik des Herzens. *Pflügers Archiv Ges.Physiol.*, 237:639.
35. Gollwitzer-Meier, K., Kroetz, C., Krüger, E./1938/ Sauerstoffverbrauch und Kranzgefäßsdurchblutung des innervierten Herzens in ihrer Beziehung zu Arbeit und Arbeitsform des Herzens. *Pflügers Archiv Ges.Physiol.*, 240:263.
36. Gollwitzer-Meier, K., Witzleb, E./1952/ Die Wirkung von 1-Noradrenalin auf die Energetik und die Dynamik des Warmblüterherzens. *Pflügers Archiv Ges.Physiol.*, 255:469.
37. Goodale, W.T., Hackel, D.B./1949/ Myocardial lactate and pyruvate metabolism in dogs under severe stress. *Fed. Proc.*, 8:58.

38. Groover, M.E., jr /1962/ Myocardial infarction without atherosclerosis in the Kenya baboon. *Circulation*, 26:654.
39. Harris, A.S.- Genesis of ventricular tachycardia and fibrillation following coronary occlusion. W książce: Mechanism and therapy of cardiac arrhythmias. Wyd. L.S. Dreifus, W., Likoff, J.H. Moyer, Grune and Stratton, Inc., 1966, str 293.
40. Harris, A.S., Bisteni, B., Russel, R.A., Brigham, J.C., Fireston, J.E./1954/ Excitatory factors in ventricular tachycardia resulting from myocardial ischemia, potassium a major excitant. *Science*, 119:200.
41. Hartroft, W.S., O'Neal, R.M. /1962/ Experimental production of coronary atherosclerosis. *Amer. J. Cardiol.*, 9:355.
42. Hecht, A., Korb, G., David, H./1961/ Vergleichende histochemische fluorescenzmikroskopische und elektronenoptische Untersuchungen zur Frühdiagnose des Herzinfarktes der Ratte. *Virchows Archiv*, 334:267.
43. Highman, B., Maling, H.M., Thompson, E.G./1959/ Serum transaminase and alkaline phosphatase levels after large doses of norepinephrine and epinephrine in dogs. *Amer. J. Physiol.*, 196:436.
44. Himms-Hagen, J./1967/ Sympathetic regulation of metabolism, *Pharm. Rev.*, 19:367.
45. Hoffman, B.F., Singer, D.H./1967/ Appraisal of the effects of catecholamines on cardiac electrical activity. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 139:914.
46. Honey, G.E., Truelove, S.C./1957/ Prognostic factors in myocardial infarction. *Lancet*, 1, nr 1155, str 1209.
47. Jennings, R.B., Kaltenbach, J.P., Smetters, G.W./1957/ Enzymatic changes in acute myocardial ischemic injury. *A.M.A. Arch. Pathol.*, 64:10.

48. Johns, T.N.P., Olson, B.J./1954/ Experimental myocardial infarction. *Ann. Surg.*, 140:675.
49. Julian, D.G., Valentine, P.A., Miller, G.G./1964/ Disturbances of rate, rhythm and conduction in acute myocardial infarction. *Amer. J. Med.*, 37:915.
50. Kent, S.P., Disaker, M./1955/ Early myocardial ischemia /study of histochemical changes in dogs /. *Lab. Invest.*, 4:398.
51. Kibe, O., Nilsson, N.J./1967/ Observations of the diagnostic and prognostic value of enzyme tests in myocardial infarction. *Acta Med. Scand.*, 182:597.
52. Kirshner, N., Holloway, C., Smith, W.J., Kirshner, A.G.- Uptake and storage of catecholamines. W książce: Mechanisms of release of biogenic amines. Wyd. U.S. von Euler, S., Rosell, B. Uvnas, Bergamon Press, 1966, str 109.
53. Klionsky, B./1960/ Myocardial ischemia and early infarction. *Amer. J. Pathol.*, 36:575.
54. Kozłowa, M. A./1966/ Zawartość katecholamin we krwi i w moczu u chorych z przewlekłą niewydolnością wieńcową /ros./. *Kardiologija*, 6, nr 1, str 39.
55. Kryśier, A., Godlewski, H.- Skrypt metod histochemicznych, *Polskie Towarzystwo Histochemików i Cytochemików*, 1963.
56. Kuschke, H.J., Schneider, K.W./1960/ Die Sympathiko-adrenale Reaktion beim Herzinfarkt. *Z. Kreisf. Forsch.*, 49:261.
57. Lammerant, J., De Herdt, P., De Schryver, C./1966/ Direct release of myocardial catecholamines into the left heart chambers: the enhancing effect of acute coronary occlusion. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 163:219.
58. Lindsay, M. L. jr, Spickerman, R.E./1964/ Re-evaluation of therapy of acute myocardial infarction. *Amer. Hart. J.*, 67:559.

59. Lucchesi, B.R., Whitsit, L.S., Stickney, J.L./1967/ Antiarrhythmic effects of Beta adrenergic blocking agents. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 139:940.
60. Magakjan, G.O., Mimonoszwili, D.I., Kokaja, G.J./1956/ Patogeneza nadciśnienia i niewydolności wieńcowej w badaniach doświadczalnych /ros./. *Kliniczeskaja Med.*, 34, nr 7, str 30.
61. Mann, M., West, G.B./1950/ The nature of hepatic and splenic sympathin. *Brit. J. Pharm. Chemother.*, 5:173.
62. Mason, J.W., Mangan, G., Brady, J.V., Conrad, D., Rioch, D./1961/ Concurrent plasma epinephrine, norepinephrine and 17-hydroxycorticosteroid levels during conditioned emotional disturbances in monkeys. *Psychosomat. Med.*, 23:344 /cyt.wg pozycji 78/
63. Mathur, K.S./1960/ Environmental factors in coronary heart disease. *Circulation*, 21:684.
64. Minc, S., -Civilised pattern of activity, cardiac adaptation and ischemic heart disease. W książce: W. Baab - Prevention of ischemic heart disease: principles and practice, Wyd. C.G. Thomas, Springfield, Illinois, 1966.
65. Morales, A.R., Fine, G./1966/ Early human myocardial infarction. A histochemical study. *A.M.A. Arch. Pathol.*, 82:9.
66. Morris, J.N., Crawford, M.D./1961/ Atherosclerosis and coronary /ischaemic/ heart disease. *Lancet*, 1:47.
67. Mower, M.M., Miller, D.I., Nachlas, M.M./1964/ Clinical features relevant to possible resuscitation in death after acute myocardial infarction. *Amer. Heart J.*, 67:438.
68. Nahas, G.G., Brunson, J.G., King, W.M., Cavert, H.M./1958/ Functional and morphologic changes in heart-lung preparations following administration of adrenal hormones. *Amer. J. Pathol.*, 34:717
69. Nahas, G.G., Manion, W.C., Brunson, J.C./1959/ Lesions cardiaque par exces de norepinephrine. *Presse Med.*, 67:1079.

70. Nickerson, M., Karr, G.W., Dresel, P.E., /1961/ Pathogenesis of "Electrolyte-Steroid-Cardiopathy". *Circ. Res.*, 9:209.
71. Novikoff, A.B., Essner, E. /1960/ The liver cell. *Amer. J. Med.*, 29:102.
72. Nuzum, E.R., Bischoff, F. /1953/ The urinary output of catechol derivatives including adrenaline in normal individuals, in essential hypertension and in myocardial infarction. *Circulation*, 7:96.
73. Pearse, A.G.E.- Histochemia teoretyczna i stosowana. PZWL, 1957.
74. Pell, S., D'Alonzo, A. /1963/ Acute myocardial infarction in large industrial population. *J.A.M.A.*, 185:831.
75. Raab, W., Gige, W. /1954/ Total urinary catechol excretion in cardiovascular and other clinical conditions. *Circulation*, 9:592.
76. Raab, W., Van Lith, P., Lepeschkin, E., Herrlich, H.C. /1962/ Catecholamine induced myocardial hypoxia in the presence of impaired coronary dilatability independent of external cardiac work. *Amer. J. Cardiol.*, 9:455.
77. Raab, W. /1963/ The nonvascular metabolic myocardial vulnerability factor in "coronary heart disease". *Amer. Heart J.*, 66:685.
78. Raab, W. /1966/ Emotional and sensory stress factors in myocardial pathology, *Amer. Heart J.*, 72:538.
79. Regan, T.J., Harman, M.A., Lehan, P.H., Burke, W.M., Oldewurtel, H.A., /1967/ Ventricular arrhythmias and K transfer during myocardial ischemia and intervention with Procaine Amide, Insulin or Glucose solution. *J. Clin. Invest.*, 46:1657.
80. Regan, T.J., Moschos, C.B., Lehan, P.H., Oldewurtel, H.A., Hellems, H.K. /1966/ Lipid and carbohydrate metabolism of myocardium during the biphasic inotropic response to epinephrine. *Circ. Res.*, 19:307.

81. Richardson, J.A.- Plasma catecholamine concentration in acute infarction. W książce: Coronary Heart Disease. Wyd. Likoff, J.H. Moyer, Grune and Stratton, 1963, str 273.
82. Robertson, W.B./1959/ Atherosclerosis and ischaemic heart-disease. Lancet, 1:444.
83. Rona, G., Chappel, C.I., Balazs, T., Gaudry, R./1959/ An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by Isoproterenol in the rat A.M.A. Arch. Patol., 67:443.
84. Rona, G., Chappel, C.I., Gaudry, R./1961/ Effect of dietary sodium and potassium content on myocardial necrosis elicited by Isoproterenol. Lab. Invest., 10:892.
85. Rona, G., Chappel, C.I., Kahn, D.S./1963/ The significance of factors modifying the development of Isoproterenol-induced myocardial necrosis. Amer. Heart J., 66:389.
86. Kosenblum, I., Wohl, A., Stein, A.A./1965/ Studies in cardiac necrosis. Production of cardiac lesions with sympathomimetic amines. Tox. Appl. Pharmacol., 7:1.
87. Rosenman, R.H., Friedman, M., Straus, R., Wurm, M., Kosithek, R., Hahn, W., Werthesen, N.T.,/1964/ A predictive study of coronary heart disease. J.A.M.A., 189:15.
88. Russek, H.I.,/1960/ Emotional stress and coronary heart disease in American physicians. Amer. J. Med. Sci., 240:711.
89. Sawa, J./1966/ Diagnostyka wczesnych zawałów mięśnia sercowego przy użyciu niektórych metod histochemicznych oraz mikroskopu fluorescencyjnego. Patol. Pol., 17:257.
90. Schenk, E.A., Faulkner, C./1961/ Morphologic effects of pressor amines. Fed. Proc., 20:134.
91. Schenk, E.A., Galbreath, R., Moss, A.J./1966/ Cardiovascular effects of sustained norepinephrine infusion. Lactic dehydrogenase isoenzyme release. Circ. Res., 18:616.

92. Schenk, E.A., Moss, A.J./1966/ Cardiovascular effects of sustained norepinephrine infusion. *Morphology.Circ.Res.*, 18:605.
93. Schnitka, T.K., Nachlas, M.M./1963/ Histochemical alterations in ischemic heart muscle and early myocardial infarction. *Amer.J.Pathol.*, 42:507.
94. Selye, H./1958/ The humoral production of cardiac infarcts. *Brit.Med.J.*, 1:599.
95. Selye, H. - Zapobieganie martwicy mięśnia serca środkami chemicznymi. *PZWL*, 1963, str 55.
96. Selye, H. - Zapobieganie martwicy mięśnia serca środkami chemicznymi. *PZWL*, 1963, str 46.
97. Selye, H., Bajusz, E./1959/ Sensitization by potassium deficiency for the production of myocardial necrosis by stress. *Amer.J.Pathol.*, 35:525.
98. Semerau-Siemianowski, Z., Borkowski, M., Kaleta, Z./1962/ Wpływ noradrenaliny na metabolizm węglowodanów w mięśniu serca i krążenie wieńcowe. *Pol.Tyg.Lek.*, 17:81.
99. Semerau-Siemianowski, Z., Staszewska-Barczak, J./1965/ On the role of coronary anastomoses in catecholamine-induced myocardial ischemia *Pol.Med.J.*, 4:1015.
100. Sobel, H., Mondon, C.E., Straus, R./1962/ Spontaneous and stress-induced myocardial infarction in atherosclerotic dogs. *Circulation*, 26:672.
101. Sofiewa, I.E./1965/ Wydalanie katechoalmin w moczu u chorych na zawał serca /ros./. *Ter.Arkh.*, 37, nr 7, str 81.
102. Spain, D.M., Bradess, V.A./1960/ The relationship of coronary thrombosis to coronary atherosclerosis and ischaemic heart disease. *Amer.J.Med.Sci.*, 240:701.

103. Staszewska-Barczak, J., Ceremużyński, L./1968/ The continuous estimation of catecholamine release in the early stages of myocardial infarction in the dog. Clin. Sci., 34:531.
104. Staszewska-Barczak, J., Ceremużyński, L., Herbaczyńska-Cedro, K. - Cardiac rhythm disturbances and the release of catecholamines following acute coronary occlusion in dogs. /w druku/.
105. Staszewska-Barczak, J., Vane, J.R./1965/ The release of catecholamines from the adrenal medulla by histamine. Brit. J. Pharmacol. Chemother., 25:728.
106. Sulkowitch, H., Perrin, G.M., Altschule, M.D./1957/ Excretion of urinary "epinephrines" in psychiatric disorders. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 95:245.
107. Szakacs, J.E., Cannon, A./1958/ L-norepinephrine myocarditis. Amer. J. Clin. Pathol., 30:425.
108. Szchwacabaja, I.K., Mieński, W.W./1962/ O znaczeniu katecholamin w patogenezie neurogennych zmian w mięśniu serca /ros./. Kardiologija, nr 6, str 27.
109. Wachstein, M., Meisel, E./1955/ Succinic dehydrogenase activity in myocardial infarction and in induced myocardial necrosis. Amer. J. Pathol., 31:353.
110. Wartman, W.B., Jennings, R.B., Yokoyama, H.O., Clabaugh, G.F. /1956/ Fatty changes of the myocardium in early experimental infarction. A.M.A. Arch. Pathol., 62:318.
111. Wróblewski, F., Gregory, K.F./1961/ Lactic dehydrogenase isozymes and their distribution in normal tissue and plasma and in disease states. Ann. N.Y. Acad. Sci., 94:912.
112. Valori, C., Thomas, M., Shillingford, J.P./1967/ Urinary excretion of free noradrenaline and adrenaline following acute myocardial infarction. Lancet, 1, 127.

113. Vane, J.R./1957/ A sensitive method for the assay of 5-hydroxytryptamine. Brit.J.Pharmacol.Chemother.,12:344.
114. Vane, J.R./1964/ the use of isolated organs for detecting active substances in the circulating blood. Brit.J.Pharmacol.Chemother.,23:360.
115. Zawistowski, S. - Technika histologiczna. PZWL, 1965.

