

# RADOVI

KNJIGA LXII

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 20.

Urednik

SEID HUKOVIĆ,  
redovni član Akademije nauka i umjetnosti  
Bosne i Hercegovine



Sarajevo  
1977.

SEID HUKOVIĆ, PAVEL STERN i PAVLE PLAMENAC\*

## KEMIJSKA SIMPATEKTOMIJA I NJEN EFEKT NA HIPERTENZIJU, SRČANI MIŠIĆ I KRVNE SUDOVE\*\*

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 26. XI 1975. godine)

Mogućnost kemijske simpatektomije pomoću 6-hidroksidopamina (*6-HD*) dala je izvanredne nove mogućnosti na polju istraživanja značenja funkcije adrenergičnog nervnog sistema u fiziološkim i patofiziološkim stanjima (8). Ova metoda dala je i sjajne mogućnosti istraživanja značenja simpatikusa za postanak hipertenzije (12). Pomoću *6-HD* mi možemo, ako ga dajemo novorođenim životinjama, potpuno uništiti truncus simpaticus sa svim njegovim anatomske izdancima u organima i krvnim sudovima. Ta je simpatektomija definitivna. Dolazi do pada ne samo adrenalina i noradrenalina nego i dopamina (8). Isti efekt može se postići i centralno ako se *6-HD* injicira u ventrikl (8). Osobito je važno da se može centralno injicirati *6-HD*, pa će kateholamini nestati samo u toj regiji (1). Ako se *6-HD* da odraslim životinjama, dolazi također do potiskivanja simpatikusa. Životinja je praktički kroz jedno 20—30 dana simpatektomirana, ali se nakon 40—50 dana funkcija simpatikusa vraća (6). Bitno je spomenuti da ne biva uništena medula nadbubrežne žlijezde, dakle jedan rezervoar adrenalina ipak ostaje (8). Interesantno je da životinje mogu veoma dugo da žive bez simpatikusa i da se klinički gotovo ništa na njima ne opaža. Bilo je potrebno iznijeti ovih nekoliko činjenica o kemijskoj simpatektomiji pa da se još bolje uoči kakvo je to moćno sredstvo za istraživanje uloge adrenergičnog sistema u postanku hipertenzije i drugih kardiovaskularnih manifestacija.

---

\* Institut za farmakologiju i toksikologiju i Institut za patološku anatomiju Medicinskog fakulteta, Sarajevo.

\*\* Republičkoj zajednici za naučni rad BiH zahvaljujemo za materijalnu pomoć (Ugovor br.867/72).

U ovom radu nas je u prvom redu interesiralo kako će se ponašati životinje koje su spontano postale hipertenzivne uslijed starosti, ako im se da 6-HD i da li će te životinje, ukoliko im tlak padne, bolje podnijeti fizički napor. Budući da je odavno poznato da je štakor isto tako kao i miš veoma neosjetljiv za srčano-aktivne glikozide u odnosu na čovjeka i druge eksperimentalne životinje (7), mi smo htjeli vidjeti da li će miokard osiromašen na kateholaminima biti više osjetljiv za srčano-aktivne glikozide. Da 6-HD smanjuje kateholamine u miokardu to je već bilo poznato (2). Iz tih razloga ispitivali smo da li će 6-HD utjecati na postanak eksperimentalnog infarkta štakora. To je stara poznata činjenica, ali još do danas nije razjašnjena. U ovom radu isto smo ispitivali utjecaj 6-HD na postanak gangrene repa štakora, koji nastaje uslijed spazma krvnih sudova. Metoda koju smo upotrijebili omogućuje da se eksperimentalno utvrdi da li neka supstanca djeluje štetno na tkivo preko spazma krvni sudova koji su inervirani simpatikusom ili ne (5). Konačno, htjeli smo obuhvatiti još jedan problem hipertenzije. Poznato je da je norbomid otrovan samo za štakore i praktički ni za jednu drugu životinju (13). Od osjetljivosti za norbromid dolazi do snažne konstrikcije krvnih sudova štakora. Budući da taj mehanizam nije do danas dovoljno rasvijetljen htjeli smo vidjeti da li efekt nobromida ide preko simpatikusa.

#### METODA

Hipertenzivne štakore, većinom muške, izabrali smo sami iz našeg institutskog soja. Radilo se o starim životinjama kod kojih dolazi do spontanog povišenog krvnog pritiska. Normalni krvni pritisak štakora, misleći pri tome na one starije od godinu i pol dana, teških najmanje 250 g, iznosi od 100 do 130 mgHG (3). Mi smo uzeli životinje od najmanje 140 mm krvnog pritiska. Krvni pritisak mjerili smo metodom *Williamsa* i sar (14). To je nekrvava metoda, koja se može bezbroj puta ponavljati, a određuje se samo sistolički pritisak. Životinje ovako tretirane dobile su 6-HD (68 mg/kg dva puta dnevno prvi i sedmi dan. Dvanaesti dan ponovno je mjereno krvni pritisak i istovremeno ispitana fizička snaga štakora koji su dobili 6-HD. Poslužili smo se metodom *Grandjeana* (5). Metoda se sastoji u tom da se životinji oko trupa savije jedna tanka olovna traka, težine 25 g. Životinje plivaju u jednom bazenu čija je voda ugrijana na 25°. Pusti se da životinja pliva tako dugo dok ne počne da tone. Razumljivo, te iste životinje su plivale i prije injekcije 6-HD.

Za izazivanje infarkta poslužili smo se poznatom metodom injiciranja isopronterenola 2 dana uzastopce 80 mg/kg s. c. (12). Pokusne životinje dobile su 12 dana prethodno 6-HD u dozi kao što je i naprijed navedeno, a kontrolne samo isopronterenol. Životinje se žrtvuju 72 sata iza davanja isopronterenola i miokard histološki pregleda. (Bojenje Hemalaun-Eosin). Životinje koje su uginule prije 72 sata, također su podvrgnute histološkoj analizi.

Osjetljivost miokarda za *Ouabain* određivali smo tako da smo uzeli mlade štakore, težine oko 100 g. Životinje su 12 dana prethodno dobile već spomenutu dozu *6-HD*, a onda  $LD_{50}$  *Ouabaina* koji je za naše štakore iznosio 34 mg/kg. *Ouabain* je otopljen u vodi i davan i. v.

Za sprečavanje gangrene na repu štakora poslužili smo se metodom *Ratschowa* i *Strecknera* (11). Muški štakori primili su 0,5 mg ergotamin-bitartarata s. c. i istovremeno 5 gama adrenalin-bitartarata također s. c. Injekcija se daje na najproksimalnijem dijelu repa, i to 1, 2, 4, 5. i 7. dan. Deseti dan životinje su primile *6-HD* i promatrane tokom 20 dana da se vidi hoće li se razvijati gangrena repa. Gangrena se javlja najprije kao plavetnilo na kraju repa koje prelazi u nekrozu i rep često otpada, čak i do polovice dužine, 10—12 dana iza zadnjeg injiciranja.

Ženski štakori, teški oko 100 g, primili su *6-HD*, a dvanaesti dan dobili su norbromid 11 mg/kg per os. Broj uginulih životinja prebrojan je nakon 24 sata.

## REZULTATI

Kako se vidi iz tabele I *6-HD* je stvarno snizio krvni pritisak i ti štakori su dulje plivali nego prije davanja *6-HD*, kada im je krvni pritisak bio povišen.

Tabela I

### UTICAJ 6-HIDROKSI-DOPAMINA NA KRVNI PRITISAK I IZDRŽLJIVOST (POKUS PLIVANJA) ŠTAKORA

	Kontrola	Pokus	
	x ( $\pm$ SE — n)	x ( $\pm$ SE — n)	P
Krvni pritisak	170,70 ( $\pm$ 4,526 — 14)	56,78 ( $\pm$ 1,506 — 14)	< 0,001
Plivanje*	36,86 ( $\pm$ 1,910 — 14)	127,86 ( $\pm$ 3,500 — 14)	< 0,001

x = srednja aritmetička vrijednost sistoličkog pritiska

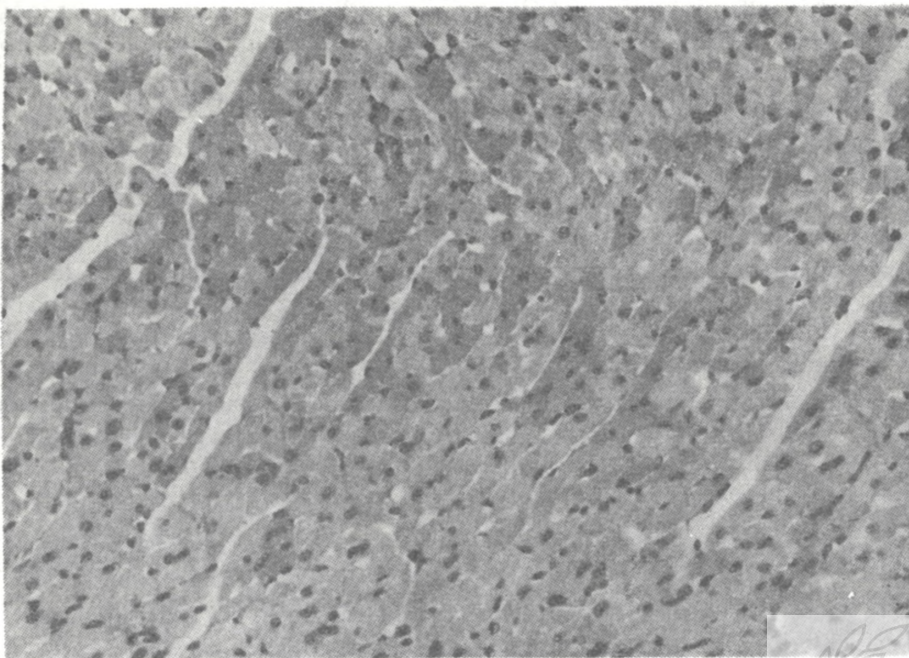
\* = srednja aritmetička vrijednost držanja štakora na vodi izražena u minutama

SE = standardna greška

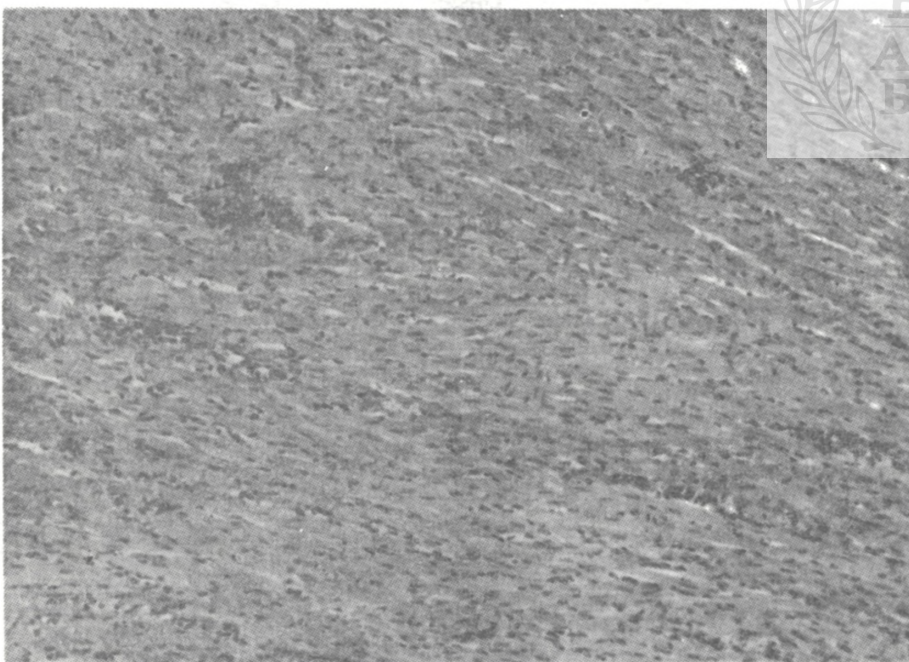
n = broj životinja u grupi

p = statistička signifikancija

Kako se vidi iz sl. 2 *6-HD* znatno je ublažio oštećenje miokarda pomoću isopronterenola. Kod kontrola vidimo neusporedivo više nekroze mišićnih vlakana koagulacionog tipa.



*Sl. 1. — Kontrola Isopronterenol*



*Sl. 2. — Pokus Isopronterenol + 6HD*



Rekli smo da smo ispitali i osjetljivost štakora za *Ouabain*. Međutim, kako se vidi iz tabele II, zaštitnog efekta nije bilo.

Tabela II

UTICAJ 6-HD NA UTROŠAK OUABAINA

	Utrošnja Ouabaina $\bar{x} (\pm SE - n)$	
Kontrola	35,66 ( $\pm 0,508 - 8$ )	
Pokus	33,91 ( $\pm 1,960 - 8$ )	N.S.

Isto tako kod životinja tretiranih sa *6-HD* gangrena repa izazvana ergotaminom i adrenalinom, razvila se jednako brzo i intenzivno kao i kod kontrola.

Toksičnost za norbromid nije se mijenjala. Od 24 kontrola i 24 pokusnih uginulo je 16 kontrola i 15 pokusnih životinja.

DISKUSIJA

Mi smo u uvodu naglasili kako je *6-HD* moćno sredstvo za analizu funkcije kardiovaskularnog sistema (8). To se dobro vidi iz ove serije pokusa u kojoj smo obuhvatili nekoliko različitih parametara ovog sistema, te dobili na njih određene odgovore.

Kako vidimo, spontana hipertoniya starih životinja može se efikasno ukloniti temporernim izbacivanjem kateholamina. Takve životinje su fizički izdržljivije od onih kod kojih je koncentracija kateholamina normalna. To vjerovatno ide na račun pada kateholamina u miokardu. U prilog zaštite miokarda kod sniženja kateholamina govori i nalaz da je isopreterenol izazvao mnogo slabija oštećenja nego kod životinja koje su primile *6-HD*. Činjenica da štakor ostaje jednako neosjetljiv za srčano-aktivne glikozide, bez obzira da li je simpatektomiran ili nije, govori sa velikom vjerovatnošću u prilog toga da neosjetljivost miokarda za spomenute glikozide ne ovisi o funkciji simpatikusa. Štakor je uopće vrlo neosjetljiv za biogene amine. Već se dugo zna da štakor podnosi neusporedivo veće doze histamina nego druge eksperimentalne životinje (10). Zamorac je gotovo 100 puta osjetljiviji na *H* nego štakor ili miš. Na prvi pogled iznenađujuća činjenica da *6-HD* nije zaštitio štakora od razvitka gangrene repa, može se lako protumačiti time što se simpatične niti u krvnim sudovima izvanredno brzo regeneriraju, pa se uspostavlja normalno stanje (4).

Prema našim nalazima izgleda da spazam krvnih sudova štakora izazvan norbromidom ne ide preko simpatikusa.

Iz svih ovih nalaza može se zaključiti da simpatikus ima važnu ulogu u postanku hipertenzije i da njegovo isključenje ne dovodi samo do pada krvnog pritiska nego i do poboljšanja fizičke sposobnosti životinje, što vjerovatno ide na račun poboljšanja funkcije miokarda. To je stara spoznaja i kliničara i teoretičara koju naši pokusi još bolje afirmiraju. U tom pogledu, ovaj efekt sličan djelovanju adrenergičnim beta-blokatorima. Mi smo namjerno uzeli spontanu hipertenziju, a ne onu nastalu uslijed bubrežnih promjena ili davanja velikih doza hormona kore nadbubrežne žlijezde, jer je već iz literature poznato da te vrste hipertenzije ne reagiraju tako dobro na *6-HD* kao spontane hipertenzije (9). Mislimo da je isto tako interesantan nalaz koji smo dobili sa *Ouabainom*, jer smo time barem dokazali da neosjetljivost štakora za srčane glikozide ne ovisi o funkciji simpatikusa. S druge strane, vidimo da *6-HD* ne može izazvati nikakav zaštitni efekt na krvnim sudovima ako u njima dolazi brzo do regeneracije simpatičkih niti, pa se valjda zato ne razvija teža nekroza nego kod kontrola.

Postavlja se pitanje da li bi se smjelo dati *6-HD* kod malignih hipertenzija koje baziraju na intenzivnoj funkciji adrenergičnog nervnog sistema. No, to bi zahtijevalo vrlo opsežna kliničko-farmakološka ispitivanja. Smatramo da su naši pokusi dali takve rezultate koji upućuju na to da bi kliničko-farmakološka ispitivanja sa *6-HD* bila interesantna i na ljudima.

#### ZAKLJUČAK

6-hidroksidopamin smanjuje spontanu hipertenziju starih štakora i poboljšava njihovu fizičku kondiciju. Ova supstanca umanjuje toksični efekt isoproterenola na miokard štakora. 6-hidroksidopamin ne zaštićuje štakora od srednjih smrtnih doza *Ouabaina* kao ni od nastanka gangrene repa. Davanje 6-Hidroksidopamina ne zaštićuje štakora od toksičnog efekta norbromida, jednog selektivnog otrova za štakore.

HUKOVIĆ, S., STERN, P. and PLAMENAC, P.

#### CHEMICAL SYMPATHECTOMY AND ITS EFFECTS ON HYPERTENSION, HEART MUSCLE AND BLOOD VESSELS

#### SUMMARY

The hypertension of old rats was decreased by 6-Hydroxydopamine. The same agent improved the condition of the organism as a whole. 6-Hydroxydopamine decreased toxic effect of isoproterenole on heart muscle of rats. It did not protect the rats of lethal doses of ouabaine neither it protected the tail of induced gangrena. The injection of 6-Hydroxydopamine did not protect the rats from toxic effect of norbromide. The norbromide is selective poison for rats.

## BIBLIOGRAFIJA

- (1) Butscher, L. L., Eastgate, S. M. and Hodge, G. K. (1974): *Evidence that punctate intracerebral administration of 6-hydroxydopamine fails to produce selective neuronal degeneration*. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol. 285, 31—70.
- (2) Corrodi, H., Masuoka, D. T., Clark, W. G. (1971): *Effect of 6-hydroxydopamine on rat heart noradrenaline*. Europ. J. Pharmacol. 15, 160—163.
- (3) Farris, E. J. a. Griffith, J. A. (1949): *The rat in laboratory investigation*. Second edition, J. B. Lippincott com. Philadelphia.
- (4) Finch, L., Haeusler, G., Kuhn, H., Thoenen, H. (1972): *The recovery of vascular adrenergic nerve function in the rat after chemical sympathectomy with 6-hydroxydopamine*. Brit. J. Pharmacol. 44, 357P.
- (5) Grandjean, H. (1950): *Die Wirkung eines Herzextraktes auf die Arbeitshypertrophie von Rattenherzen*. Schweiz. Med. J. 80, 203—205.
- (6) Haeusler, G., Haefely, W. and Thoenen, H. (1969): *Chemical sympathectomy of the cat with 6-hydroxydopamine*. J. Pharmac. exp. Ther. 170, 50—61.
- (7) Lendel, L. (1935): *Digitaliskörper und verwandte herzwirksame Glykoside (Digitaloide)*. In: Heubner, W. u. Schüller, J. »Handbuch der experimentellen Pharmakologie«, Ergänzungswerk I, Verlag von Julius Springer, Berlin, p. 11.
- (8) Malmfors, I. and Thoenen, H. (1971): *6-Hydroxydopamine and catecholamine Neurons*, American Elsevier, New York.
- (9) Nakamura, K., Gerold, M. and Thoenen, H. (1971): *Experimental hypertension of the rat: Reciprocal changes of norepinephrine turnover in heart and brain-system*. Naunyn-Schmiedebergs Arch exp. Path. Pharmak. 268, 125—139.
- (10) Naranjo, P. (1966): *Toxicity of histamine: Lethal doses*. From. Heffter-Heubner: »Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Histamine and Anti-Histaminica« Part 1, Springer Verlag, XVIII/1, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
- (11) Ratschow, M. (1953): Z. Klin. Med. 135, 198 (1939). Cit from Beigböck, W.: »Über die Beeinflussung der Ergotamingangrän bei der Ratte durch Butylsympatol (—Vasculat.) Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 217, 430—439.
- (12) Rona, G., Chappel, I. K., Balazs, T. and Gaudry, R. (1959): *An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by isoproterenol in the rat*. Arch. Path 67, 443—455.
- (13) Roszkowski, A. P. (1965): *The pharmacological properties of norbromide, a selective rat toxicant*. J. Pharmacol. exper. Therap. 149, 288—299.
- (14) Williams, J. R., Harrison, T. R. and Grollman, A. (1939): *A simple method for determining the systolic blood pressure of the unanesthetised rat*. J. Clin. Invest. 18, 373.
- (15) Yamori, A., Yamabe, H., De Jong, W., De Jong, W., Lovenber, W., and Sjoerdsma, A. (1972): *Effect of tissue norepinephrine depletion by 6-hydroxydopamine on blood pressure in spontaneously hypertensive rat*. Europ. J. Pharmacol, 17, 135—140.