

## Vpliv famotidina in kloropiramina na ishemično okvaro pri izoliranem podganjem srcu\*

### The influence of famotidine and chloropyramine on ischemic rat hearts\*

Mateja Burjak\*\*

**Ključne besede**  
miokardna ishemija – zdravljenje z zdravili  
famotidin  
histamin antagonisti H1

**Key words**  
myocardial ischemia – drug therapy  
famotidine  
histamine H1 antagonists

**Izvleček.** Pri našem delu smo preiskovali učinke antagonista histaminskih receptorjev  $H_1$ , kloropiramina in antagonista histaminskih receptorjev  $H_2$  famotidina na ishemično okvaro pri podganjem srcu, izoliranem po Langendorffu. Srca smo izpostavili ishemiji, ki je trajala 60 minut. Skozi srca je tekla Riner-Locke raztopina  $10 \mu\text{mol/l}$  kloropiramina oz.  $10 \mu\text{mol/l}$  famotidina 10 minut pred pričetkom ishemije do konca poskusov. Beležili smo pritisk v levem prekatu, frekvenco utripov srca, količnik Q, pretok v srčnih žilah in elektrokardiogram. Temperatura v levem prekatu je bila  $38,5 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ . Obsežnost poškodbe srčnih celic smo ocenjevali s hitrostjo sproščanja encima laktatne dehidrogenaze. Kloropiramin je v kontrolnih poskusih učinkoval negativno kronotropno in je zvišal vrednost količnika Q. Ob reperfuziji je zmanjšal pretok v srčnih žilah, pod njegovim vplivom se je pojavila v reperfuziji bradikardija. Kloropiramin ni vplival na hitrost sproščanja laktatne dehidrogenaze v reperfuziji. Famotidin je v kontrolnih poskusih učinkoval pozitivno inotropno ter pozitivno kronotropno in je znižal količnik Q. Pretok v srčnih žilah se je v kontrolnih poskusih pod vplivom famotidina povečal. Ob reperfuziji sta se v poskusih z ishemijo pod vplivom famotidina pojavili tahikardija in fibrilacija. Famotidin ni vplival na hitrost sproščanja laktatne dehidrogenaze v reperfuziji. Rezultati naših poskusov kažejo, da so v podganjem srcu poleg histaminskih receptorjev  $H_1$  verjetno prisotni tudi receptorji  $H_2$  in da lahko oboji sodelujejo pri poškodbi, ki nastane zaradi ishemije in reperfuzije.

**Abstract.** In the present study the effects of either  $H_1$  antagonist chloropyramine or  $H_2$  antagonist famotidine were investigated in isolated Langendorff's rat hearts. Ischemia lasted 60 minutes. Perfusion with either  $10 \mu\text{mol/l}$  chloropyramine or  $10 \mu\text{mol/l}$  famotidine was initiated 10 minutes before ischemia and lasted till the end of the experiments. Registered were left ventricular pressure, heart rate, Q, coronary flow and ECG. The temperature in the left ventricle was kept at  $38.5 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ . The extent of myocardial damage was assessed by the release rate of the enzyme lactate dehydrogenase. In control experiments chloropyramine had negative chronotropic effect and increased Q. Its addition decreased the coronary flow during reperfusion, caused bradycardia and did not influence the lactate dehydrogenase release. In control experiments famotidine had positive inotropic and positive chronotropic effects and decreased Q. In control experiments famotidine increased the coronary flow. During reperfusion famotidine induced tachycardia and fibrillation. Famotidine did not influence the lactate dehydrogenase release during reperfusion.

Results of our experiments indicate that in the rat heart additionaly to  $H_1$  receptors also  $H_2$  receptors might exist and that both of them could be involved in the myocardial damage induced by ischaemia and reperfusion.

\*Delo je bilo nagrajeno s Prešernovo nagrado za študente v letu 1996

\*\*Mateja Burjak, štud. farm., Inštitut za farmakologijo in eksperimentalno toksikologijo, Medicinska fakulteta, Korytkova 2, 1000 Ljubljana

## Uvod

V srcu je biogeni amin histamin prisoten v koncentracijah, ki presegajo koncentracije noradrenalina in acetilholina (1). Gradient njegove koncentracije poteka v kraniokavdalni in desno-levi smeri, največ ga je v levem preddvoru in najmanj v levem prekatu (2).

Uskladiščen je predvsem v mastocitih (tkivnih bazofilcih). Poleg histamina v mastocitih je v srcu prisoten še nemastocitni histamin, ki se nahaja v endoteliju žil, gladkih mišičnih celicah in v endokardu. V vseh naštetih celicah poteka tudi biotvorba histamina.

Masovno sproščanje histamina lahko povzročijo intravenske injekcije nekaterih zdravil (npr. benzodiazepinov, narkotičnih analgetikov, mišičnih relaksansov, heparina, nekaterih antibiotikov), splošna anestezija in ishemija miokarda. Sproščeni histamin se veže na histaminske receptorje  $H_1$ ,  $H_2$  in  $H_3$ , preko katerih posreduje številne fiziološke in patofiziološke učinke.

Histaminski receptorji  $H_1$ ,  $H_2$  in  $H_3$  so beljakovine celične membrane. Histaminski receptorji  $H_1$  in  $H_2$  se nahajajo v večini perifernih organov ter v osrednjem in perifernem živčevju, ki vsebujeta tudi histaminske receptorje  $H_3$ . V srcu deluje histamin preko receptorjev  $H_1$  in  $H_2$ . Receptorji  $H_3$  pri podgani verjetno ne vplivajo na delovanje srca (3).

Histaminski receptorji  $H_1$ ,  $H_2$  in  $H_3$  iz srca še niso bili klonirani. Do sedaj so v srcu ugotovili njihov obstoj in delno označili njihove posamezne lastnosti s pomočjo klasičnih funkcionalnih farmakoloških metod (študije z izoliranimi srcem, študije z izoliranimi deli srca) in z biokemičnimi farmakološkimi metodami, predvsem v vezavnimi študijami z uporabo radioaktivnih snovi, kar je omogočilo študij molekularnih lastnosti histaminskih receptorjev (4).

Histamin, ki je normalno prisoten v srcu sesalca, s svojim delovanjem na histaminske receptorje  $H_1$  in  $H_2$  poveča hitrost bitja srca (pozitivni kronotropni učinek), poveča moč krčenja (pozitivni inotropni učinek), zmanjša hitrost prevajanja v atrioventrikularnem vozlu (negativni dromotropni učinek), poveča avtomatično vzdražnost in poveča pretok krvi v srčnih žilah.

Histaminski receptorji  $H_3$  pa zavirajo sproščanje noradrenalina iz simpatičnih živčnih končičev (5). Učinki histamina v srcu so rezultat hkratne aktivacije histaminskih receptorjev  $H_1$  in  $H_2$ .

Antagonisti histaminskih receptorjev kompetitivno zavirajo delovanje histamina na specifičnih receptorjih. Dve različni vrsti histaminskih receptorjev,  $H_1$  in  $H_2$ , blokirajo različne skupine antihistaminikov (6).

## Namen dela

Mc Neill je postavil tezo, da je podganje srce manj občutljivo za histamin kot srce drugih vrst živali in da so učinki, podobni histaminskim, lahko posredni zaradi sproščanja endogenih kateholaminov (8). Valenova s sodelavci je ugotovila, da je mogoče s klorfeniraminom in manj s cimetidinom, antagonistoma receptorjev  $H_1$  in  $H_2$ , vplivati na dogajanja ob ishemiji pri izoliranem srcu podgane (7).

Več raziskovalcev (8) ni potrdilo obstoja histaminskih receptorjev  $H_2$  v podganjem srcu oz. niso uspeli dokazati učinkov antagonistov histaminskih receptorjev  $H_2$ .

Pri našem delu smo želeli ugotoviti, ali kloropiramin in famotidin, antagonist receptorjev  $H_1$  in  $H_2$ , vplivata na ishemične spremembe pri izoliranem srcu podgane in primerjati njune morebitne učinke.

V ta namen smo izolirali podganja srca po Langendorffovi metodi in povzročili ishemijsko, katere rezultat je sproščanje velikih količin endogenega histamina. Ishemija kot model za poškodbo srca se dokaj približa realnim pogojem, ki nastanejo pri infarktu srčne mišice. Obsežnost poškodb smo ocenjevali predvsem s hitrostjo sproščanja encima laktatne dehidrogenaze iz izoliranega srca in s pojavom aritmij.

Raziskavo je odobrila republiška komisija za medicinsko-etična vprašanja.

## Materiali in metode

### Potek poskusov

Za poskuse smo uporabili podgane seva Wistar obeh spolov, težke od 240 do 320 g, s povprečno težo 277 g (število poskusnih živali = 34).

Podgano smo omamili z etrom in ji intraperitonealno vbrizgali 0,5 ml 20 % raztopine uretana in 0,2 ml heparina na 100 g teže živali. Omamljeni živali smo odprli prsni koš in v aorto *in situ* uvedli kanilo. Srce smo sprali z ledeno mrzlo fiziološko raztopino s heparinom (1 ml heparina/100 ml fiziološke raztopine), ga izrezali in prenesli na modificiran Langendorffov aparat.

Izolirano srce smo perfundirali pod stalnim tlakom (60 cm vodnega stolpca = zunanji tlak + 6,08 kPa) z Ringer-Locke (RL) raztopino naslednje sestave: 154 mmol/l NaCl, 5,63 mmol/l KCl, 2,16 mmol/l  $CaCl_2$ , 3,57 mmol/l  $NaHCO_3$ , 5,55 mmol/l glukoze.

Stalni tlak RL-raztopine nad srcem smo vzdrževali s steklenicami po Mariottu. Raztopino smo nasitili s kisikom ali dušikom, ki smo ju uvajali v RL-raztopino že pred začetkom poskusa. Koncentracija kisika v raztopini, nasičeni s kisikom, je bila  $> 30 \text{ mg O}_2/\text{l}$ , v raztopini, nasičeni z dušikom, pa  $< 6 \text{ mg O}_2/\text{l}$ .

Temperaturo raztopine smo vzdrževali s toplotnim izmenjevalcem s termostatom (MLW, NDR), ki smo ga priključili na ogrevalni plašč Langendorffovega aparata. Termostat smo nastavili tako, da je bila temperatura na zunanji strani srca pod srčno konico  $37,5\text{--}38,5^\circ\text{C}$ , kar ustreza temperaturi  $38,5\text{--}39^\circ\text{C}$  v levem prekatu.

### Merjene spremenljivke

Beležili smo sledeče spremenljivke:

- moč krčenja v levem prekatu smo merili z lateksnim balončkom na katetru, ki smo ga skozi levi preddvor uvedli v levi prekat; spremembo tlaka smo merili z odvzemnikom tlaka s stalno prostornino (ISOTEC; HSE; ZRN); odražala se je kot sprememba napetosti, ki smo jo dodatno ojačili;

- frekvenco utripov (št. utripov/min);
- odvode tlakov v levem prekatu in količnik  $Q$  (max. (+) dp/dt, max. (-) dp/dt in  $Q$  (= max. (-) odvod / max. (+) odvod tlaka);
- pretok v srčnih žilah (ml/min), smo merili z zbiranjem izpirka v graduirano epruveto;
- EKG s pomočjo elektrod, pripetih na srce;
- sproščanje laktatne dehidrogenaze; obsežnost poškodb miokarda zaradi ishemije in reperfuzije smo ocenjevali z merjenjem hitrosti sproščanja laktatne dehidrogenaze ( $\mu\text{kat g}^{-1} \text{min}^{-1}$ ) v izpirkih iz izoliranih src; aktivnost encima laktatne dehidrogenaze v izpirkih smo merili s spektrofotometrom Beckman DU 65 (ZDA) po metodi Wroblewski-LaDue (9); reagente za merjenje aktivnosti laktatne dehidrogenaze smo pripravljali sami (10);
- temperaturo pod srcem ( $^{\circ}\text{C}$ ); merili smo jo s termometrom, povezanim z dvokovinsko sondo in smo jo vzdrževali pri  $38 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .

### Oprema za zajem in obdelavo podatkov

Računalniško zajemanje in obdelava signalov je potekala s programsko opremo, ki smo jo v okolju Windows 3.1 razvili v našem laboratoriju (11). Uporabljali smo računalnik ATR (SLC2, 50 Mhz).

### Reagenti in učinkovine

Uporabljali smo naslednje reagente in učinkovine:

- eter (Aether ad narcosin, Lek),
- uretan (20 % v fiziološki raztopini),
- heparin (Krka),
- NADH (Boehringer),
- natrijev klorid (Alkaloid)
- tris pufer (hidroksimetil-aminometan, Boehringer),
- glukoza (Kemika),
- natrijev hidrogenkarbonat (Kemika),
- kalijev klorid (Kemika),
- dimetilsulfoksid (DMSO; Serva),
- famotidin (Krka),
- kloropiramin (Synopen<sup>®</sup>, Pliva).

Za raztapljanje famotidina smo uporabili dimetilsulfoksid in 5 molaro raztopino HCl in tako pripravili 5 milimolaro matično raztopino v dvakrat destilirani vodi, iz katere smo z RL-raztopino pred vsakim poskusom pripravili raztopino ustrezne koncentracije.

### Statistična obdelava podatkov

Rezultati so izraženi kot srednje vrednosti (srednje vrednosti  $\pm$  standardna napaka ocenjene povprečij). Statistične značilnosti razlik med srednjimi vrednostmi skupin smo izračunali z dvosmernim Studentovim t-testom. Rezultate smo šteli kot statistično značilne pri  $p \leq 0,05$ .

### **Potek poskusov**

Poskusi so trajali 160 minut. Pri vseh poskusih je skozi srca tekla najprej 30 ali 40 minut RL-raztopina, nasičena s kisikom (to je ekvilibracijski čas).

Poskuse smo izvajali v šestih skupinah:

- kontrolni poskusi,
- kontrolni poskusi z ishemijo,
- poskusi s kloropiraminom z oksigenirano RL-raztopino,
- poskusi s famotidinom z oksigenirano RL-raztopino,
- poskusi s kloropiraminom pri 60-minutni ishemiji in
- poskusi s famotidinom pri 60-minutni ishemiji.

Končna koncentracija kloropiramina oz. famotidina v perfuzijski raztopini je bila 10  $\mu\text{mol/l}$ .

### **Kontrolni poskusi**

Skozi srca je tekla RL-raztopina, nasičena s kisikom, ves čas poskusov.

### **Kontrolni poskusi z ishemijo**

Po preteku ekvilibracijskega časa smo srce izpostavili ishemiji. Izvedli smo jo tako, da smo pretok skozi srce zmanjšali na približno desetino običajnega pretoka in perfuzijska tekočina je bila namesto s kisikom nasičena z dušikom. Ishemijo smo vzdrževali 60 minut. Po tem času smo srca ponovno perfundirali z RL-raztopino, nasičeno s kisikom (reaksionirali).

### **Poskusi s kloropiraminom oz. famotidinom z oksigenirano RL-raztopino**

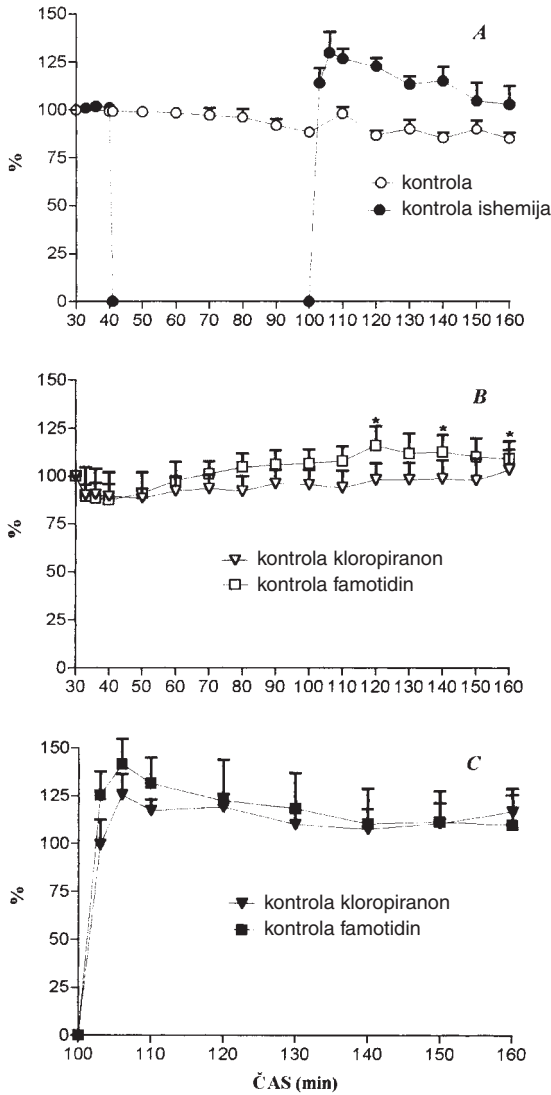
Po preteku ekvilibracijskega časa smo srca perfundirali z RL-raztopino, nasičeno s kisikom, in z dodanim kloropiraminom oz. famotidinom v končni koncentraciji 10  $\mu\text{mol/l}$ , ki smo jo dovajali v srca do konca poskusa.

### **Poskusi s kloropiraminom oz. famotidinom pri 60-minutni ishemiji**

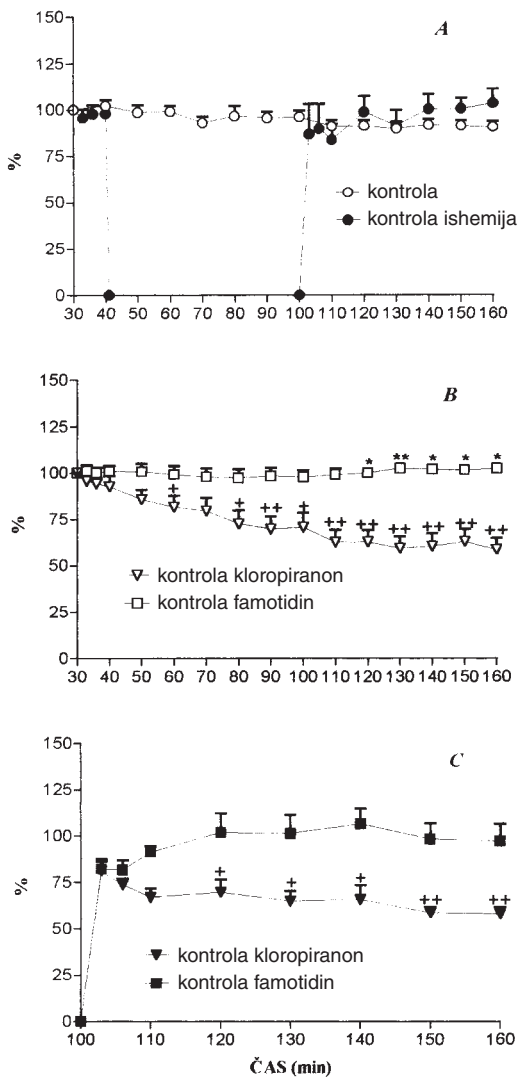
Po končanem ekvilibracijskem času smo srca perfundirali 10 minut z RL-raztopino, ki smo ji dodali kloropiramin oz. famotidin. Po 10 minutah dovajanja te raztopine smo srca začeli perfundirati z raztopino, nasičeno z dušikom, in z dodanim kloropiraminom oz. famotidinom, perfuzijo skozi srce pa smo zmanjšali na približno desetino običajnega pretoka. Ishemijo smo vzdrževali 60 minut. Zatem smo srca ponovno perfundirali z oksigenirano raztopino z dodanim kloropiraminom oz. famotidinom in vzpostavili običajen pretok do konca poskusa.

### **Rezultati**

Rezultate poskusov za posamezne spremenljivke izražamo v odstotkih od vrednosti na koncu ekvilibracijskega časa, vrednost količnika Q kot razmerje  $(-dp/dt_{\text{max}})/(+dp/dt_{\text{max}})$ , hitrost sproščanja laktatne dehidrogenaze v izpirkih pa v  $\mu\text{kat g}^{-1} \text{min}^{-1}$ .



Slika 1. Tlak v levem prekatu pri srcu podgane, izoliranem po Langendorffu. A – kontrolni poskusi z oksigenirano RL-raztopino in z ishemijo, B – poskusi s kloropiraminom oz. famotidinom z oksigenirano RL-raztopino, C – poskusi s kloropiraminom oz. famotidinom pri 60-minutni ishemiji. Pri A in B prikazujemo spremembe od začetka ekvilibracijskega časa dalje, pri C pa spremembe po končani 60-minutni ishemiji. Famotidin oz. kloropiramin sta bila dodana RL-raztopini v končni koncentraciji 10  $\mu\text{mol/l}$ . Spremembe so izražene v % zadnje vrednosti ekvilibracijskega časa (= 100%). Vsak znak predstavlja srednjo vrednost  $\pm$  standardna napaka ocene povprečij (n = 5–7). \*  $p < 0,05$ , koncentracija famotidina v primerjavi s kontrolo. Prazni znaki: poskusi brez ishemije; polni znaki: poskusi z ishemijo.



Slika 2. Frekvenca utripov pri srcu podgane, izoliranem po Langendorffu. A – kontrolni poskusi z oksigenirano RL-raztopino in z ishemijo, B – poskusi s kloropiraminom oz. famotidinom z oksigenirano RL-raztopino, C – poskusi s kloropiraminom oz. famotidinom pri 60-minutni ishemiji. Pri A in B prikazujemo spremembe od začetka ekvibracijskega časa dalje, pri C pa spremembe po končani 60-minutni ishemiji. Famotidin oz. kloropiramin sta bila dodana RL-raztopini v končni koncentraciji 10 μmol/l. Spremembe so izražene v % zadnje vrednosti ekvibracijskega časa (= 100 %). Vsak znak predstavlja srednjo vrednost ± standardna napaka ocene povprečij (n = 5–7). + p < 0,05, ++ p < 0,01, koncentracija kloropiramina v primerjavi s kontrolo; \* p < 0,05, \*\* p < 0,01, koncentracija famotidina v primerjavi s kontrolo. Prazni znaki: poskusi brez ishemije; polni znaki: poskusi z ishemijo.

### Inotropni učinek

Tlak v levem prekatu pri kontrolnih poskusih je počasi padal in je ob koncu dosegel  $84,8 \pm 3,0\%$  začetne vrednosti (slika 1a). Pri kontrolnih poskusih z ishemijo se srce med ishemijo ni krčilo (slika 1b). Pri kontrolnih poskusih z dodanim kloropiraminom oz. famotidinom je bil tlak v levem prekatu višji kot pri kontrolnih poskusih samo z oksigenirano RL-raztopino. Famotidin je značilno zvišal pritisk v levem prekatu (slika 1b). Ob reperfuziji niti kloropiramin niti famotidin nista vplivala na tlak v levem prekatu v primerjavi s kontrolnimi poskusi z ishemijo (slika 1c).

### Kronotropni učinek

Ob koncu kontrolnih poskusov samo z oksigenirano RL-raztopino se je frekvenca srčnih utripov znižala na  $90,5 \pm 3,1\%$  začetne vrednosti. Med ishemijo pri nobeni skupini srce ni utripalo (slika 2a). Famotidin je pri kontrolnih poskusih značilno zvišal, kloropiramin pa značilno znižal frekvenco srčnih utripov v primerjavi s kontrolnimi poskusi samo z oksigenirano RL-raztopino (slika 2b). Značilne razlike med vrednostmi frekvence utripov srca pri kontrolnih poskusih s kloropiraminom v primerjavi s famotidinom smo našli od 60. minute do konca poskusov (slika 2b). Pri poskusih z ishemijo s famotidinom se frekvenca utripov srca po vzpostavitvi reperfuzije ni pomembno razlikovala od kontrolnih poskusov z ishemijo. Famotidin ob reperfuziji ni vplival na frekvenco utripov srca v primerjavi s kontrolnimi poskusi z ishemijo. Frekvenca utripov srca pri poskusih z ishemijo s kloropiraminom je bila značilno nižja kot pri famotidinu (slika 2c).

### Količnik Q

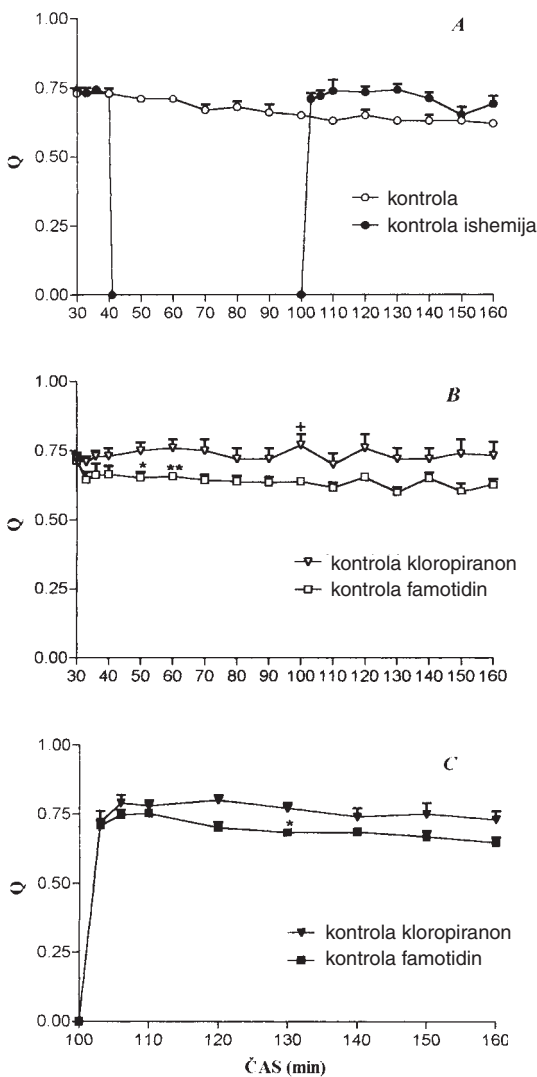
Količnik Q izraža delovanje srca.

Vrednost količnika Q je ob začetku kontrolnih poskusov znašala  $0,73 \pm 0,02$ , nato je počasi padala in ob koncu poskusov dosegla  $0,62 \pm 0,01$  (slika 3a). Vrednost količnika Q pri kontrolnih poskusih z ishemijo se po končani ishemiji ni bistveno spreminjala (slika 3a). Kloropiramin je v primerjavi s kontrolnimi poskusi zvišal vrednost količnika Q do konca poskusov, famotidin pa je njegovo vrednost znižal (slika 3b). Kloropiramin pred ishemijo in po njej ni pomembno vplival na vrednost količnika Q. Famotidin je deset minut po vzpostavitvi reperfuzije zvišal vrednost količnika Q v primerjavi s kontrolnimi poskusi z ishemijo, nato pa jo pri 130. minuti značilno znižal ( $0,68 \pm 0,01$ ) (slika 3c).

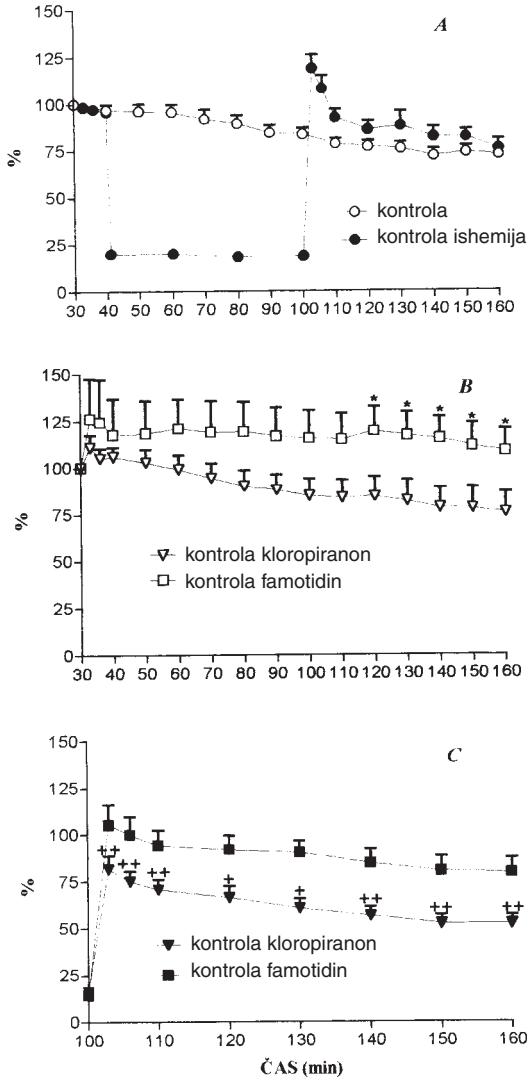
### Pretok v srčnih žilah

Pretok v srčnih žilah se je pri kontrolnih poskusih ob koncu poskusov zniževal do  $72,1 \pm 3,2\%$  začetne vrednosti (slika 4a). Pretok v srčnih žilah med ishemijo je bil pri kontrolnih poskusih in pri poskusih s kloropiraminom in famotidinom močno znižan (med 14 in 20 % začetne vrednosti). Kloropiramin in famotidin sta pri kontrolnih poskusih zvišala koronarni pretok v primerjavi s kontrolnimi poskusi z oksigenirano RL-raztopino (slika 4b). Famotidin ob reperfuziji ni vplival na pretok v srčnih žilah. Pretok v srčnih žilah pri poskusih z ishemijo s kloropiraminom je bil ves čas reperfuzije značilno manjši kot pretok pri poskusih s famotidinom (slika 4c).





Slika 3. Količnik  $Q$  pri srcu podgane, izoliranem po Langendorffu. A – kontrolni poskusi z oksigenirano RL-raztopino in z ishemijo, B – poskusi s kloropiraminom oz. famotidinom z oksigenirano RL-raztopino, C – poskusi s kloropiraminom oz. famotidinom pri 60-minutni ishemiji. Pri A in B prikazujemo spremembe od začetka ekvilibracijskega časa dalje, pri C pa spremembe po končani 60-minutni ishemiji. Famotidin oz. kloropiramin sta bila dodana RL-raztopini v končni koncentraciji 10  $\mu\text{mol/l}$ . Spremembe so izražene v % zadnje vrednosti ekvilibracijskega časa (= 100%). Vsak znak predstavlja srednjo vrednost  $\pm$  standardna napaka ocene povprečij ( $n = 5-7$ ). +  $p < 0,05$ , koncentracija kloropiramina v primerjavi s kontrolo; \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , koncentracija famotidina v primerjavi s kontrolo. Prazni znaki: poskusi brez ishemije; polni znaki: poskusi z ishemijo.



Slika 4. Koronarni pretok pri srcu podgane, izoliranem po Langendorffu. A – kontrolni poskusi z oksigenirano RL-raztopino in z ishemijo, B – poskusi s kloropiraminom oz. famotidinom z oksigenirano RL-raztopino, C – poskusi s kloropiraminom oz. famotidinom pri 60-minutni ishemiji. Pri A in B prikazujemo spremembe od začetka ekvilibrijskega časa dalje, pri C pa spremembe po končani 60-minutni ishemiji. Famotidin oz. kloropiramin sta bila dodana RL-raztopini v končni koncentraciji 10  $\mu\text{mol/l}$ . Spremembe so izražene v % zadnje vrednosti ekvilibrijskega časa (= 100%). Vsak znak predstavlja srednjo vrednost  $\pm$  standardna napaka ocene povprečij ( $n = 5-7$ ). +  $p < 0,05$ , ++  $p < 0,01$ , koncentracija kloropiramina v primerjavi s kontrolo; \*  $p < 0,05$ , koncentracija famotidina v primerjavi s kontrolo. Prazni znaki: poskusi brez ishemije; polni znaki: poskusi z ishemijo.

## Vpliv na aritmije

Pri kontrolnih poskusih z oksigenirano RL-raztopino se niso pojavile aritmije (tabela 1).

Pri kontrolnih poskusih s kloropiraminom se je pri treh srcih pojavila bradikardija (tabela 1):

- pri prvem srcu v 50. minuti ( $62,4 \pm 5,5\%$  začetne vrednosti frekvenca utripov srca),
- pri drugem v 70. minuti ( $67,4 \pm 6,9\%$  začetne vrednosti frekvenca utripov srca) in
- pri tretjem v 80. minuti ( $67,7 \pm 7,2\%$  začetne vrednosti frekvenca utripov srca) in je pri vseh treh trajala do konca poskusov.

Pri kontrolnih poskusih s famotidinom nismo opazili sprememb v delovanju srca v primerjavi s kontrolo (tabela 1).

Pri kontrolnih poskusih z ishemijo se je pri dveh srcih pojavila fibrilacija (tabela 1):

- pri prvem 5-minutna;
- pri drugem je najprej v 130. minuti nastopila tahikardija, ki je po 5 minutah prešla v fibrilacijo. Ta je trajala do konca poskusa.

Kloropiramin je v reperfuziji pri dveh srcih povzročil bradikardijo (tabela 1):

- pri prvem srcu v 106. minuti ( $73,6 \pm 3,4\%$  začetne vrednosti frekvenca utripov srca),
- pri drugem v 110. minuti ( $49,7 \pm 4,6\%$  začetne vrednosti frekvenca utripov srca).

Famotidin je v reperfuziji pri štirih srcih povzročil aritmije (tabela 1):

- pri prvem je bila od 106. do 110. minute prisotna tahikardija, ki ji je sledila fibrilacija do konca poskusa,
- pri drugem je nastopila v 130. minuti sinusna aritmija, pri čemer se frekvenca utripov ni spremenila,
- pri tretjem je bila od 106. do 130. minute prisotna sinusna aritmija, ki ji je sledila tahikardija do konca poskusa in
- pri četrtem srcu je nastopila 120. minuto tahikardija in je trajala do konca poskusa.

Tabela 1. Pojav aritmij: pri kontrolnih poskusih samo z oksigenirano RL-raztopino (kontrola), kontrolnih poskusih s kloropiraminom oz. famotidinom v oksigenirani RL-raztopini in pri poskusih z ishemijo (kontrolnih poskusih in poskusih s kloropiraminom oz. famotidinom pri 60-minutni ishemiji). n – število poskusnih živali.

Skupina	Število bradikardij	Frekvenca ob bradikardiji (% začetne vrednosti)	Število tahikardij	Število fibrilacij
<b>Kontrola (n = 7)</b>	–	–	–	–
<b>Kontrola s kloropiraminom (n = 6)</b>	3	62,4–67,7	–	–
<b>Kontrola s famotidinom (n = 5)</b>	–	–	–	–
<b>Kontrola z ishemijo (n = 5)</b>	–	–	–	2
<b>Ishemija s kloropiraminom (n = 6)</b>	2	49,7–73,6	–	–
<b>Ishemija s famotidinom (n = 5)</b>	–	–	3	1

## Sproščanje laktatne dehidrogenaze

Pri kontrolnih poskusih samo z oksigenirano RL-raztopino se je hitrost sproščanja laktatne dehidrogenaze do konca poskusov zmanjševala (od  $2,3 \pm 1,3 \mu\text{kat g}^{-1} \text{min}^{-1}$  na začetku poskusov do  $0,7 \pm 0,2 \mu\text{kat g}^{-1} \text{min}^{-1}$  na koncu poskusov). Pri kontrolnih poskusih z ishemijo se je v 6. minuti po vzpostavitvi reperfuzije hitrost sproščanja laktatne dehidrogenaze povečala na  $8,3 \pm 3,2 \mu\text{kat g}^{-1} \text{min}^{-1}$  (slika 5a). Kloropiramin in famotidin sta povečala hitrost sproščanja laktatne dehidrogenaze pri kontrolnih poskusih (slika 5b). Po vzpostavitvi reperfuzije je kloropiramin znižal hitrost sproščanja laktatne dehidrogenaze v primerjavi s kontrolnimi poskusi z ishemijo, vendar ne značilno. Pri poskusih z ishemijo s famotidinom je bila hitrost sproščanja laktatne dehidrogenaze večja kot pri kontrolnih poskusih z ishemijo in je dosegla vrednost  $16,6 \pm 1,8 \mu\text{kat g}^{-1} \text{min}^{-1}$  10 minut po vzpostavitvi reperfuzije (slika 5c).

## Razpravljanje

Iz rezultatov naših poskusov lahko sklepamo, da v srcu podgane posredujejo receptorji  $H_1$  pozitivni kronotropni učinek, razširitev srčnih žil, da poslabšajo delovanje srca in da varujejo ishemično srce v reperfuziji pred fibrilacijo (povzročijo pa bradikardijo). Receptorji  $H_2$  bi lahko posredovali negativni inotropni in negativni kronotropni učinek, skrcenje srčnih žil in izboljšajo delovanje srca.

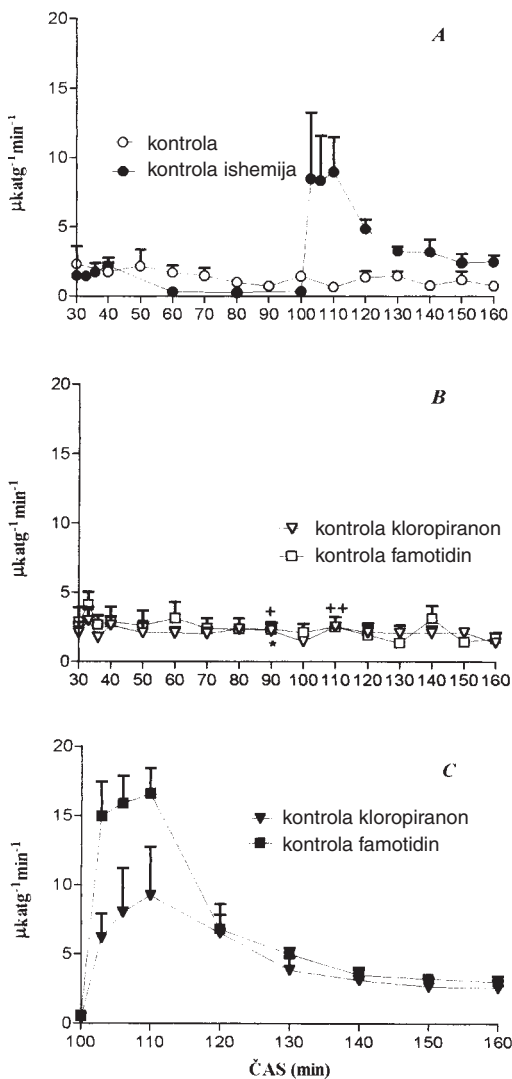
Pri naših kontrolnih poskusih je famotidin značilno zvišal tlak v levem prekatu (pozitivni inotropni učinek na izolirano podganje srce), kar bi lahko pomenilo, da receptorji  $H_2$  posredujejo negativen inotropni učinek. Zvišal je tudi maksimalni sistolični in končni diastolični tlak (pozitivne in negativne odvode tlakov) v levem prekatu. Količnik Q, ki odraža delovanje srca, se je v začetku poskusov pod vplivom famotidina znižal, nato nekaj časa nihalo in se ob koncu poskusov ustalil pri vrednosti, ki je bila enaka vrednosti pri kontrolnih poskusih, iz česar bi lahko sklepali, da se s posredovanjem receptorjev  $H_2$  delovanje srca izboljša.

Kloropiramin je pri kontrolnih poskusih zvišal tlak v levem prekatu, vendar ne značilno, znižal je maksimalni sistolični tlak (pozitivni odvod tlaka) v levem prekatu, na končni diastolični tlak (negativni odvod tlaka) ni vplival, količnik Q pa je bil značilno zvišan, kar bi lahko kazalo na posredovanje receptorjev  $H_1$  v smislu poslabšanja delovanja srca.

Na inotropni učinek v reperfuziji niti famotidin niti kloropiramin nista vplivala.

Histaminov vpliv na moč srčnega krčenja, posebno pri podganem srcu, pogosto razlagajo s histaminovim vplivom na sproščanje endogenih kateholaminov. Pri podganjih srcih so pozitivni inotropni učinek histamina uspešno zavrlji s kombinacijo antagonist receptorjev  $H_2$  in antagonist adrenergičnih receptorjev  $\beta$  (8). Učinki histamina so podobni tistim, ki jih povzroči stimulacija adrenergičnih receptorjev  $\beta$ , čeprav so odzive histamina zavrlji z antagonistom receptorjev  $H_2$  cimetidinom, ne pa z antagonistom receptorjev  $\beta$  propranololom (12).

Pri naših kontrolnih poskusih je famotidin značilno zvišal, kloropiramin pa značilno znižal frekvenco utripov srca. Iz teh rezultatov bi lahko sklepali, da receptorji  $H_2$  posredujejo negativni kronotropni, receptorji  $H_1$  pa pozitivni kronotropni učinek na srce.



Slika 5. Hitrost sproščanja laktatne dehidrogenaze pri srcu podgane, izoliranem po Langendorffu. A – kontrolni poskusi z oksigenirano RL-raztopino in z ishemijo, B – poskusi s kloropiraminom oz. famotidinom z oksigenirano RL-raztopino, C – poskusi s kloropiraminom oz. famotidinom pri 60-minutni ishemiji. Pri A in B prikazujemo spremembe od začetka ekvilibrijskega časa dalje, pri C pa spremembe po končani 60-minutni ishemiji. Famotidin oz. kloropiramin sta bila dodana RL-raztopini v končni koncentraciji 10 μmol/l. Spremembe so izražene v % zadnje vrednosti ekvilibrijskega časa (= 100%). Vsak znak predstavlja srednjo vrednost ± standardna napaka ocene povprečij (n = 5–7). + p < 0,05, ++ p < 0,01, koncentracija kloropiramina v primerjavi s kontrolo; \* p < 0,05, koncentracija famotidina v primerjavi s kontrolo. Prazni znaki: poskusi brez ishemije; polni znaki: poskusi z ishemijo.

Rezultati naših poskusov se ne ujemajo povsem z rezultati drugih raziskovalcev. Tako je Cakici s sodelavci (13) opisal dvofazni učinek histamina na spontano bitje atrijev podganjih src. Dvofazni učinek histamina se je odražal z začetno dobo z negativnim kronotropnim učinkom, po štirih minutah pa ji je sledila doba s pozitivnim kronotropnim učinkom, ki je dosegla plato po osmih minutah. Proučevali so vpliv antagonistov na ta učinek. Antagonist adrenergičnih receptorjev  $\beta$  (propranolol) je skrajšal trajanje sekundarne pozitivne kronotropne dobe, značilno pa je podaljšal trajanje začetne negativne kronotropne dobe. Antagonist receptorjev  $H_1$  (feniramin) je skrajšal trajanje negativne kronotropne dobe, podaljšal pa je trajanje pozitivne kronotropne dobe. To dejstvo je vodilo v hipotezo, da bi začetni negativni kronotropni učinek lahko posredovali receptorji  $H_1$ . Antagonist receptorjev  $H_2$  (cimetidin) ni vplival na obe fazi, zato so sklepali, da podgane srce nima funkcionalnih receptorjev  $H_2$ .

Malinowska s sodelavci (14) je proučevala vpliv agonistov receptorjev  $H_1$  (dimaprita),  $H_2$  (2-(2-tiazolil)etilamina) in  $H_3$  (R-(–)- $\alpha$ -metilhistamina) na bazalni utrip srca. Glede na to, da podgana v splošnem ni zelo občutljiva na histamin, se je izkazala kot primeren eksperimentalni model za opredelitev prisotnosti in funkcije receptorjev  $H_3$ . Podgane so žrtvovali z vbodom v hrbtnjačo, kar jim je omogočilo proučevanje srčnih presinaptičnih receptorjev  $H_3$ , endotelijskih receptorjev  $H_1$  in žilnih receptorjev  $H_2$  na enem samem poskusnem modelu. Srčnih presinaptičnih receptorjev  $H_1$  in  $H_2$  kot tudi postsinaptičnih receptorjev  $H_3$  v podganjem srcu niso našli. R-(–)- $\alpha$ -metilhistamin se je izkazal kot šibek agonist adrenergičnih receptorjev  $\alpha_2$  in histaminskih receptorjev  $H_1$  in  $H_2$ . Vsi trije preizkušeni agonisti niso vplivali na bazalni utrip srca. Električno induciran porast utripa srca so zmanjšali z R-(–)- $\alpha$ -metilhistaminom, ne pa tudi z 2-(2-tiazolil) etilaminom in dimapritom.

Pri kontrolnih poskusih naše raziskave je kloropiramin povečal pretok v srčnih žilah, vendar ne značilno, famotidin pa ga je značilno povečal. Ob reperfuziji je kloropiramin značilno zmanjšal pretok v srčnih žilah, kar kaže na prisotnost receptorjev  $H_1$  v srčnih žilah, kjer posredujejo njihovo razširjanje.

Ti naši rezultati se ujemajo z izsledki Akarja in sodelavcev (15), ki menijo, da nastopi razširitev srčnih žil pri Langendorffovih perfundiranih podganjih srcih zaradi delovanja histamina na receptorje  $H_1$ .

Vpliv kloropiramina in famotidina na aritmije je iz izsledkov naših poskusov težko vrednotiti. Pri naših kontrolnih ishemičnih poskusih se je namreč pri dveh srcih pojavila fibrilacija.

Kloropiramin, ki je pri kontrolnih poskusih pri treh srcih povzročil bradikardijo, je tudi pri poskusih z ishemijo pri dveh srcih povzročil bradikardijo.

Famotidin, ki pri kontrolnih poskusih ni povzročal sprememb v ritmu delovanja srca, je pri poskusih z ishemijo pri štirih srcih povzročil tahikardijo, pri enem tudi fibrilacijo. Tudi rezultati teh poskusov kažejo na verjetnost, da receptorji  $H_1$  posredujejo pozitivni kronotropni, receptorji  $H_2$  pa negativni kronotropni učinek v srcu podgane.

Antagonista receptorjev  $H_2$ , cimetidin in ranitidin, značilno zmanjšata obseg in podaljšata čas do pričetka ventrikularne tahikardije in fibrilacije ob reperfuziji. Podganja srca se v primerjavi s srci drugih sesalcev manj odzivajo na histamin, zato so proučevali vlogo histamina na pojav zgodnjih ventrikularnih aritmij med akutno miokardno ishemijo, ki stimulira sproščanje histamina iz srčnih tkiv. Mehanizem tega pojava ostaja nerazjasnjen. Povečano sproščanje histamina iz srčne mišice med akutno ishemijo je lahko rezultat povečanega aktivnega procesa izločanja maščobnih celic, lahko pa je le posledica tkivnega odmrtja (16).

Zaviranje sinteze histamina zmanjša pojavnost ventrikularnih aritmij pri podganah med ishemično-reperfuzijsko poškodbo. Zmanjšanje pojavnosti aritmij ob reperfuziji je glavni učinek blokade receptorjev  $H_1$  pri izoliranem podganjem srcu. S histaminom povzročeni škodljivi učinki so kompleksni, in to ne le zaradi aritmij ob reperfuziji. Dajanje inhibitorjev sinteze histamina podganam zmanjša nastanek aritmij. Kronotropni in aritmogeni učinki histamina pri podganah so najbrž v glavnem posledica delovanja preko receptorjev  $H_2$ : pozitivni kronotropni učinek histamina pri izoliranih neonatalnih srčnih mišičnih celicah podgane so zavrlji s cimetidinom; z ishemijo povzročene aritmije so inhibirali z antagonistom receptorjev  $H_2$ , ni pa bilo opaziti izboljšanje delovanja levega prekata (16).

Z zgoraj navedenimi dejstvi se ne ujema raziskava, ki jo je opravila Valenova s sodelavci (7). Tridesetminutna ishemija na izoliranem podganjem srcu je povečala sproščanje histamina v koronarni izpitek med zgodnjo reperfuzijo, spremljale so jo aritmije, poslabšanje funkcije levega prekata in zmanjšan pretok v srčnih žilah. Uporaba antagonist receptorjev  $H_2$  cimetidina ni povzročila sprememb v pretoku v srčnih žilah, frekvenci utripov srca in tlaku v levem prekatu. Antagonist receptorjev  $H_1$  klorfeniramin pa je zavrl nastanek aritmij in povečal pretok v koronarnih žilah. Hkratna uporaba antagonistov receptorjev  $H_1$  in  $H_2$  je dala podobne rezultate kot uporaba samo antagonistov receptorjev  $H_1$ .

Za ta nasprotujoča si dejstva raziskav, opravljenih v različnih pogojih (nekateri modeli ishemije, tj. nekatere srčne poškodbe, lahko zmanjšajo celično presnovo in onemogočijo celicam, da bi tvorile histamin; izbira učinkovin in njihovih koncentracij, vir učinkovin), ni zadovoljive razlage (7).

Pri naših poskusih niti kloropiramin niti famotidin nista pomembno vplivala na obseg okvar srčne mišice, na kar smo sklepali po njunem vplivu na hitrost sproščanja laktatne dehidrogenaze.

Kantrowitz (17), ki je s sodelavci delal poskuse na belih novozelandskih kuncih, je postavil tezo, da histamin povzroči miokardne poškodbe s posredovanjem receptornega mehanizma  $H_1$ , ki je neodvisen od začetnih sprememb v koronarnem pretoku. Poškodba srčne mišice, ki jo povzroči histamin, je rezultat vplivov na srčne žile, neposrednega poškodovanja mišičnih celic in posrednega mehanizma, ki ne vključuje srčnega krvnega pretoka. Zmanjšan pretok v srčnih žilah ni rezultat primarnega konstriktornega učinka histamina, ampak je rezultat znižanega sistoličnega tlaka, zmanjšane krčljivosti miokarda in povišane frekvence utripov srca. Antagonist receptorjev  $H_1$  (difeniramin) ni pre-

prečil začetnega, s histaminom povzročene zmanjšanja srčnožilnega krvnega pretoka, preprečil pa je poškodbo srca, kar kaže, da so morfološki učinki histamina neodvisni od zgodnjega zmanjšanja srčnožilnega pretoka.

Razlika med rezultati, dobljenimi pri kuncih ter pri podganah, bi lahko šla na račun različne razporeditve receptorjev pri obeh živalskih vrstah.

Pri naših poskusih so bile poskusne razmere do meja možnosti vseskozi enake. Kljub temu se je srčnožilni pretok med ishemijo pri posameznih srcih različno zmanjšal. Tudi obsežnost poškodb, ki smo jo ocenjevali predvsem s hitrostjo sproščanja laktatne dehidrogenaze in s pojavom aritmij, je bila pri različnih srcih različna.

Izsledki naše raziskave s kloropiraminom in famotidinom grede lahko na račun blokade receptorjev  $H_1$  in  $H_2$  v srcu podgane, lahko so pa tudi izraz specifičnih učinkov obeh uporabljenih učinkovin. To smo upoštevali pri vrednotenju vseh naših rezultatov.

## Sklep

Iz izsledkov naše raziskave lahko povzamemo, da so v srcu podgane poleg histaminskih receptorjev  $H_1$  prisotni tudi receptorji  $H_2$ . Rezultati naših poskusov tudi kažejo na možnost, da v srcu podgane posredujejo receptorji  $H_1$  pozitivni kronotropni učinek, razširitev srčnih žil, da poslabšajo delovanje srca in da varujejo ishemično srce v reperfuziji pred fibrilacijo (povzročijo pa bradikardijo). Receptorji  $H_2$  pa bi lahko posredovali negativni inotropni in negativni kronotropni učinek, skrčenje srčnih žil in izboljšajo delovanje srca.

## Zahvala

Zahvaljujem se svoji mentorici prof. dr. Metki V. Budihna, ki me je pri delu nenehno usmerjala in mi ves čas nudila vsestransko pomoč.

Iskrena hvala mag. Gorazdu Drevenšku, dipl. biol., ki me je z veliko mero razumevanja in potrpežljivosti uvedel v praktično laboratorijsko delo. V veliko pomoč so mi bile njegove izkušnje in nasveti.

Hvala tudi vsem drugim delavcem Inštituta za farmakologijo in eksperimentalno toksikologijo, ki so kakorkoli pripomogli, da sem nalogo uspešno končala.

---

## Literatura

1. Mannaioni PF. Physiology and pharmacology of cardiac histamine revisited. In: Ganellin CR, Schwartz JC, eds. *Frontiers in histamine research. Adv Biosci 1984; 51: 301–4.*
2. Levi R, Rubin LE, Gross SS. Histamine in cardiovascular function and dysfunction: recent developments. In: Borm GVR, Cuatrecasas P, Herken H, eds. *Handbook of experimental pharmacology.* Berlin: Springer, 1991: 347–83.
3. Coruzzi G, Gambarelli E, Bertaccini G. Cardiovascular effects of histamine  $H_3$  receptor agonists and antagonists in the anaesthetised rat. In: *First European congress of pharmacology.* Milan: EPBAR, 1995: 74.
4. Čarman-Kržan M. Radioligand-receptor binding in membrane receptor research. *Prog Med Chem 1986; 23: 41–89.*



5. Luo XX, Tan YH, Sheng BH. Histamine H<sub>2</sub>-receptors inhibit sympathetic neurotransmission in guinea pig myocardium. *Eur J Pharmacol* 1991; 204: 311–4.
6. Clark WG, Brater DC, Johnson AR. *Goth's Medical Pharmacology*. St. Louis: Mosby, 1992; 192–202.
7. Valen G, Kaszaki J, Szabo I, Nagy S, Vaage J. Histamine release and its effects in ischaemia-reperfusion injury of the isolated rat heart. *Acta Physiol Scand* 1994, 150: 413–24.
8. Mc Neill JH. Histamine and the heart. *Can J Physiol Pharmacol* 1984; 62: 720–726.
9. Wroblewski F, LaDue J. Lactic dehydrogenase activity in blod. *Proc Soc Exp Biol* 1955; 90: 210–15.
10. Vassault A. Lactate dehydrogenase. UV-method with pyruvat and NADH. In: Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Grassl M, eds. *Methods of enzymatic analysis*. Basel: Verlag Chemie, 1983: 118–38.
11. Kocijančič S, Drevenšek G, Budihna MV. Computer support for experiments on isolated hearts. *Eur J Physiol* 1996; 431: 273–74.
12. Muramatsu I, Noda M, Nishio M, Kigoshi S. Histamine increases the Ca current in guinea-pig ventricular myocytes. *Eur J Pharmacol* 1987; 138: 269–72.
13. Cakici C, Abacioglu N, Kanzik L, Zengil H. Biphasic effect of histamine on spontaneously beating rat atria. *Gen Pharmac* 1992; 23: 705–8.
14. Malinowska B, Schlicker E. Identification of endothelial H<sub>1</sub>, vascular H<sub>2</sub>, and cardiac presynaptic H<sub>3</sub> receptors in the pithed rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1993; 347: 55–60.
15. Akar F, Ercan ZS, Turker RK. A marked H<sub>1</sub>-receptor-mediated vasodilator effect of histamine in the isolated perfused rat heart. *Eur J Pharmacol* 1984; 97: 265–69.
16. Dai S. Ventricular histamine concentrations and arrhythmias during acute myocardial ischaemia in rats. *Agents and Actions* 1987; 21: 66–71.
17. Kantrowitz NE, Ellis AK, Bristow MR, Minobe W, Billingham ME, Harrison DC. Histamine mediates myocardial damage by an H<sub>1</sub> mechanism independent of coronary blood flow. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; 15: 82–8.