

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXI, 44

SECTIO D

1966

Katedra i Zakład Patologii Ogólnej i Doświadczalnej, Wydział Lekarski
Akademia Medyczna w Lublinie

Kierownik: prof. dr med. Jarosław Billewicz-Stankiewicz

Jarosław BILLEWICZ-STANKIEWICZ,
Zygmunt KOZIARA

Badania nad miotropowym działaniem 5-hydroksytryptaminy

Recherches sur l'influence myotrope de la 5-hydroxytryptamine

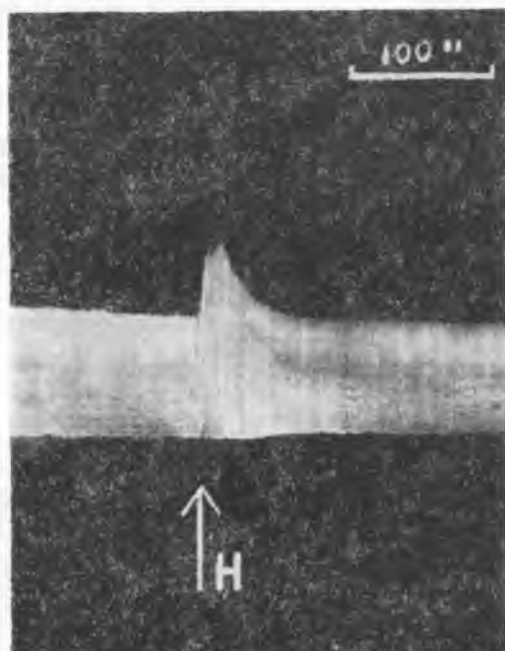
Wyniki dotychczasowych badań nad wpływem 5-hydroksytryptaminy (5-HT, serotoniny) na pobudliwość połączeń nerwowo-mięśniowych i mięśni szkieletowych zawierają liczne sprzeczności (2, 3, 4, 5). Zadaniem obecnej pracy było podjęcie na nowo tego tematu i wyrobienie poglądu na podstawie doświadczeń własnych.

METODYKA

Pierwszą część pracy wykonaliśmy posługując się jako zwierzętami doświadczalnymi krolnikami. Do doświadczeń użyliśmy 42 królików mieszańców, obojga płci, o ciężarze 1750—4000 g. Zwierzęta były usypiane 10% roztworem wodnym uretanu, podawanym dootrzewnowo w ilości 10—15 ml na 1 kg ciężaru zwierzęcia. Skurcze mięśnia łydkowego zapisywane były przy pomocy miografu izotonicznego na taśmie okopconej kimografu przy szybkości posuwu 0,2—0,4 mm/sek. Odsłonięty na krótkim odcinku nerw kulszowy drażniliśmy długotrwałym ciągiem impulsów prostokątnych o napięciu 100 v, szerokości 0,2 msek, częstotliwości 0,5 imp./sek, wytwarzanych przez generator bodźców elektrycznych. Roztwory przygotowane w izotonicznym płynie Ringera podgrzane do temp. 37°C wprowadzaliśmy do tętnicy udowej przeciwległej kończyny przy pomocy cewnika sięgającego rozwidlenia aorty brzusznej. Jako kontrole służyły wstrzykiwania czystego ogrzanego płynu Ringera.

W obecnej pracy używane były następujące środki. 5-hydroksytryptamina (Farmitalia) w postaci siarczanu kreatyniny. Wszystkie dawki podane w tekście odpowiadają czystej zasadzie. Prostygmina (polstigminum Polfa), dwuhydroergotamina (jako metanosulfonian, redergam Richter), acetylocholina (jako chlorowodorek, Roche). Ze środków kuraryzujących stosowane były: sukcynylocholina (chlor-succillin Polfa), trójetylojodek trój-(dwuetyloaminoetoksy)-1,2,3-benzenu (flaxedil Specia), d-tubokuraryna (jako chlorek, tubocurarin Orion).

W drugiej części pracy wykonaliśmy 26 doświadczeń na izolowanych mięśniach prostych brzucha żab *Rana temporaria* przy użyciu metody Ahmeda i Taylora (1). Mięsień zawieszony w miografie izotonicznym był nieustannie zwilżany ściekającym płynem Ringera. Badane substancje podawane były w 0,2 ml tego płynu.

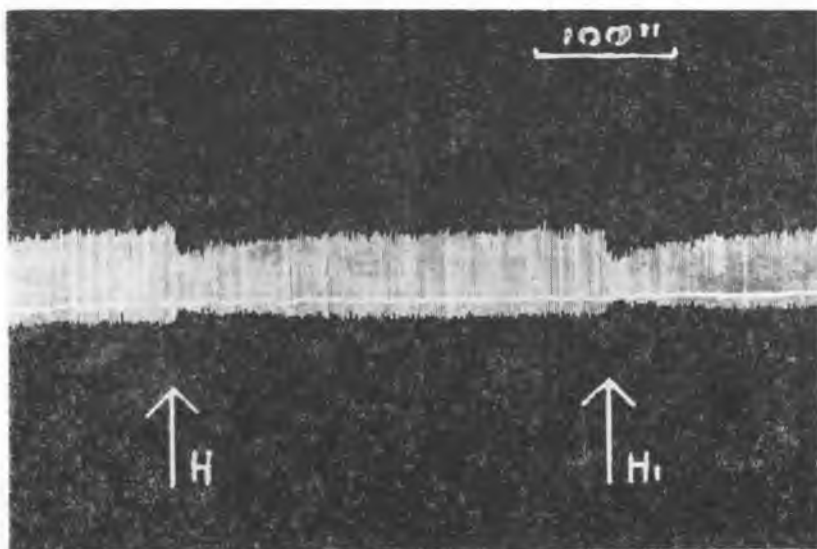


Ryc. 1. Doświadczenie nr 4. Ergogram mięśnia łydkowego królika. H — serotonina 110 $\mu\text{g/kg}$

Exp. N. 4. Ergogramme du muscle gastrocnémien du lapin. H — sérotonine 110 $\mu\text{g/kg}$

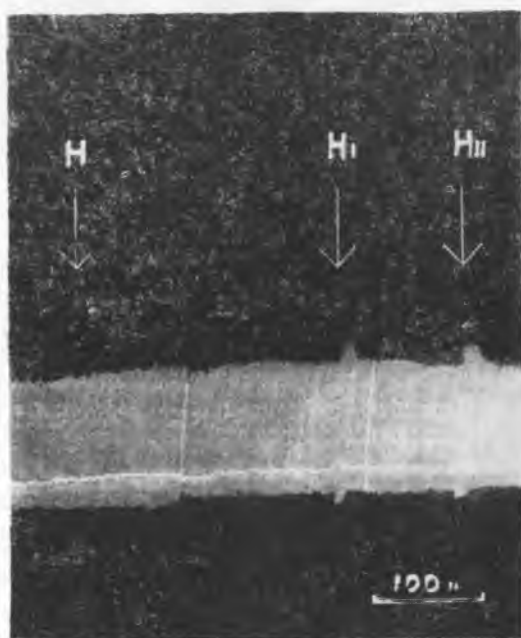
WYNIKI WŁASNE

1. Serotonina podawana dotętniczo (15—250 $\mu\text{g/kg}$) powodowała bardzo wyraźne (25—100%) zwiększenie wysokości skurczów w 15 doświadczeniach (ryc. 1). Powtarzane wprowadzanie 5-HT we wszystkich doświadczeniach tej grupy zawsze dawało podobny efekt. Zjawisko to obserwowane było zarówno w czasie pośredniego, jak i bezpośredniego drażnienia mięśnia. W 1 doświadczeniu po dawkach 25—50 $\mu\text{g/kg}$ 5-HT występowało wyraźne zmniejszanie się amplitudy skurczów (ryc. 2). W dalszych 11 doświadczeniach serotonina (15—400 $\mu\text{g/kg}$) wywoływała nieznaczne, lecz stałe występujące zwiększanie się wysokości skurczów. Brak wpływu 5-HT wprowadzanej w dawkach 5—400 $\mu\text{g/kg}$ wystąpił w 15 doświadczeniach.



Ryc. 2. Doświadczenie nr 8. Ergogram mięśnia łydkowego królika. H, H₁ — serotoninina 100 µg/kg

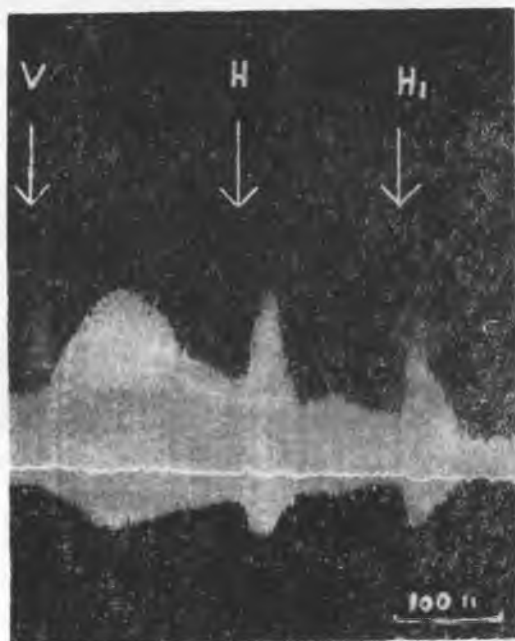
Exp. N. 8. Ergogramme du muscle gastrocnémien du lapin. H, H₁ — sérotonine 100 µg/kg



Ryc. 3. Doświadczenie nr 13. Ergogram mięśnia łydkowego królika. H — serotoninina 100 µg/kg, H_I — serotoninina 200 µg/kg, H_{II} — serotoninina 200 µg/kg

Exp. N. 13. Ergogramme du muscle gastrocnémien du lapin. H — sérotonine 100 µg/kg, H_I — sérotonine 200 µg/kg, H_{II} — sérotonine 200 µg/kg

2. Prostygmina w dawkach 10—25 $\mu\text{g/kg}$ wzmacniała dodatnie działanie serotoniny na skurcze mięśniowe (ryc. 3, 4). Zjawisko to obserwowaliśmy we wszystkich (trzech) wykonanych doświadczeniach.



Ryc. 4. Doświadczenie nr 13 ciąg dalszy. V — prostygmina 15 $\mu\text{g/kg}$, H — serotonina 100 $\mu\text{g/kg}$, H_I — serotonina 100 $\mu\text{g/kg}$

Exp. N. 13 suite. V — prostigmine 15 $\mu\text{g/kg}$, H — sérotonine 100 $\mu\text{g/kg}$.

H_I — sérotonine 100 $\mu\text{g/kg}$

3. Dwuhydroergotamina wprowadzona (0,2—0,5 mg/kg) przed serotoniną powodowała zniesienie zarówno dodatniego, jak i ujemnego wpływu 5-HT na amplitudę skurczów mięśni (ryc. 5, 6).

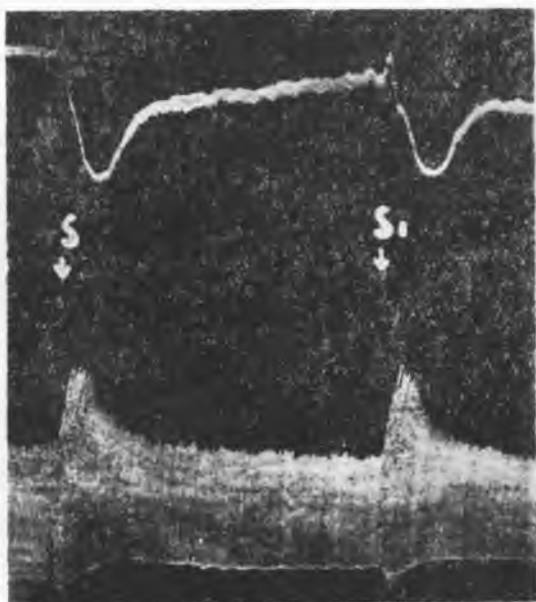
4. Tubokuraryna (15 $\mu\text{g/kg}$) prowadziła do blokowania przewodnictwa impulsów nerwowych. Blokowanie to, zgodnie z ogólnie znaną właściwością prostygminy, ulegało znacznemu osłabieniu pod wpływem tej substancji. Natomiast podawanie serotoniny, nawet w ilości 200 $\mu\text{g/kg}$, nie wpływało na tubokurarynowy blok płytki nerwowo-mięśniowej.

5. Sukcynylocholina w dawce 0,9 mg/kg powodowała blok płytki, który nie mógł być usunięty przez podawanie serotoniny.

6. Blok płytki ruchowej spowodowany flaxedilem nie ustępował nawet pod wpływem dużych dawek serotoniny (0,4 mg/kg).

7. Doświadczenia z mięśniem prostym brzucha żaby. Pobudliwość izolowanego mięśnia sprawdzaliśmy przy pomocy acetylocholino (0,007—2,0 $\mu\text{g/ml}$ płynu Ringera). Do doświadczeń używaliśmy wyłącz-

nie mięśni reagujących skurczem na acetylocholinę. Po ustąpieniu skurczu acetylocholinowego działaliśmy na mięsień serotoniną w stężeniach 0,05—10 mg/ml. W wykonanych 26 doświadczeniach na różnych mięśniach, tylko w 9 serotonina wywoływała skurcze. Reakcje mięśnia pod wpływem 5-HT były różne. Nieraz skurcz był znaczny, przy czym szybko następował rozkurcz, lecz niezupełny, gdyż utrzymywał się przez czas



Ryc. 5. Doświadczenie nr 5. Dół: ergogram mięśnia łydkowego królika, góra: ciśnienie tętnicze. S, S₁ — serotonina w dawkach 135 μ g/kg

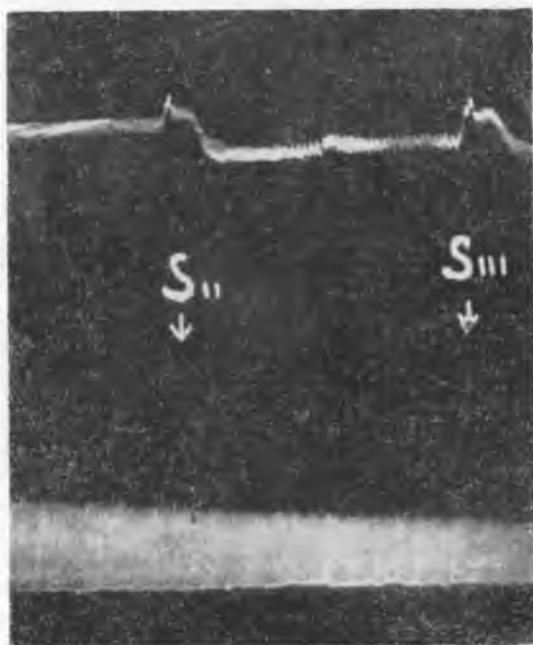
Exp. N. 5. En bas: ergogramme du muscle gastrocnémien du lapin, en haut: tension artérielle. S, S₁ — sérotonine en doses de 135 μ g/kg

dłuższy stan przykurczu tonicznego (ryc. 7 a, b). W innych doświadczeniach reakcja mięśnia na serotoninę w całym swym przebiegu miała charakter skurczu tonicznego (ryc. 8 a, b, c).

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

W 38,1% ogółu doświadczeń na królikach wystąpił bardzo wyraźny wpływ miotropowy 5-HT, przy czym prawie we wszystkich doświadczeniach zachodziło zwiększenie się amplitudy skurczów mięśnia pracującego, drażnionego zarówno pośrednio, jak i bezpośrednio. Wyjątek stanowiło jedno doświadczenie, w którym występowało po podaniu serotoniny przelotne zmniejszanie się wysokości skurczów. W 26,2% doświadczeń wpływ, i to wyłącznie dodatni, był słabiej zaznaczony, natomiast

w 35,7% serotonina nie miała żadnego wpływu. Prostygmina podana przed 5-HT wzmacniała jej działanie. Zasluguje na uwagę wpływ dwuhydroergotaminy, która znosiła działanie serotoniny na rytmicznie kurczący się mięsień królika. Można wyrazić przypuszczenie, że być może obie te substancje mają wspólny punkt uchwytu, tzn. ten sam receptor biochemiczny w mięśniu. Blok nerwowo-mięśniowy spowodowany środkami kuraryzującymi, jak d-tubokuraryna, sukcynylocholina i flaxedil, nie ulegał likwidacji po podaniu 5-hydroksytryptaminy.



Ryc. 6. Doświadczenie nr 5 ciąg dalszy. Po podaniu dwuhydroergotaminy 530 $\mu\text{g/kg}$,

S_{II} — serotonina 135 $\mu\text{g/kg}$, S_{III} — serotonina 270 $\mu\text{g/kg}$

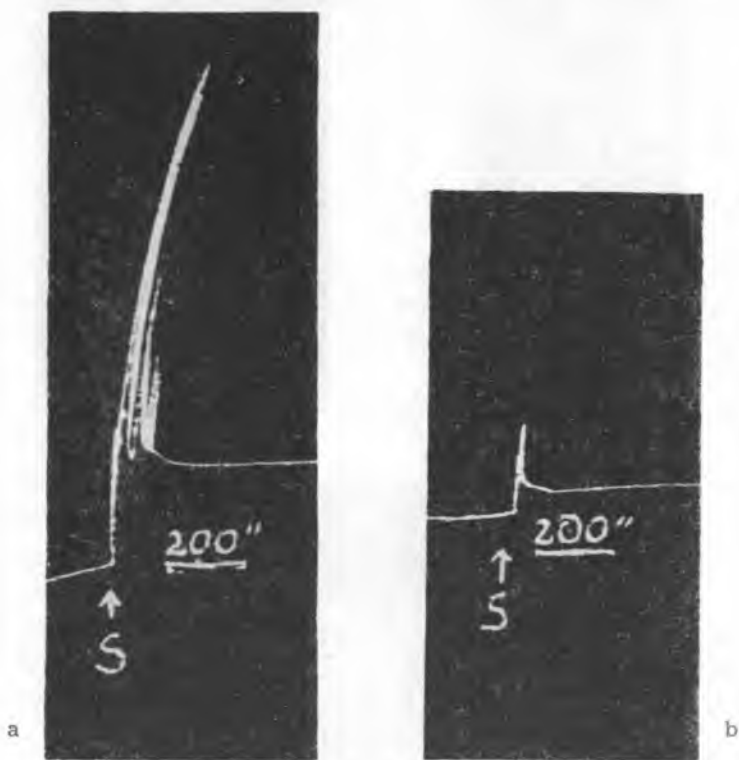
Exp. N. 5 suite. Après l'administration de dihydroergotamine 530 $\mu\text{g/kg}$,

S_{II} — sérotonine 135 $\mu\text{g/kg}$, S_{III} — sérotonine 270 $\mu\text{g/kg}$

W doświadczeniach na izolowanym spoczywającym mięśniu prostym brzucha żaby serotonina powodowała w 34,6% doświadczeń skurcz mięśnia.

Z uzyskanych przez nas danych wynika, że 5-hydroksytryptamina może w dość znacznym odsetku doświadczeń wykazywać wpływ miotropowy, i to prawie wyłącznie dodatni, wyrażający się bądź to zwiększeniem wysokości skurczów mięśnia pracującego rytmicznie, bądź też może powodować kurczenie się mięśnia, będącego w stanie spoczynku. Z doświadczeń z drażnieniem pośrednim i bezpośrednim mięśnia oraz z wyników uzyskanych z prostygminą, a także na mięśniach izolowa-

nych zdaje się wynikać, że wpływ serotoniny na mięśnie prążkowane jest dwojaki. Po pierwsze zachodzi wzmaganie przewodnictwa w połączeniach nerwowo-mięśniowych; po drugie zwiększa się pobudliwość samego mięśnia. Na podkreślenie zasługuje powtarzalność wyników, czyli stałość efektywności serotoniny u tego samego osobnika, a duża zmienność, gdy chodzi o zespół osobników. Wyrazem tego ostatniego był częsty brak działania serotoniny na mięsień szkieletowy. Nasuwa się przypuszczenie, że wpływ 5-HT może ujawniać się tylko w pewnych szczególnych warunkach, które są trudne do określenia.



Ryc. 7. Doświadczenie nr 46. Miogram izolowanego mięśnia prostego brzucha żaby.

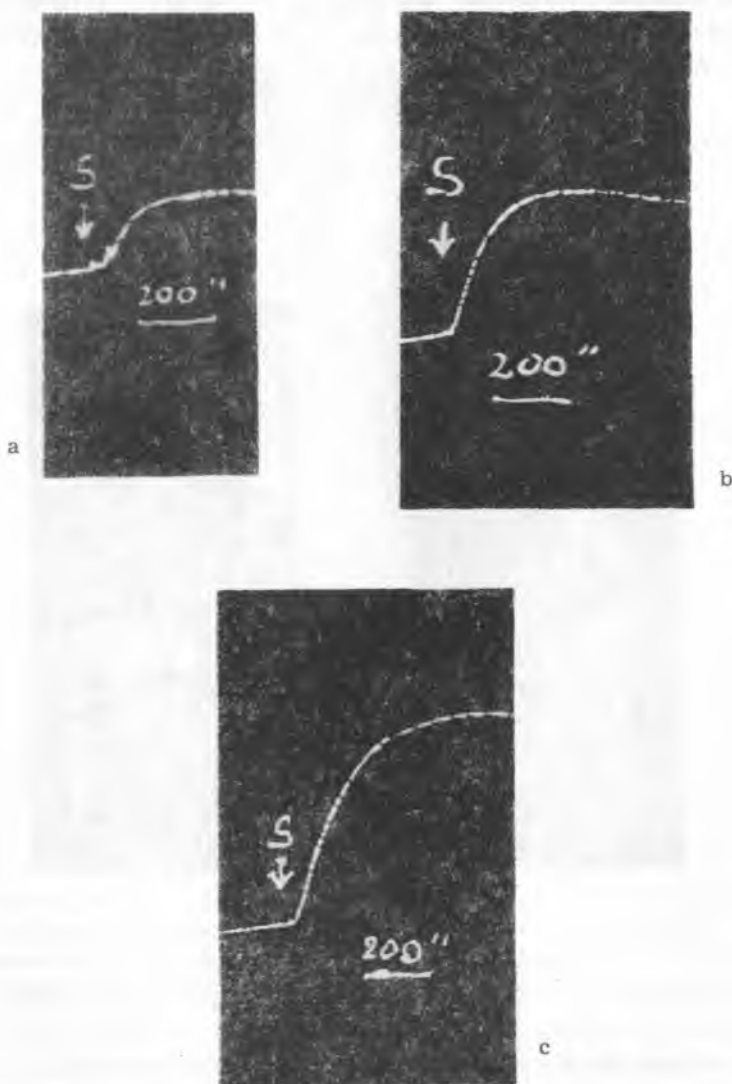
a) S — serotonina 0,01 mg/ml, b) S — serotonina 0,03 mg/ml

Exp. N. 46. Myogramme du muscle droit de l'abdomen de la grenouille.

a) S — sérotonine 0,01 mg/ml, b) S — sérotonine 0,03 mg/ml

Jak zaznaczyliśmy we wstępie, z danych piśmiennictwa nie wynika przejrzysty obraz działania serotoniny na mięśnie prążkowane. Stwierdzono, że sztuczne nici aktomiozyny, otrzymane z mięśni wołu, są wrażliwe na 5-HT, przy czym wrażliwość aktomiozyny serca jest znacznie większa niż aktomiozyny mięśnia szkieletowego (4). Badania przeprowa-

dziane na preparatach nerwowo-mięśniowych żab *in situ* przemawiają za tym, że punktem uchwytu działania serotoniny są połączenia stykowe nerwowo-mięśniowe. Zwiększanie się sprawności znużonego mięśnia miałooby być wynikiem złożonego współdziałania serotoniny i acetylocholino oraz reagującego substratu w połączeniach nerwowo-mięśniowych (3). Według innych serotonina ma przejściowo blokować płytki ruchowe



Ryc. 8. Doświadczenie nr 45. Miogram mięśnia prostego brzucha żaby. a) S — serotonina 0,06 mg/ml, b) S — serotonina 0,1 mg/ml, c) S — serotonina 0,2 mg/ml
 Exp. N. 45. Myogramme du muscle droit de la grenouille. a) S — sérotonine 0,06 mg/ml, b) S — sérotonine 0,1 mg/ml, c) S — sérotonine 0,2 mg/ml

w mięśniach szczura i wzmacniać działanie kurary w mięśniach szczura i żaby, a także powodować osłabienie acetylocholinowego skurczu izolowanego mięśnia żaby (2). Odmienne wyniki uzyskał Perris, który wykazał, że serotonina opóźnia nieco hamujące działanie kurary na płytki ruchowe mięśnia królika (5).

Przyczyn rozbieżności wyników otrzymanych przez poszczególnych autorów dopatrywać się można w różnym dawkowaniu serotoniny, w zależności efektu od gatunku zwierzęcia doświadczalnego, a także w zmienności innych czynników, być może istotnych, jak pora roku, płeć osobnika, rodzaj pobieranego pożywienia, reakcja układu sercowo-naczyniowego na 5-HT oraz spowodowane tym zmiany w ukrwieniu mięśnia itp. Jak z powyższego wynika, istnieje konieczność dalszego prowadzenia badań nad wpływem serotoniny na mięsień szkieletowy.

Wnioski

1. 5-hydroksytryptamina może mieć wpływ miotropowy i to prawie wyłącznie dodatni, wyrażający się zwiększeniem wysokości skurczów mięśnia drażnionego rytmicznie lub skurczem mięśnia będącego w spoczynku.

2. Prostygmina wzmacnia, a dwuhydroergotamina znosi wpływ 5-HT na mięsień.

3. Serotonina nie ma wpływu na blokowanie płytek ruchowych przez środki kuraryzujące.

4. W znacznej części doświadczeń serotonina nie wykazywała działania na mięsień szkieletowy.

5. Istnieje konieczność prowadzenia dalszych badań celem dokładnego sprecyzowania warunków, w jakich 5-HT wyjawia swoje działanie na mięsień szkieletowy.

PISMIENNICTWO

1. Ahmed A., Taylor N. R. W.: J. Pharm. Pharmacol. 11, 536—540, 1957.
2. Gawęcka I., Kostowski W.: Acta Physiol. Polon. 17, 551—559, 1966.
3. Gromakowska M. M.: Dokłady Akad. Nauk SSSR 144, 238—241, 1961.
4. Inoue T.: Folia Pharmacol. Jap. 52, 41—45, 1956, wg Excerpta Med. sect. II, 10, 919, 1957.
5. Perris C.: Experientia 15, 351—352, 1959.

О миотропном действии 5-гидрокситриптамина

Резюме

Авторами проведено 42 опыта на кроликах и 26 опытов на лягушках. В 38% всех опытов на кроликах было обнаружено очень четкое миотропное действие серотонина, почти всегда положительное, выраженное усилением ритмических сокращений посредственно или непосредственно стимулированной мышцы (рис. 1). В 27% всех опытов, проведенных на кроликах, это действие значительно слабее. Только в одном опыте серотонин вызывал ослабление сокращений (рис. 2). В остальных экспериментах препарат не оказывал никакого действия на мышцу. Простигмин (рис. 3, 4) усиливал, а дигидроэрготамин (рис. 5, 6) ликвидировал действие серотонина. Серотонин также не действовал на блок двигательной пластинки, вызванный тубокурарином, сукцинилхолином или флакседилом. Все препараты вводились внутриаириально.

В 35% всех опытов, проведенных на изолированных мышцах лягушки, серотонин вызывал сокращение мышцы (рис. 7 а, б, 8 а, б, с).

Авторы пришли к заключению, что серотонин действует как на нервно-мышечные синапсы, так и непосредственно на мышцу. Действие это почти всегда положительное, т. е. повышающее возбудимость ткани. Однако выступает оно только в некоторой части опытов при благоприятных, но трудно уловимых условиях.

Рис. 1. Опыт № 4. Эргограмма *musculus gastrocnemius* кролика. Н — серотонин 110 $\mu\text{g/kg}$.

Рис. 2. Опыт № 8. Эргограмма *musculus gastrocnemius* кролика. Н, Н_I — серотонин 100 $\mu\text{g/kg}$.

Рис. 3. Опыт № 13. Эргограмма *musculus gastrocnemius* кролика. Н — серотонин 100 $\mu\text{g/kg}$, Н_I — серотонин 200 $\mu\text{g/kg}$, Н_{II} — серотонин 200 $\mu\text{g/kg}$.

Рис. 4. Опыт № 13, продолжение. V — простигмин 15 $\mu\text{g/kg}$, Н — серотонин 100 $\mu\text{g/kg}$, Н_I — серотонин 100 $\mu\text{g/kg}$.

Рис. 5. Опыт № 5. Низ — эргограмма *musculus gastrocnemius* кролика, верх — аириальное давление. S, S_I — серотонин 135 $\mu\text{g/kg}$.

Рис. 6. Опыт № 5, продолжение. По введении 530 $\mu\text{g/kg}$ дигидроэрготамина: S_{II} — серотонин 135 $\mu\text{g/kg}$, S_{III} — серотонин 270 $\mu\text{g/kg}$.

Рис. 7. Опыт № 46. Миограмма изолированной прямой мышцы живота лягушки: а) S — серотонин 0,01 mg/ml , б) S — серотонин 0,03 mg/ml .

Рис. 8. Опыт № 45. Миограмма прямой мышцы живота лягушки: а) S — серотонин 0,06 mg/ml , б) S — серотонин 0,1 mg/ml , с) S — серотонин 0,2 mg/ml .

Recherches sur l'influence myotrope de la 5-hydroxytryptamine**Résumé**

Les auteurs ont fait des expériences sur 42 lapins et 26 grenouilles. Dans 38% d'expériences sur les lapins on apercevait une influence myotrope de la sérotonine (5-HT) bien marquée et presque exclusivement positive, qui se manifestait par une augmentation de la hauteur des secousses d'un muscle stimulé rythmiquement d'une façon directe ou indirecte (fig. 1). Dans 27% d'expériences cette influence était plus modérée. C'était seulement dans un cas que la 5-HT provoquait une diminution de la hauteur des contractions (fig. 2). Dans le reste d'expériences la sérotonine n'avait aucune influence sur le muscle. La prostigmine (fig-s 3, 4) renforçait et la dihydroergotamine (fig-s 5, 6) supprimait l'action de la sérotonine. La sérotonine n'avait pas d'influence sur le bloc de la plaque motrice provoqué par la tubocurarine, la succinilocholine et le flaxédil. Toutes les substances étaient administrées par la voie intra-artérielle.

Dans 35% d'expériences sur les muscles isolés des grenouilles la sérotonine provoquait des contractions musculaires (fig-s 7 a, b, fig-s 8 a, b, c).

Les auteurs arrivent à la conclusion que la sérotonine peut avoir une influence aussi bien sur les synapses neuro-musculaires, que directement sur le muscle même. Cette action est presque exclusivement positive, c'est-à-dire qu'elle se manifeste par une augmentation de l'excitabilité tissulaire. L'influence de la sérotonine paraît seulement dans un certain pour-cent d'expériences, dans lesquelles il y a des conditions favorables, mais qui sont difficiles à déterminer.

