

## TOKSIČNOST IZOPROTERENOLA ZA MIOKARD U EKSPERIMENTALNIM UVJETIMA\*

P. Ljubunčić, F. Mujić, M. Winterhalter, N. Huković, Z. Vidović i  
S. Đuričić

*Institut za fiziologiju i biokemiju, Medicinski fakultet, Sarajevo*

*Primljeno 24. IV. 1991.*

Ispitivan je utjecaj jednokratne aplikacije izoproterenola (ISP) na ukupnu aktivnost i izoenzimsku sliku kreatin kinaze (CK) i laktat dehidrogenaze (LDH) u serumu štakora te korelacija tih promjena sa patohistološkim promjenama u tkivu miokarda. Izoproterenol, apliciran u dozi od 25 mg/100 g tjelesne mase, uzrokovao je statistički značajan porast ukupne aktivnosti CK i LDH u serumu te aktivnosti kardijspecifičnih izoenzima CK-MB, LDH-1 i LDH-2 u vremenu od šest sati nakon aplikacije izoproterenola. Također je nađena izomorfna izoenzimaska slika LDH što govori u prilog nastanka kardiogenog šoka. Uz navedene opisane promjene nađen je i porast aktivnosti izoenzima CK-MM i LDH-5, a što se daje tumačiti kao sekundarna pojava kardiogenog šoka i posljedičnog oštećenja tkiva sa anaerobnim tipom metabolizma, kao što je jetra. Prethodni nalazi potvrđeni su patohistološkom analizom tkiva miokarda gdje je nađena koagulacijska nekroza sa miocitolizom te undulacije mišićnih stanica srca kao znaka kardiogenog šoka.

*Ključne riječi:* serumski enzimi štakora, sintetski kateholamin, toksična doza.

Izoproterenol (1/3,4-dihidroksifenil-2-izopropilaminoetanol; ISP) sintetski je kateholamin koji se zbog bronhodilatatornog djelovanja koristi u liječenju bronhijalne astme u obliku lingvaleta ili inhalacijom. Poznato je da kateholamini ostvaruju svoj utjecaj u organizmu stimuliranjem beta 1 i beta 2 adrenergičkih receptora. Zabilježeni su brojni fatalni slučajevi tokom primjene ISP-a (1). To se povezuje sa snažnim stimulatornim djelovanjem ovog kateholamina na srce. Snažno pozitivno inotropno i hronotropno djelovanje ISP-a na stanice srčanog mišića ima za posljedicu ekscesivnu mobilizaciju i trošenje energetske fosfata i glikogena te povećanje težine srca, porast razine proteina i aktiviranje fosfolipaze C (2). Ovaj enzim kasnije uzrokuje razaranje membranskih fosfolipida, što rezultira egzacerbacijom.

---

\* *Opaska Uredništva:* Ovaj rad tiskan je na jeziku na kojem je bio primljen, recenziran i prihvaćen za tisak.

cijom oštećenja srca i prelaskom reverzibilnih u ireverzibilne promjene. Još jedan od bitnih činitelja kardiotoksičnosti ISP-a je i eksces kalcijumovih jona u srčanim stanicama, što, također, uzrokuje značajan pad koncentracije adenozintrifosfata (ATP-a) i kreatin fosfata (3).

Ekstremno trošenje energetskih tvari dovodi do diskrepance između potreba i snabdjevanja srčanih stanica energijom te, na taj način, do relativne hipoksije. Trajanje hipoksije prouzrokuje mnogobrojne procese koji vode definitivnom oštećenju stanica. Prema *Persoon-Rothertu i saradnicima* (4) kardiotoksičnost ISP-a je prvenstveno rezultat stvaranja i štetnog djelovanja slobodnih radikala kiseonika u toku hipoksije miokarda. Ove molekule ili molekularni fragmenti sa nesparenim elektronom u vanjskoj orbiti veoma su reaktivni i teže iniciranju lančanih reakcija, što rezultira ireverzibilnim kemijskim oštećenjem reaktivnih lipida i proteina (5). To se oštećenje sastoji u peroksidaciji membranski vezanih nezasićenih masnih kiselina i fosfolipida, što vodi funkcionalnom i strukturnom oštećenju miokarda (6). Jedan od značajnih izvora slobodnih radikala kiseonika u toku djelovanja ISP-a su oksidativni metaboliti kateholamina. Naime, autooksidacija hidroksilnih grupa kateholamina koja vodi njihovom pretvaranju u kinon i nastajanju toksičnih metabolita, vjerovatno doprinosi štetnom djelovanju kateholamina (4). Nastali slobodni radikali kiseonika izazivaju i oštećenje lizozoma, što rezultira oslobađanjem hidrolitičkih enzima te autolizom i definitivnim propadanjem stanica (7). Sinergistički sa ovom pojavom djeluje poremećaj pomenutih metaboličkih parametara i aktivacija fosfolipaze C.

Pored pomenutih patoloških promjena, izoproterenol uvjetuje i promjenu kvantitativnog i kvalitativnog sastava citoplazmatskih i mitohondrijalnih enzima u pogođenim dijelovima srca (8). Poradi toga smo kao cilj našeg rada postavili da utvrdimo utjecaj izoproterenola na ukupnu aktivnost i izoenzimsku sliku kreatin kinaze (CK; E.C. 2.7.3.2) i laktat dehidrogenaze (LDH; E.C. 1.1.1.27) u serumu štakora, kao i korelaciju nadenih promjena sa patohistološkom slikom srca u datim eksperimentalnim uvjetima.

#### MATERIJAL I METODE

U pokusima je korišteno 35 albino štakora soja Wistar, muškoga spola, tjelesne mase 250-300 grama. Sve životinje su držane pod identičnim uvjetima mikroklimi i fotoperiodičnosti, a uzimanje hrane i vode bilo je na slobodnom režimu. Pod istim uvjetima je držana i kontrolna skupina životinja. Izoproterenol (SERVA, Njemačka) apliciran je pokusnim životinjama intraperitonealno u jednokratnoj dozi od 25 mg/100 g tjelesne mase. Prethodno je supstancija rastvarana u 172 mmol/L natrijum kloridu. Uzorci krvi uzimani su iz repne vene štakora uz uporabu heparina kao antikoagulansa. Vremenski, krv je uzimana neposredno prije apliciranja ISP-a, a zatim 3, 6 i 24 sata nakon apliciranja. Uzorci su centrifugirani na 14.600 obrtaja/min, nakon čega su dobiveni serumi odmah aplicirani za analizu ukupne aktivnosti CK i LDH te separiranje njihovih izoenzima. U toku pokusa odabrano je nekoliko životinja koje su žrtvovane dekapitiranjem u različitim vremenskim intervalima tokom 24 sata nakon aplikacije ISP-a, a u cilju ekstirpacije srca. Nakon toga, krvni sudovi srca su isprani retrogradnom perfuzijom fiziološke otopine kroz aortu, dok su organi odmah fiksirani u 10%-tnom formalinu i pripremljeni za izradu patohistoloških preparata. Ukupna aktivnost enzima CK i LDH određivana je UV-spektrofotometrijskom metodom na analizatoru Technicon RA-1000, uz korištenje reagensija firme Radonja, Sisak, u Institutu za kliničku biohemiju, Sarajevo. Vrijednosti su bile izražene u  $\mu\text{kat/L}$ . Elektroforska separacija izoenzima CK i LDH vršena je na trakama celuloza acetata uz korištenje barbituratnog pufera (pH=9,2), pri naponu od 200 V u trajanju 30 minuta. Nakon toga je izvršeno vizueliziranje izoenzima, a dobiveni elferogrami su denzitometrijski ana-

lizirani na multipolarnom denzitometru firme Chemetron. Pri tome su se uz denzitometrijsku krivulju dobivale i relativne aktivnosti izoenzima CK i LDH. Iz tih vrijednosti i ukupne aktivnosti enzima izračunata je njihova apsolutna aktivnost.

Uzorki tkiva miokarda pokusnih životinja su nakon fiksiranja dehidrirani uporabom alkoholne serije, nakon čega je vršeno fiksiranje za kalupljenje u parafinu. Pravljeni su rezovi debljine 3-5 mikrometra, a bojenje preparata je vršeno standardnom metodom hematoksilin-eozinom (HE). Promjene su registrirane fotomikroskopom Zeiss.

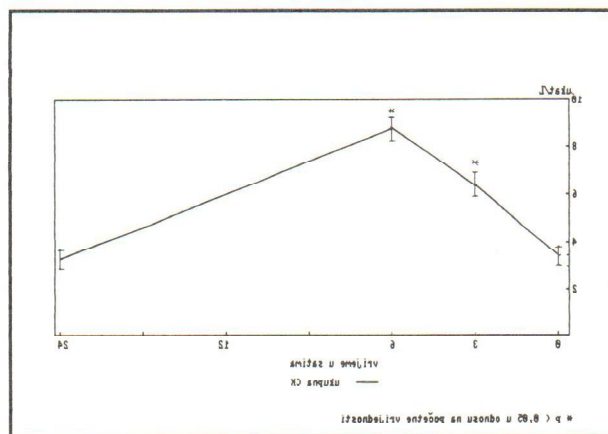
Rezultati su obrađeni metodama deskriptivne analize, a značajnost razlika upotrebom parametrijskog t-testa (značajnost razlika na nivou povjerenja 95%, tj.  $P < 0,05$ ). Analize dobivenih enzimatskih aktivnosti uzete su samo kod životinja koje su preživjele do kraja pokusnog perioda. Rezultati su prezentirani u vidu slika, sa jasno naznačenim signifikantnim promjenama u odnosu na kontrolne vrijednosti. Patohistološke promjene tkiva srca štakora prikazane su u obliku originalnih fotografija uz priloženi detaljan opis nadenih promjena.

Kontrolna skupina životinja je tretirana po istom radnom protokolu, izuzev što im je aplicirana samo fiziološka otopina.

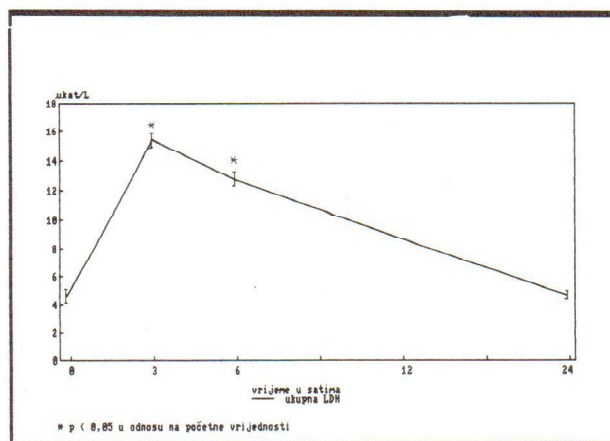
## REZULTATI

Odmah po primitku ISP-a, nakon svega 1-2 minuta, uočeni su znaci prostracije sa nakostriješenošću dlake, intenzivnom tahipnejom te prestankom svakog kretanja. Životinje su prestale uzimati vodu i hranu stanovito vrijeme, kroz par sati, nakon čega bi se počele oporavljati, kretati se i uzimati vodu i hranu. Jedan pak broj životinja je polijegao, defecirao i urinirao i potom egzistirao, tako da smo odredili stopu smrtnosti koja je iznosila 20%, što je značajan dokaz toksičnosti ISP-a datog u ovoj dozi.

Rezultati pokazuju da aplikacija ISP-a u datim eksperimentalnim uvjetima izaziva porast ukupne aktivnosti enzima CK i LDH. Povećanje aktivnosti je najizrazitije nakon tri prva sata po aplikaciji ISP-a (slike 1. i 2). Ukupna aktivnost CK raste i nakon ovog vremenskog perioda te dostiže maksimalnu aktivnost u šestom satu nakon aplikacije ISP-a (slika 1).



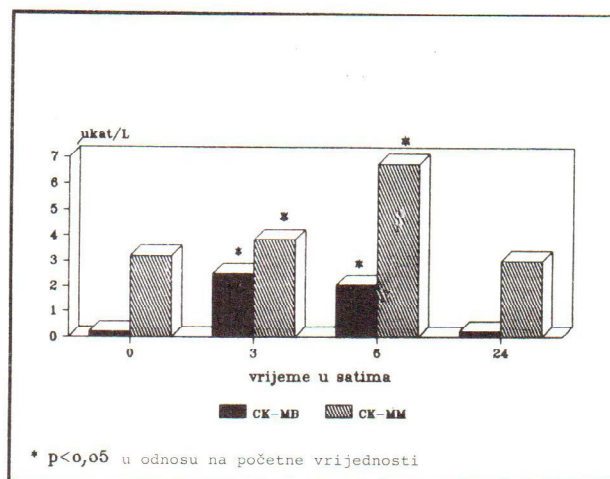
Slika 1. Ukupna aktivnost enzima CK u serumu štakora prije i nakon aplikacije ISP-a



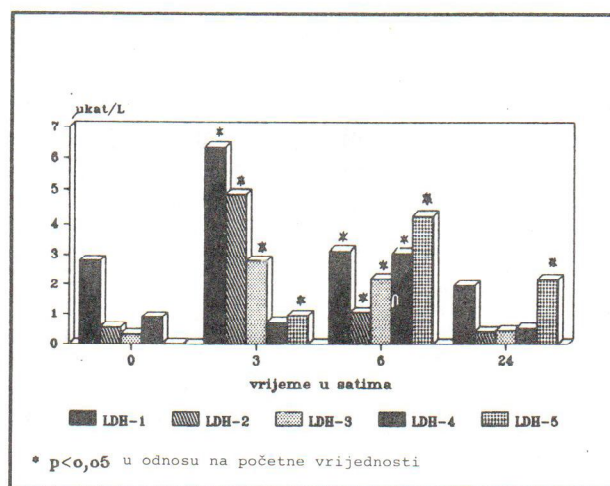
Slika 2. Ukupna aktivnost enzima LDH u serumu štakora prije i nakon aplikacije ISP-a ( $\bar{X} \pm SD$ )

Aktivnost LDH, pak, spram aktivnosti CK je najviša u trećem satu od aplikacije ISP-a (slika 2). Statistička analiza je pokazala da je porast enzimatske aktivnosti signifikantan u svim pomenutim slučajevima.

U izoenzimskoj slici ispitivanih enzima seruma štakora može se uočiti statistički signifikantan porast aktivnosti tzv. srčanospecifičnih izoenzima (CK-MB, LDH-1 i LDH-2) tokom prva tri sata eksperimentalnog perioda (slike 3. i 4). Između trećeg i šestog sata njihova



Slika 3. Aktivnost izoenzima CK-MB i CK-MM u serumu štakora prije i nakon aplikacije ISP-a ( $\bar{X}$ )



Slika 4. Aktivnost izoenzima LDH u serumu štakora prije i nakon aplikacije ISP-a ( $\bar{X}$ )

aktivnost znatno opada, što je naročito izraženo kod izoenzima LDH-1 i LDH-2. U periodu 24 sata nakon aplikacije ISP-a ove vrijednosti se vraćaju na nivo približno sličan nivou kontrolnih vrijednosti. Ovaj tip promjena se može zamijetiti i kod izoenzima LDH-3 (slika 4).

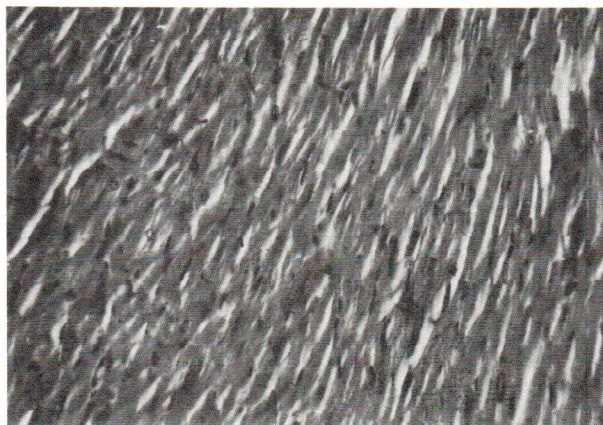
Pored opisanih promjena aktivnosti izoenzima CK-MB, u izoenzimskoj slici serumske CK tokom prva tri sata može se uočiti i vrlo blagi porast izoenzima CK-MM koji nije bio statistički signifikantan (slika 3). Međutim, u šestom satu pokusnog perioda nađen je znatan porast njegove aktivnosti, za oko dva puta veći u odnosu na kontrolnu vrijednost CK-MM, čiju je pak signifikantnost pokazala statistička analiza rezultata. Nakon tog perioda, aktivnost CK-MM postepeno opada do 24-og sata, kada su zabilježene vrijednosti bliske kontrolnim. Što se tiče trećeg izoenzima kreatin kinaze (CK-BB), njegova aktivnost u serumu štakora bila je nemjerljiva u svim promatranim vremenskim periodima pri primjeni opisanih metoda mjerenja. Aplikacija ISP-a utiče i na aktivnost izoenzima LDH-4 i LDH-5, ali je tip promjena drugačiji od prethodno opisanih. Zapaža se tendencija laganog pada aktivnosti izoenzima LDH-4 u prva tri sata, dok se u sljedećem vremenskom intervalu između trećeg i šestog sata bilježi nagli skok sa maksimalnom aktivnošću (slika 4). Potom aktivnost LDH-4 postepeno opada te se 24 sata nakon aplikacije ISP-a uočava nešto manja aktivnost ovog izoenzima u odnosu na kontrolne vrijednosti. S druge strane, na istom grafičkom prikazu možemo uočiti stalan rast aktivnosti izoenzima LDH-5. Taj je rast blaži u prva tri sata, a nakon toga je dosta izražen te se u šestom satu bilježi maksimalna aktivnost izoenzima LDH-5. Iako nakon toga perioda aktivnost opada, u zadnjem vremenu mjerenja (24 sata) još se uvijek bilježe znatno veće vrijednosti spram kontrolnih.

Na slikama 5. i 6. prikazano je tkivo srca štakora prije aplikacije ISP-a. Može se uočiti očuvano normalno tkivo srca štakora sa jasno izraženim jedrima i poprečnom prugavošću. Prve patohistološki vidljive promjene srčanog tkiva mogu se opaziti šest sati nakon apliciranja ISP-a. Promjene su bile u vidu izraženog edema intersticijuma, gubitka jedara i

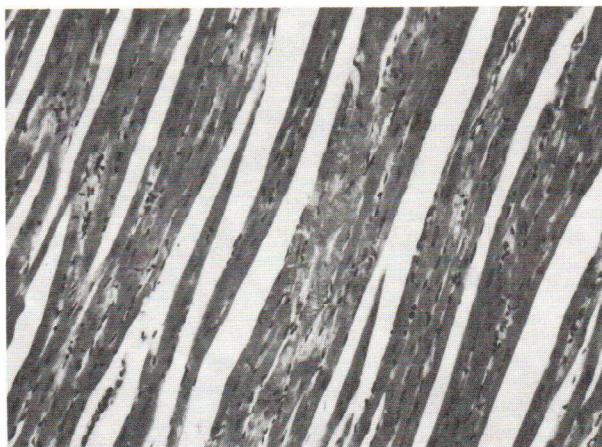


Slika 5. Pregledni snimak tkiva štakora prije aplikacije ISP-a (normalni izgled srčanih stanica sa očuvanim jedrom, izražena poprečna prugavost – HE, 163 x)

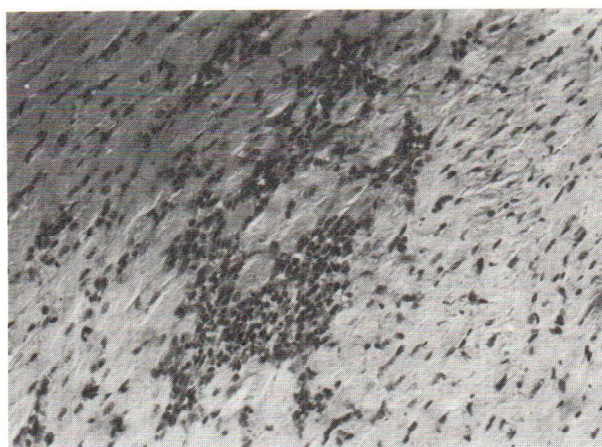
poprečne ispruganosti te izražene acidofilije. Sve to ukazuje na razvoj koagulacijske nekroze srčanog tkiva štakora (slika 7). Ove promjene se zadržavaju i 24 sata poslije aplikacije ISP-a. Tada možemo uočiti da se, pored opisanih promjena, javlja i izražena resorptivna stanična reakcija (slika 8), kao i undulacije srčanih mišićnih stanica (slika 9). U kontrolnoj skupini životinja nisu nađene nikakve promjene ispitivanih biokemijskih parametara, niti bilo kakve patološke promjene izgleda srčanog tkiva štakora.



Slika 6. Normalan izgled tkiva miokarda štakora – detalj (HE, 400 x)



Slika 7. Miokard štakora 6 sati nakon aplikacije ISP-a (gubitak poprečne ispruganosti, edem, iščezavanje jedara i acidofilija – HE, 163 x)



Slika 8. Miokard štakora 24 sata nakon aplikacije ISP-a (jako izražena stanična resorptivna reakcija – HE, 163 x)



Slika 9. Miokard štakora 24 sata nakon aplikacije ISP-a (mjestimične undulacije srčanih mišićnih stanica – HE, 163 x)

#### DISKUSIJA

Nađena povećana aktivnost enzima kreatin kinaze u prvih šest sati te laktat dehidrogenaze tokom prva tri sata nakon aplikacije ISP-a u serumu pokusne grupe životinja ukazuje da toksična doza ovog sintetskog kateholamina uzrokuje u organizmu određene patofiziološke procese koji rezultiraju oštećenjem i smrću stanica. Nalaz je u skladu sa radom *Preusa i saradnika* (9) koji su utvrdili porast aktivnosti serumskih enzima kod štakora već dva sata nakon aplikacije ISP-a. Međutim, na osnovu ovih biokemijskih parametara ne može se sasvim pouzdano reći koji su organi ili tkivo zahvaćeni pomenutim patofiziološkim procesima. S obzirom na to da je ISP čisti agonista beta-adrenergičkih receptora, može se pretpostaviti da je primarno mjesto njegovog djelovanja stanična membrana na kojoj su locirani beta-adrenergički receptori za koje se selektivno vezuje. Na osnovu ove činjenice te iskustva drugih autora (10-13), poznato je da se štetno djelovanje ISP-a ispoljava prvenstveno na srcu. Na to ukazuju i naši rezultati o utjecaju ISP-a na izoenzimsku sliku serumske CK i LDH kod pokusnih životinja.

Tokom prva tri sata nakon aplikacije ISP-a može se uočiti formiranje tzv. »srčane« izoenzimске slike CK i LDH. Povećana aktivnost izoenzima CK-MB te LDH-1 i LDH-2 sa visokim stepenom sigurnosti ukazuje na oštećenje srca, s obzirom na visoki stupanj osjetljivosti i specifičnosti ovih biokemijskih parametara (14, 15). To je potvrdila i patohistološka analiza tkiva miokarda štakora. Prvih pet sati pokusnog perioda nije bilo jasno vidljivih patohistoloških promjena. Tek šestog sata nam je patohistološki nalaz pokazao promjene u vidu iščezavanja jedara i poprečne ispruganosti, acidofilije te zgušnjavanja citoplazme srčanih stanica, kao znakova razvoja koagulacijske nekroze. Prema *Baroldiu* (16), ovaj tip nekroze predstavlja jedan od tipova oštećenja srca kod humanog infarkta miokarda uslijed ishemijske. Na miokardijalno podrijetlo povećane aktivnosti ispitivanih enzima u serumu



ukazuju i navedeni rezultati aktivnosti izoenzima LDH-3. Naime, njegova aktivnost raste tokom prva tri sata pokusnog perioda kada su zabilježene i maksimalne vrijednosti, a signifikantno veće aktivnosti su nađene i šest sati nakon aplikacije ISP-a. Ovo nam sugerira da ISP uzrokuje oštećenje papilarnih mišića srca štakora, s obzirom na to da lijevi papilarni mišić ima veći sadržaj aktivnosti izoenzima LDH-3, kao i najveći sadržaj M subjedinice LDH u srcu (17). Ovaj sadržaj izoenzima i subjedinica LDH su potvrdili i radovi *Lina i saradnika* (18) te *Sylvena i saradnika* (19). Pored toga, naše pretpostavke o porijeklu povećane aktivnosti pomenutih izoenzima CK i LDH u serumu štakora su u skladu sa radom *Ciplea i Bocka* (20) koji su utvrdili da apliciranje ISP-a kod štakora dovodi do oštećenja prvenstveno subendokardnih dijelova srca, naročito lijevog i prema apeksu te papilarnih mišića.

Nasuprot prethodno navedenim rezultatima, u periodu 3-6 sati nakon apliciranja ISP-a nađeno je povećanje aktivnosti izoenzima CK-MM, LDH-4 i LDH-5, što bi ukazivalo da ISP djeluje štetno i na tzv. anaerobna tkiva, kao što je jetra naprimjer. Međutim, ukoliko promatramo izoenzimsku sliku LDH u šestom satu pokusnog perioda u cjelini, možemo uočiti da je aktivnost svih izoenzima signifikantno veća u odnosu na kontrolni eferogram serumskih izoenzima LDH. Ovaj tip se nazivlje izomorfna izoenzimaska slika serumske LDH i može se naći kao posljedica opšte hipoksije organizma. To se stanje javlja u toku infarkta ili ishemičnog oštećenja srca koji su komplicirani kardiogenim šokom (21). Znakove kardiogenog šoka potvrdila je provedena patohistološka analiza tkiva miokarda štakora, s obzirom na to da smo, uz znakove koagulacijske nekroze, pronašli i undulacije srčanih mišićnih stanica, karakteristične za ovu pojavu.

Na osnovu utvrđenih nalaza te vremenskog redosljeda promjena ispitivanih biokemijskih parametara i bibliografskih podataka, možemo zaključiti da primjena visoke doze ISP-a u datim pokusnim uvjetima, kod štakora primarno djeluje u smislu oštećenja srca. Ostale promjene bi mogle biti sekundarne, a njihova raširenost bi mogla ovisiti od stepena oštećenja srca, odnosno stepena i trajanja opšte hipoksije organizma kardijalnog podrijetla.

#### LITERATURA

1. Milei J, Nunez RG, Rapaport M. Pathogenesis of isoproterenol-induced myocardial lesions: its relation to human coagulative myocytolysis. *Cardiology* 1978;63:139-51.
2. Takasu N, Hashimoto H, Miyazaki Y, Ito T, Ogawa K, Satake T. Effect of phospholipase inhibitors and Ca antagonists on the changes in myocardial phospholipids induced by isoproterenol. *Basic Res Cardiol* 1988;83:567-75.
3. Fleckenstein A. Special pharmacology of calcium in myocardium, cardiac parameters, and vascular smooth muscle. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1977;17:149-66.
4. Persoon-Rotherth M, Van der Valk-Kokshorn EJM, Egus-Kenniphuus JM, Mauve I, Van der Learse A. Isoproterenol-induced cytotoxicity in neonatal heart cell cultures is mediated by free radical formation. *J Mol Cell Cardiol* 1989;21:1285-91.
5. Cohen MV. Free radicals in ischemic and reperfusion myocardial injury: Is this the time for clinical trials. *Ann Int Med* 1989;111:918-31.
6. Thompson JA, Hess ML. The oxygen free radical system: a fundamental mechanism in the production of myocardial necrosis. *Progr Cardiovasc Dis* 1986;28:449-62.
7. Kalra J, Chaudhary AK, Prasad K. Role of oxygen free radicals and pH on the release of cardiac lysosomal enzymes. *J Mol Cell Cardiol* 1989;21:1125-36.
8. Meijer AEFH, Hettwer H, Ciplea AG. An enzyme histochemical study of isoproterenol-induced myocardial necroses in rats. *Histochem J* 1988;20:697-700.
9. Preus M, Bhargava AS, Khater Abd El R, Gunzel P. Diagnostic value of serum creatine kinase and lactate dehydrogenase isoenzyme determinations for monitoring early cardiac damage in rats. *Toxicol Lett* 1988;42:225-33.

10. Rona G. Catecholamine cardiotoxicity. *J Mol Cell Cardiol* 1985;17:123–8.
11. Wexler BS. Prolonged protective effects following propranolol withdrawal against isoproterenol-induced myocardial infarction in normotensive and hypertensive rats. *Br J Exp Pathol* 1985;66:143–54.
12. Ramos K, Combs AB, Acosta D. Role of calcium in isoproterenol cytotoxicity to cultured myocardial cells. *Biochem Pharmacol* 1984;33:1989–92.
13. Todd GL, Baroldi G, Pieper GM, Clayton FC, Eliot RS. Experimental catecholamine-induced myocardial necrosis. I. Morphology, quantification and regional distribution of acute contraction band lesions. *J Mol Cell Cardiol* 1985;17:317–38.
14. Wang TY, Godfrey JH, Graham LG. Clinical evaluation of immunochemical assay of lactate dehydrogenase isoenzyme-1 in early detection of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1982;28:2152–4.
15. Lott JA. Serum enzyme determinations in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Hum Pathol* 1984;15:706–16.
16. Baroldi G. Different types of myocardial necrosis in coronary heart disease: a pathophysiologic review of their functional significance. *Am Heart J* 1975;89:742–54.
17. Schultheiss HP, Bispink G, Neuhoff V, Bolte HD. Myocardial lactate dehydrogenase isoenzyme distribution in the normal heart. *Basic Res Cardiol* 1981;76:681–9.
18. Lin L, Sylven C, Sotonyi P, Somogyi E, Kaijser L, Jansson E. Lactate dehydrogenase and its isoenzyme activities in different parts of the normal human heart. *Cardiovasc Res* 1989;23:601–6.
19. Sylven C, Lin L, Kallner A, Jansson E. Regional distribution of citrate synthase and lactate dehydrogenase isoenzymes in the bovine heart. *Acta Physiol Scand* 1989;136:331–7.
20. Ciplea AG, Bock PR. Qualitative and quantitative histoenzymatische Studie an den durch Isoproterenol induzierten Myokardnekrosen bei Raten. *Arzneimittel-Forschung* 1976;26:799–812.
21. Rotenberg Z, Weinberger I, Davidson E, Fuchs J, Sperling O, Agnon J. Atypical patterns of lactate dehydrogenase isoenzymes in acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1988;34:1096–8.

### Summary

#### THE TOXICITY OF ISOPROTERENOL TO MYOCARDIAL TISSUE IN EXPERIMENTAL CONDITIONS

The effect of toxic doses of isoproterenol (ISP) on total activities and isoenzyme patterns of creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) in rat sera was investigated and correlated with histopathological changes in the myocardial tissue. A single dose of 25 mg ISP per 100 g body weight caused a statistically important elevation of CK and LDH total activities and of the activities of cardiospecific isoenzymes CK-MB, LDH-1 and LDH-2 six hours after intraperitoneal administration. The isomorphic LDH isoenzyme pattern, which was also observed, was taken to be a proof of the ISP-induced cardiogenic shock. The increase in the activity of CK-MM and LDH-5 isoenzymes could be explained as a secondary consequence of cardiogenic shock and of the consecutive damage of the tissue with anaerobic metabolism such as liver. The findings were confirmed by a histopathological analysis showing the development of coagulative necrosis and myocytolysis as well as undulations of heart muscle cells as a sign of cardiogenic shock.

*Institute for Physiology and Biochemistry, Medical Faculty, Sarajevo*

*Key terms:* serum enzymes in rat, synthetic catecholamine, toxic dose.