

NAUČNO DRUŠTVO NR BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA VI

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 3



SARAJEVO
1956

FUNKCIJA HISTAMINA U KOŽI

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 13.XII 1955)

Prije više od 15 godina počeli smo se baviti još u Tvornici lijekova „Kaštel“, problemom spazmolitika. To nas je dovelo do jednog novog spoja piperidinskog reda (4— dimethylamino 1— phenilpiperidin), koji je uz ostala farmakološka svojstva pokazivao i izrazito antihistaminsko djelovanje na izoliranom crijevu zamorca i u testu astme izazvanom inhalacijom histamina (H). Mi¹ smo to objavili čak prije poznatog rada B. N. Halperna² 1942, koji označava početak ere antihistaminika. U tih 15 godina silno se proširilo i produbilo znanje o funkciji H zahvaljujući, prvo, pronalasku antihistaminika (Ah), drugo, uvođenjem radioaktivnog H³, i treće, uvođenjem t.zv. histamin-liberatora (HL)⁴. Klinička i eksperimentalno-fiziološka literatura je gotovo nepregledna i prije je bila često kontradiktorna, no baš u zadnje vrijeme zahvaljujući spomenutim novim metodama predložuje se pred nama sve jasnije funkcija H. U prvom redu, izvan diskusije je da se H nalazi kao takav u organizmu a ne da se tek stvara u momentu ozljede ili sukoba antigen — antitijelo. Ako je tako, t. j. da je H a priori u organizmu, pita se šta je njegova fiziološka funkcija. Interesantno je da o fiziološkoj funkciji H znamo manje nego o patofiziološkoj. To je možda zato, jer pod fiziološkim uvjetima ima H mnogo manje nego pod patofiziološkim, pa njegovo djelovanje jače dolazi od izražaja kod patofizioloških stanja. Fiziološka funkcija H sastoji se prvenstveno u regulaciji permeabiliteta kapilara i staničnih membrana⁵ (gravidni uterus ima više H da bi permeabilitet sudova bio što veći, a time i prelaz krvi sa majke u krv embriona). Dalja njegova funkcija je izazivanje sekrecije solne kiseline, H je možda identičan sa gastrinom⁶. Konačno, važnu fiziološku funkciju ima H kao prenosilac osjeta bola, pa danas govorimo o histaminergičnim nervima⁷, kao što postoje holinergični i adrenergični, a ima autora koji misle da on sudjeluje kod prenosa podražaja u stražnjim rogovima medule spinalis⁸. Uopće, izgleda da H ima nocisensornu funkciju⁹. U vezi s tim je interesantno spomenuti da H dolazi najviše u koži, plućima i probavnom traktu, dakle u organima koji dolaze u kontakt s vanjskim svijetom¹⁰. Ta diferencijacija H po organima formira se tek iza poroda. U embrionalnom stanju H je ravnomjerno raspoređen u organima¹¹. H se stvara u organizmu iz histidina, ali isto tako jedna velika količina se resorbira iz probavnog trakta, gdje ga stvaraju coli bakterije. Zato i imamo manje H u urinu kod ljudi tretiranih auromicinom¹².

Koža je najbogatiji organ sa H¹³. Kod miša čak dostiže do 60% sveukupnog H tijela. H kože najlakše podleže promjenama, t.j. najviše varira. To drugim riječima znači da se H kože lako oslobađa iz stanice, uslijed

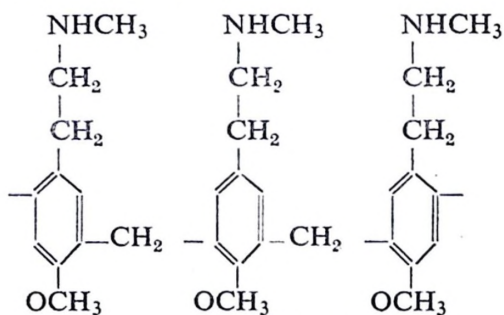
ozljeda, aplikacije lijekovaj a koža i najviše i dolazi u kontakt sa alergenima. Na veliku važnost tog biogenog amina za kožu upozorio je 1927 Lewis u svojoj poznatoj monografiji „The blood vessels in the human skin and their responses,„. Mi smo baš zbog toga u zadnje vrijeme najviše ispitivali metabolizam H u koži. Alergičku reakciju vrlo lako promatramo i prosuđujemo na koži, bilo da je izvedena opća ili lokalna alergička reakcija. Rekao sam na početku da je uvođenje Ah značilo veliki napredak za razumjevanje djelovanja H. Ah su nam omogućila bolje biološko dokazivanje H (izolirano crijevo zamorca). Nadalje, jasno je da je lakše prosuditi funkciju jedne supstance ako možemo izvesti i reakciju kad je takav organ neosjetljiv za istu supstancu. Ako takva reakcija na H pod uticajem Ah otpadne, onda možemo s velikom vjerojatnošću zaključiti da je ta reakcija bila prouzrokovana od H. Kao primjer navodimo klasičnu Lewisovu histaminsku reakciju na koži, koja se vrlo lako da otkloniti s Ah. Ah su definitivno potisnuli t.zv. membransku teoriju alergije¹⁴ u korist histaminske teorije¹⁵, koju smo i mi sami vlastitim eksperimentima potvrdili¹⁶. Pokazali smo da je histaminaza odnosno diaminooksidaza (DO) receptor za H. To znači da H djeluje tek u momentu kad stupa u kontakt sa fermentom koji ga razara. Ovo je vrlo važno, kako ćemo vidjeti kasnije, i za razumjevanje prenosa osjeta bola i postanak ekcema. Brzo se pokazalo da Ah djeluje tako da samo sprečavaju djelovanje H, ali ne njegovo stvaranje¹⁷. Pellerat¹⁸ je ustanovio da H raste u organima zdravog i bolesnog, iza aplikacije Ah, što je jedan od važnih dokaza za našu teoriju za djelovanje H preko DO, jer ako nema receptora, tj., ako je on okupiran sa Ah, H neće uzrokovati nikakove smetnje, iako ga imamo više u krvi. To ide samo do jedne granice, jer H može da djeluje i na jednom udaljenom organu. Tako je na pr. poznato da liječenje na primjer ekcema jednim Ah može izazvati kod osjetljive osobe astmatički napadaj¹⁹. Ukratko, pokazalo se da su Ah stvarno Ah, a ne i antialergici. Time je i rečeno da terapija alergije pomoću Ah još ni izdaleka nije riješena.

(Teorija djelovanja DO kao receptora za H.* Ah su gotovo svi derivati etilendiamina, dok je H derivat trimethyldiamina. Poznato je iz radova Zellera da se diamini sa kratkim lancem C atoma, a u te spadaju Ah, čvršće vežu za DO i da ih ona teže razara nego diamine s dugim lancem C atoma, kakav je H u odnosu na Ah, ili na primjer putrescin i cadaverin, koji isto djeluju na izoliranom organu kao H i daju se ukloniti pomoću Ah. Oni i moraju tako djelovati, jer su vrlo dobar supstrat za DO. Prema tome, Ah blokiraju DO. Budući da H iza dodatka Ah ne može više djelovati, znači da je taj ferment receptor za H. Najkarakterističniji eksperimentalni dokazi za to su sljedeći: Uterus štakora koji nema DO i reagira na H relaksacijom, a u graviditetu kada ima vrlo mnogo aktivne DO reagira opet „normalno,, kontrakcijom, koja se da ukloniti pomoću Ah. Drugi primjer; mortilitet želuca može se spriječiti pomoću Ah, ali ne i sekrecija solne kiseline. To je rastumačeno na taj način što je pokazano da mišićni dio stijenke želuca ima DO, tj. receptor za H, a sluznica ga nema, pa je razumljivo da gdje nema receptora, ne može ni H da djeluje. Ova teorija tumači nam i privikavanje na H. H kao substrat DO u većim dozama ili kod duljeg davanja blokira svoje receptore kako je to vrlo često opaženo u enzimologiji. Konačno, mogli smo pokazati da Ah stvarno blokiraju DO, ali ne onu topivu u vodi,

*Detaljnju literaturu vidi Stern P. Med. pregled 7,207 (1954).

već onu fiksiranu na stromu stanica. Time ova teorija dobiva veliku sličnost sa teorijom djelovanja acetylcholina, gdje isto susrećemo dva tipa holinesteraze, jednu pseudoholinesterazu i drugu pravu, koja je receptor za acetylcholin. I povećanje količine H u krvi iza davanja Ah kod zdravih i bolesnih govori izrazito u prilog ove teorije. H kao fiziološki agens konstantno se stvara i konstantno se razara. Ako je njegov receptor inhibiran, razumljivo je da će se povećati količina H u krvi, jer ga taj receptor i razara. No važno je naglasiti da unatoč toga ne dolazi ni do kakvih patoloških stanja kod zdravog čovjeka, premda je H povišen u krvi. To je i razumljivo, jer smo rekli da je receptor za H, bez kojega on ne može djelovati, već zauzet).

Dalji važan korak za studij metabolizma H predstavljaju HL⁴. To je jedna nova vrsta agensa, među kojima ima i prirodnih stvari, kao na pr. adrenalina, žučne kiseline, od lijekova spominjemo morphin, codein, papaverin, atropin, apresolin, curare, stibaminin itd. Najjači dosada poznati. HL je supstanca 48/80, jedan sa formalinom polimerizirani produkt P — metoksi-phenylethyle-methylamina, koji može činiti kraće ili dulje lance, pa je jedanput jače, a jedanput slabije djelotvoran²⁰. Ovi spojevi, a naročito



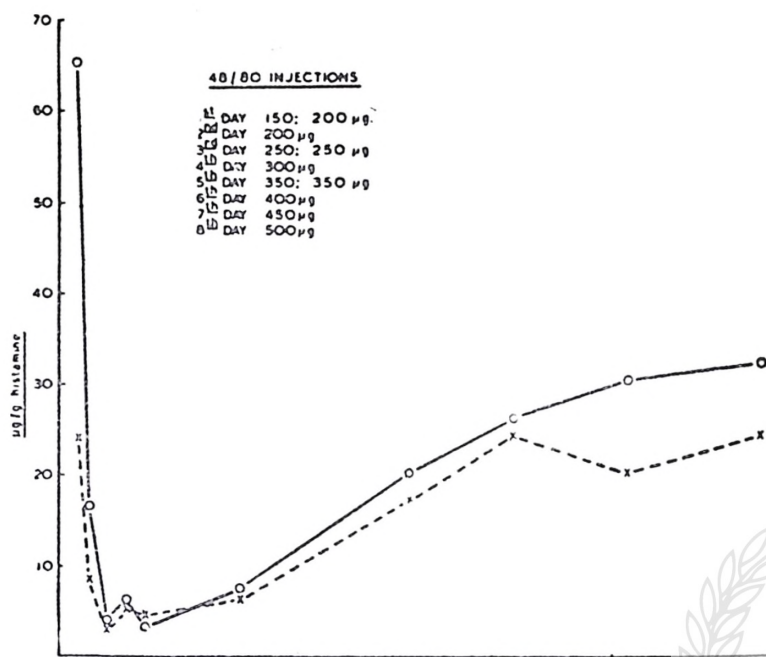
Formula HL 48/80

48/80 djeluju tako da ispraznjuju organe od H (koža, mišić, srce itd). Osobito koža štakora se vanredno brzo isprazni, tako da ostaje u roku 3 dana svega još 10% H, koji se tek za otprilike 40 dana ponovo vrati na normalu²¹. Lijep dokaz u tom smislu je slijedeći eksperimentat Feldberga. Ako štakoru damo i.p. bjelanjak, nastupiće edem na njušci i šapicama, a ako kožu prethodno ispraznimo od H pomoću ovog HL, nova injekcija bjelanjka neće više izazvati edem²². Razumljivo da su ovakve supstance odlično poslužile za studij djelovanja H, jer nam daju još bolji uvid u njegovu funkciju od Ah.

Nas je specijalno interesirala koža u našem studiju metabolizma H, jer je ona klasični šok organa za čovjeka i jer je najpristupačnija promatranju. Ispitali smo karakteristične reakcije kože koje zavise od H, i to običnu i alergičnu upalu kože, te prenos osjeta bola. Kao pokusna životinja služio nam je zamorac, koji je vanredno osjetljiv prema H, i štakor, koji je neobično rezistentan prema H, a jedan dio eksperimenta izveden je i na ljudima. Mi smo sve te funkcije, t.j. upalu, alergiju i osjet bola studirali tako da smo izazvali te promjene na normalnoj koži i na onoj oslobođenoj od H.

Prikazaćemo najprije ovisnost alergične reakcije kože od količine H. Feldberg i Miles²³ napravili su točnu topografiju H u koži zamoraca i pokazali da je najviše H u koži iza uha, na vratu, a najmanje je na boku. Izazvali smo alergički ekcem kože sa 2,4 — dinitrochlorbenzonom²⁴. Ako kožu

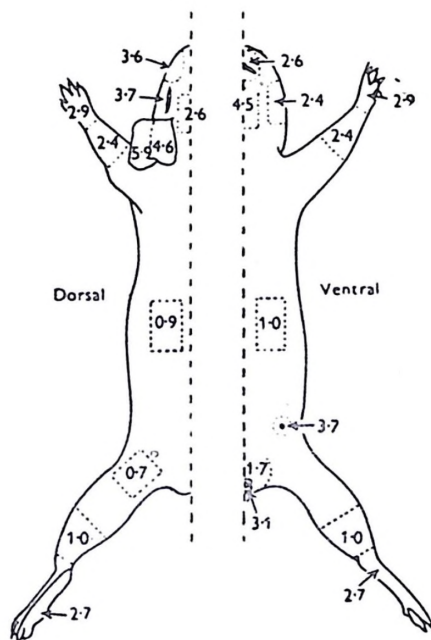
iza uha i na boku premažemo 5% alkoholnom otopinom 2,4 — dinitrohlorbenzola, a nekoliko dana iza toga bilo koji dio kože 0,25% otopino mistog agensa, nastaje u početku crvenilo i edem iza uha i na boku i to gore mnogo jače nego dolje. Iza kratkog vremena stvore se i papule, konačno i kraste.



Slika 1. Histamini u koži (0-----0) i nožicama (0—————0) štakora
T(Feldberg i alesnik J. physiol 120, 550, 1953)

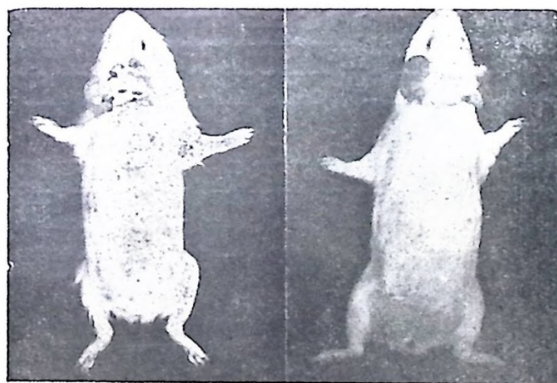
Kako se vidi iz priložene slike III. ekcem je mnogo izrazitiji iza uha nego na boku. Ako smo takovim zamorcima prethodno kroz 14—20 dana davali 48/80 ekcem je potpuno izostao, kako se vidi iz slike IV., i nastupilo samo neznatno crvenilo²⁵. Bilo je potrebno da dugo dajemo HL. Ako smo ga davali samo 5—6 dana, ekcematozna reakcija se još uvijek dala izazvati. Poznato je da je koža zamorca mnogo rezistentnija na HL nego na pr. koža štakora, pa nas to ne iznenađuje. I mjerenjem H u koži ove dvije regije mogli smo dokazati smanjenje H iza spomenutog dugotrajnog davanja HL. Tu se valjda radi o „intrinsic“, H, jer se patološke promjene odigravaju u samom epidermisu, gdje ima najviše H²⁶. Mi smo petorici zamoraca iz prve grupe i petorici iz druge dali 0,025 cc 0,25% 2,4 — dinitrohlorbenzola intracutano u spomenute regije i opet je reakcija na glavi bila jača nego na boku, a kod onih ispraznjenih od H postojala je lokalna reakcija, ali slabija nego kod prve grupe. I lokalna alergična reakcija izazvana kod zamoraca sensibiliziranih bjelanjkom pomoću homolognog antigena ispada jača na koži iza uha nego na glavi²⁷. U jednoj posebnoj seriji zamoraca inficiranim tuberkulozom izveli smo tuberkulinsku reakciju na boku i na uhu, međutim ona se nije kod ove vrste alergičke reakcije razlikovala²⁸. Ako rezimiramo spomenute eksperimente, dolazimo do ključka da je alergička reakcija zavisna od količine H, odnosno ona je to jača što više ima H u koži. Ako regiju

kože bogatu H ispraznimo od H, ekcematozno alergična reakcija biće jako smanjena ili neće uopće nastupiti, Tuberkulinska reakcija, kako znamo, reagira odmah nekrozom i H uopće ne može doći do izražaja, pa nije n



Slika 2. Raspodjela histamina u koži zamorca (Feldberg i Miles J. physiol 120, 205, 1953)

čudo što tuberkulinska reakcija nije pokazivala razlike ako smo je izveli u koži iza uha ili u koži na boku. Osim toga, treba spomenuti da prema



Slika 3 i 4. Lijevo: Ekcem zamorca izaziva sa 2,4,—dinitroklor—benzolom
Desno: Izostajanje ekcema nakon tretiranja zamorca sa HL 48/80

Bucheru izbacivanje H iz organa, a od toga zavisi izgled alergičke reakcije, zavisi i od vrste antigena, kao i od vrste šok organa²⁹. Interesantno je da

se i kod zamoraca kao i kod štakora lako regenerira izgubljeni H u koži, jer ako smo ponovo premazivali kožu četvrti do peti dan iza izostavljene HL, ekcem se još uvijek nije pojavio. Slične promjene u postanku ekcema koje smo mi dobili kod zamorca, opazio je Bacq³⁰ kod ljudi.

Dalja važna reakcija kože u kojoj H ima vidnu ulogu jeste upala. Mi smo se poslužili „Granuloma pouch“, todom Selye³¹. Ovaj autor izradio je jednu odličnu skoro kvantitativnu metodu za studij upale i to specijalno metodu za studij, upale u koži. Ako štakoru injiciramo 25 cc zraka s.c. u leđa, nastaje jedna vreća. U nju injiciramo 1 cc 1% Ol. crotonis, pa će se u njoj razviti klasična upala sa eksudacijom. Ovu upalu možemo vrlo lijepo kvantitativno pratiti, žrtvujući životinje u vrijeme kad god to želimo i histološki pregledajući stijenke upalne vreće. Mi³² smo izazvali upalu u takvom Granuloma, Pouch, u kod jedne grupe štakora koji su nam služili kao kontrola, a kod druge grupe smo 6 dana prije toga davali HL 150 γ/100 g i.p. povećavajući dozu do 350 γ. Šesti dan izazvana je upalna vreća, a HL je davan dalje sve do žrtvovanja životinja. Životinje su bile žrtvovane od prvog do šestog dana od izazivanja upalne vreće. Do šestog dana išli smo zato jer šesti dan upalna reakcija dostiže maksimum, a iza toga počinje spontano jenjavanje upale.

Histološki nalaz*

Za patološko-histološku analizu su izrezivani djelići zida „Granuloma poucha“, te su nakon prethodne fiksacije u 4%—nom formalinu i uklapanja u parafin rezani i bojadisani standardnom metodom haemalaun-eozin. Neki rezovi su nakon fiksacije u Carnoyevoj tečnosti obrađeni za fluoresc. mikroskopiju.

Serijski pacova prethodno tretiranih histamin-liberatorom pokazuje sljedeće promjene:

Nakon 24 sata je na granici mjehurića potkožno rahlo vezivo nešto rastreseno. Vlakna i masne ćelije su lako razmaknute, a između njih se vide brojna sitna, eozinom ružičasto obojena zrnca bjelanchevine. Ta zrnca su na preparatima obrađenim Haitingerovom metodom I fluorescirala crvenosmeđe, što također govori za njihovo porijeklo od proteina krvne plazme. Tkivo zida mjehurića je prožeto slojem polimorfonuklearnih i eozinofilnih leukocita. Među njima se sreću i pojedinačni limfocitarni elementi. U dubljim dijelovima, koji su bliži leđnoj muskulaturi pacova, upalna eksudacija je daleko jača, i upalne ćelije se nalaze i među samim mišićnim vlaknima.

48 sati iza aplikacije Ol. crotonis javljaju se u eksudatu i pojedinačni mladi vezivni elementi, koji se pridružuju već opisanim ćelijskim elementima prvog dana.

Tokom idućih dana, sve do 6-og progresivno se razvijaju produktivne promjene u području upale. Leukociti još uvijek postoje u dosta velikom broju, ali je upadna pojava fibrilarnih vezivnih elemenata i mladih krvnih sudova, koji uz mlade vezivne ćelije teže ka organizaciji eksudata.

Kod pacova kontrolne serije, koji nisu prije aplikacije Ol. crotonis dobijali histamin-liberator 48/80, praćen je histološki tok upale u istim

Zahvaljujem se prof. dr. Z. Ignjačevu, šefu Instituta za patološku anatomiju, za kontrolu histoloških preparata.



Slika 5 i 6 Lijevo Zid granuloma pouch-a Desno: Zid granuloma pouch-a iza davanja HL 48/80

vremenskim razmacima kao i kod prve serije. Prvog dana je slika vrlo slična kako po kvalitetu tako i po kvantitetu upalne reakcije. Možda se tu i tamo čini da ima nešto više bjelaničevinaste tečnosti među tkivnim elementima. Tokom idućih dana se slika mijenja i postaje znatno drugačija nego kod odgovarajućih pacova prve serije. Tu dolazi do opsežnijih regresivnih procesa sve do nekroze na leukocitarnim elementima i na kolagenim vlaknima potkožnog tkiva. Kvantitativno gledano znatno je veći broj polimorfonukleara i eozinofilnih leukocita nego kod prvih pacova.

Do pojave produktivnih elemenata (krvnih sudova i vlakana) ne dolazi tako rano, a kad se nakon trećeg do četvrtog dana i pojave, nisu ni izdaleka tako obilna kao kod dehistaminiziranih pacova. Takvo stanje, siromašno produktivnim pojavama, održava se sve do šestog dana.

Paralelnim proučavanjem obe serije stiče se utisak da se kvalitativni skok, koji dovodi do razlike u eksudatu između dvije serije javlja u periodu 2—3 dana od početka upale.

Kako se vidi iz slika, upalna reakcija u koži ispražnjenoj od H mnogo je slabija od kontrola i pokazuje više proliferacije. Izveli smo i jednu grupu eksperimenata, tako da smo HL počeli davati isti dan kada smo izazvali upalnu vreću i životinje žrtvovali drugi i šesti dan. Histološki nalaz je bio isti kao kod prethodne grupe životinja kod kojih je unapred koža bila ispražnjena od H³³. To znači da je pad H u koži neobično brz, što uostalom slijedi iz slike I. i irelevantno je da li je koža a priori slobodna od H, ili je počinjemo ispražnjavati od H u momentu izazivanja upale. Postavlja se interesantno pitanje koju ulogu ima H u procesu upale. Da li je on škodljiv ili nije. Teško je na to odgovoriti. Mi izazivamo sterilnu upalu, i tu izgleda da je H suvišan ili čak škodljiv, jer upalno tkivo koje sadrži H pokazuje više nekroze, a manje proliferacionog tkiva od upale u tkivu gdje je H znatno smanjen. Vjerovatno kod inficirane upale H ima ulogu mobilizacije odbrambenih faktora³⁴ (leukociti, reticuloendotel itd). No u svakom slučaju čini nam se da naglo ispražnjen H u velikim dozama, kako to biva kod infekcije, ima uz sve svoje dobre strane i loše, izazivajući uslijed transudacije u tkivo nekrozu i u najmanju ruku oštećenje tkiva.

Jednoj grupi štakora dali smo 1% Ol. crotonis u dozi od 0,1 cc intracutano u kožu leđa i na taj način izazvali upalu³⁵. Drugoj grupi smo prethodno kožu ispraznili od H pomoću 48/80 i onda tek dali na isti način Ol. crotonis, a aplikaciju HL nastavili do žrtvovanja životinja. Kad je upalna reakcija bila praktički asanirana, kad se vidio još samo mali ožiljak, a to je bilo jedanesti dan, životinje su žrtvovane. Histološki pregled ovog dijela kože nije pokazao nikakve promjene u poredbi sa kontrolama, stoga moramo zaključiti da H nije potreban za zacjelivanje upalnog žarišta, ali da ga i ne ubrzava. Da H stvarno ima ovakovu ulogu u procesu upale kako smo to ovdje prikazali, možemo potvrditi na drugi način. Još prije nekoliko godina upozorili smo da azuleni (chamazulen i guajazulen) djeluju na taj način što sprečavaju oslobađanje H i da zbog toga djeluju antiflogistički i antialergički³⁶. Dakle, to je obrnuto djelovanje od Ah, koji samo sprečavaju djelovanje H, ali ne njegovo oslobađanje¹⁷. Mi smo pomoću jednog u vodi topivog guajazulena, kojeg smo davali štakorima sa „Granuloma Pouch“, uspjeli spriječiti upalnu reakciju još jače nego ako smo kožu ispraznili od H pomoću HL³⁷.

Histološki nalaz;

1) Zid „Granuloma Pouch,, — 5 dana — kontrola bez azulena.

U dubljim slojevima epiderma ima nešto manje edemske tečnosti nego u prethodno opisanom preparatu. Potkožno tkivo dubljih slojeva i u blizini ledne muskulature bogato je infiltrirano gustom masom pretežno polimorfonuklearnih leukocita sa pretvaranjem u gnojna tjelešca. Uz rubove infiltrata ima tek ponešto produktivnih granulacionih elemenata, kvalitativno sličnih, ali po količini daleko oskudniji nego kod pacova tretiranog azulenom.

2) Zid „Granuloma Pouch,, — 5 dana — tretiran topljivim azulenom.

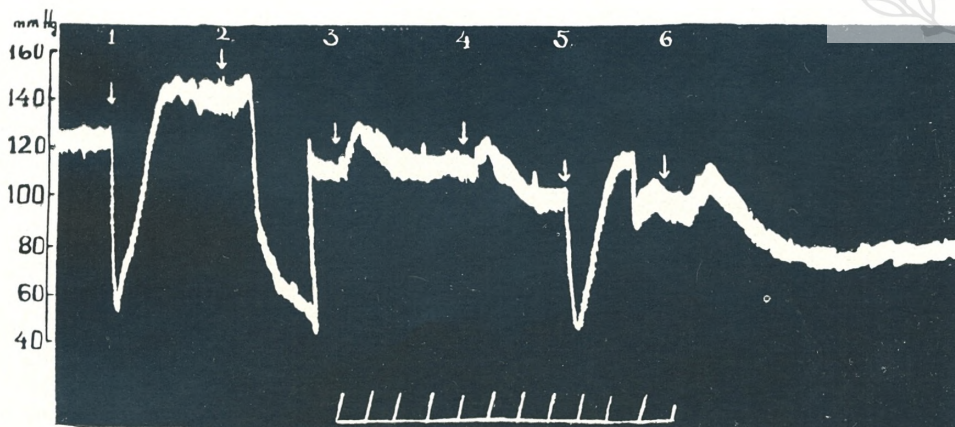
Vezivno tkivo dubljih slojeva natkožnice je rastreseno i prožeto umjerenom količinom bjelančevinaste edemske tečnosti, koja je eozinom crvenkasto obojena i sitno zrnaste strukture. U dubljim slojevima potkožnog tkiva i u sloju muskulature nalazi se uska zona leukocitarne infiltracije, koja se dublje, prema rubu mjehura granuloma, nastavlja u širok pojas proliferativnog granulacionog tkiva građenog od mladih i zrelijih vezivnih ćelija, angioplasta i mladih krvnih sudova, različitog kalibra.

Prema tome, za tok upale irelevantno je da li je koža unapred oslobođena od H ili H koji se nalazi u koži ne može stupiti u akciju jer je imobiliziran azulenom. Azuleni, prema tome, predstavljaju anti HL i obećavaju u terapiji i alergičkim oboljenja i upale daleko više nego Ah. Anti-alergičko djelovanje azulena mogli smo dokazati kod zamoraca sprečavanjem astmatičkog napadaja kod inhalacije homolognog antigena ili kod intracardijalnog davanja homolognog antigena sensibiliziranih životinja. Na koži nismo još dosada ispitivali terapijsku vrijednost azulena, ali su eksperimenti u toku. Mogli smo pokazati da azuleni stvarno sprečavaju djelovanje HL na krvnom tlaku mačke kao i izazivanje edema na njušci ili šapicama štakora. u ovom novu grupu „antihistamin liberatora,, spadaju, kako smo to mogli pokazati, i antagonisti morfina, za koji smo već prije rekli da je izraziti HL³⁸. Zbog toga ispitali smo antagoniste morfina Allyl-nor-morphin i N- Allyl-3-oxy morphinan i našli smo da oba djeluju antialergički.

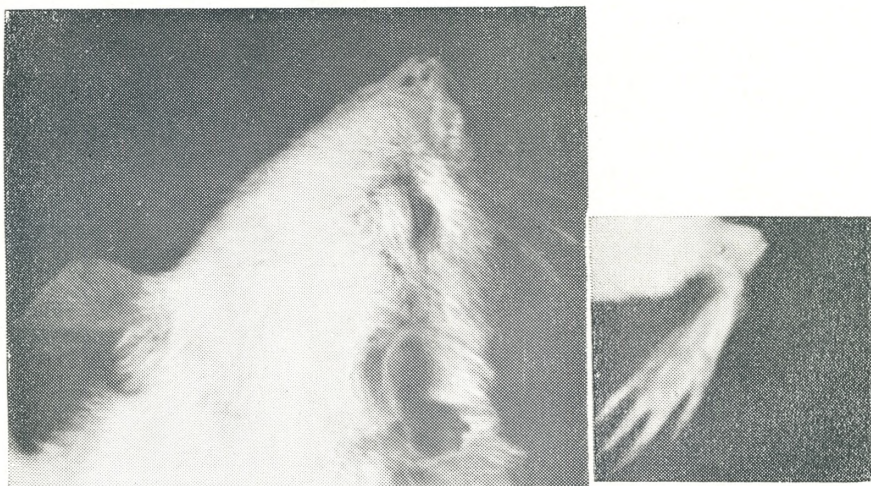
Važan fenomen kože je njena sposobnost osjeta, bilo taktalnog bilo osjeta bola. Već prije jedno 20 godina postavljena je teza da je H prenosioc osjeta bola³⁹. Osobito su mnogo na tom polju radili Rosenthal i saradnici⁴⁰, i pokazali da se stvarno to više izlučuje H iz kože što je jači podražaj. Ima mnogo eksperimenata koji govore pro i kontra, ali u zadnje vrijeme sve više sazrijeva mišljenje da je H stvarno prenosioc osjeta bola i da je to jedna od njegovih glavnih funkcija u koži, koju Speckmann vrlo dobro naziva nocisensornom funkcijom⁹. Nedavno su neki mađarski autori mogli čak pokazati da kod draženja kože ili dure ili proksimalnog dijela ishijadiakusa raste količina H u krvi⁴¹. Rekli smo da je on agens koji se vrlo lako oslobađa pri najmanjoj leziji kože, a intracutana injekcija H izaziva osjet svrbeža i boli. Konačno znamo da je upala itekako bolna, a ona je praćena izbacivanjem H. Činjenica da su svi Ah bez izuzetka istovremeno i lokalni anestetici govori isto u tom smislu. I ovdje nam je za tumačenje ove fiziološke funkcije H, poslužio vrlo dobro HL 48/80. Mi⁴² smo u prvom redu mogli



Slika 7. Zid granuloma Pouch-a tretirano guajazulenom



Šlika 8. Mačka gr. ♂ narkoza kloraloza 70 mg/kg vreme 30 sec.
 1. 10γ; 2. HL 48/80 20γ; 3. Guajazulen 20 mg
 4. HL 48/80 20γ; 5. H 10γ; 6. HL 48/80 50γ



Slika 9. Njuška i stražnji ekstremiteti štakora zaštićenog guajazulenom, koji je dobije
HL 48/8Z



Slika 9 a Kontrolni štakor bez guajazulena

pokazati da su zamorci osjetljiviji za osjet bola izazvan toplinskim zrakama na glavi iza uha nego na boku. Bol smo izazvali pomoću uobičajenog aparata. (Jedna žarulja od 6 V i 25 W. nalazi se u jednom polukuglastom ogledalu. Tačka žarišta tog ogledala prislonjena je na kožu i vrijeme do bolne reakcije mjereno je u sekundama.) Kako se vidi iz priložene tablice, zamorci su mnogo osjetljiviji iza uha nego na boku, a vrlo brzo iza davanja *HL* smanjuje se osjetljivost i regiji uha i na boku. Posve drukčije rezultate dobili smo kod štakora. Kod njih smo ispitivali osjet bola na koži leđa i na stražnjim šapicama, koje su bogatije sa *H* od kože leđa²¹. Našli smo da su koža leđa i koža na šapicama jednako osjetljive na osjet bola. Možda je to zato, jer je na šapicama koža mnogo deblja. Davanje *HL*, čak do 21 dan, nije smanjilo osjetljivost ni u koži leđa ni u koži ekstremiteta, premda znamo da se koža štakora već treći dan maksimalno ispražnjava od *H*. Ako se pitamo kako je to moguće, moramo podsjetiti da kod štakora nakon vrlo dugog davanja *HL* 48/80, koji je najmoćniji *HL*, ne možemo onih zadnjih 10% ukloniti iz kože⁴³. Možda je tih 10% dovoljno da sudjeluje kod prenosa osjeta bola. Da jedna supstanca dolazi u višku, nije nova pojava. Tako znamo na pr. da holinesteraze dolazi u daleko većim količinama nego što je to potrebno za funkciju acethylcholina⁴⁴. No, nama se čini da neće biti tako, jer smo pokazali da štakor ima u koži daleko manje *DO*, dakle receptora za *H*, nego na pr. zamorac, koji ga opet ima više u koži iza uha nego u koži boka⁴⁵. To smo mogli dokazati histohemiski po metodi Valetta i Cohena⁴⁶. Valjda je ovih 10% *H* premalo da bi reagiralo sa one malo prisutne *DO*, pa da izazove osjet bola. Da je ipak *H* odgovoran za osjet bola i kod štakora dali su odličan dokaz Jacob i saradnici⁴⁷. Oni su pokazali da repetirano davanje *H* štakoru dovodi do privikavanja na *H*, ali i do analgetičnog djelovanja na koži. To se odlično slaže sa našom predodžbom o djelovanju *DO* kao receptora za *H*, jer znamo da svaki supstrat u višku može inhibirati svoj ferment. Prema tome, osjet bola i kod štakora i kod zamorca uvjetovan je *H*. Konačno smo analogne eksperimente proveli na ljudima pa ćemo ukratko o njima referirati, iako nemamo još mnogo materijala⁴⁸. Poznato je da se osjet bola ne poklapa sa taktilnim osjetom. Obično tamo gdje je osjet bola jači, taktilni je slabiji. Znamo da na vrhovima prstiju imamo vrlo jaki taktilni osjet, a slabo izraženi osjet bola, dok na obrazima i na vratu imamo jak osjet bola, a slab taktilni. Mi smo kod jedne grupe od 40 ljudi mogli pokazati da je regija vrata ispod uha mnogo osjetljivija za osjet bola nego koža palca ruke. Poslužili smo se istom metodom kao kod mjerenja osjeta bola kod štakora i zamoraca.

Broj ispit. strana	Vrijeme u sekund.	Volarna strana palca	Retroaurikularna regija
		Prosjeck	Prosjeck
40 desno		(+ 8,6) 5,0 (—2,1)	(+ 3,6) 2,4 (—1,3)
40 lijevo		(+ 7,6) 4,7 (—2,4)	(+ 3,5) 2,5 (—1,3)

Na jednom broju lješina umrlih od najrazličitijih oboljenja određivali smo *H* u koži tih dviju regija opet istom metodom kao i kod zamoraca i štakora. Lješine nisu nikada bile starije od 18 sati.

KOLIČINA *H*. U KOŽI ČOVJEKA RETROAURIKULARNA REGIJA

8,89 γ/g

VOLARNA STRANA PALCA

1,19 γ/g

H u regiji kože vrata dolazi više nego u koži palca, što se poklapa sa rezultatima osjeta bola tih regija. Ovi nalazi imaju za neurologa, kirurga i za infektologa praktično značenje. Znamo iz infektivnih bolesti da eflorescence kod raznih infektivnih bolesti dolaze najčešće na kožu lica, vrata i leđa, koje su isto osjetljive za bol. Ima, jasno, i iznimaka, ali u glavnim crtama ova raspodjela se poklapa sa regijama kože koja je bogatija na *H*. Ne smijemo to zamijeniti sa ekcemima koji dolaze vrlo često na ruci, jer tu se radi o lokalnoj sensibilizaciji kože. Eflorescence kod infekcioznih oboljenja su izraz alergizacije čitavog tijela, a ne samo onih mjesta gdje se one pojavljuju. Sigurno je to od interesa i za opekotine. Vjerovatno nije svejedno za izgled kliničke slike koja regija kože je opečena.

Ako ovo rezimiramo, nužno dolazimo do zaključka da količina *H* u koži igra važnu ulogu za intenzitet nekih manifestacija na koži. Prvenstveno tu mislimo na ekcem alergičke geneze i, kako smo vidjeli, na prenos osjeta bola. Ako se pitamo koju ulogu zapravo *H* ima u koži, ne možemo jedinstveno odgovoriti za sve manifestacije u kojima on sudjeluje. Kao nocisensorni agens od kog prenosa osjeta bola ima jasnu ulogu i gdje ga nema, nema ni osjeta bola. Kod ekcema on pogoršava kliničku sliku, što možemo rastumačiti njegovim delovanjem na transudaciju u intercelularne prostore. Najteže je zapravo odgovoriti kakovu zapravo ulogu *H* ima kod upale. Da li je on pogoršava ili je potreban kod odbranbenog procesa. Koristan je sigurno utoliko što izaziva osjet bola i individuum zbog toga bolje zaštićuje upalno mjesto. S druge strane, *H* dovodi do povećavanja količine adrenalina, što izaziva ishemiju okolnog područja i možda sprečava invaziju uzročnika⁴⁹. U samom upalnom procesu kako ga vidi patološki anatom, on je, čini nam se, štetan, jer dovodi do više nekroza i manje poliferacija, nego u koži koja je ispražnjena od *H*. Konačno, to ne iznenađuje, jer odbranbene reakcije ukoliko pređu stanovitu granicu, postaju štetne. Sjetimo se samo adaptacione teorije Selyea.

ZAKLJUČAK

1) Studirana je funkcija *H* u koži i njegova važnost za postupak alergičkog ekcema tuberkulinske reakcije, upale i prenosa osjeta bola i to na zamorcima, najosjetljivijim životinjama za *H*, i štakorima, koji su vrlo rezistenti za *H*. Ove manifestacije ispitivane su na normalnoj koži ispražnjenoj od *H*, pomoću najmoćnijeg HL 48/80.

2) Alergički ekcem izazvan sa 2,4 — dinitrohlorbenzolom na zamorcu to je jači, što je veća količina *H* u koži. Dakle, na koži iza uha je jači nego na boku, a ne razvija se ako kožu oslobodimo od *H*.

3) Upalna reakcija studirana na „Granuloma Poush” štakora slabija je kod štakora čija je koža ispražnjena od *H*. U upalnom tkivu ima manje

nekroza i više proliferacija nego kod kontrola. Isti efekt je dobiven sa jednim u vodi topivim guajazulenom, koji fiksira H u tkivu i ne dozvoljava mu da stupi u reakciju. Stoga se zaključuje da je za ishod upale irelevantno da li a priori H nema u koži ili on ne može stupiti u reakciju. Za sanaciju upalnog žarišta irelevantno je da li ima ili nema H u koži. Tuberkulinska reakcija je nezavisna od količine H u koži.

4) Prenos osjeta bola studiran je na štakoru, zamorcu i ljudima. Zamorac i čovjek pokazuju to jači osjet bola izazvan toplinskim zrakama, što je veća količina H u koži. Kod zamorca je uzeta regija na koži glave i na boku, a kod čovjeka koža vrata ispod uha i koža palca. Kod zamorca smo mogli ispražnjavanjem kože od H pomoću 48/80 pokazati smanjenje osjeta za bol. Da te regije zamorca pokazuju različite količine H , pokazali su već Feldberg i Miles, a mi smo to isto mogli pokazivati za ove dvije regije kože čovjeka. Kod štakora osjet bola u koži leđa i šapica ostaje isti premda u šapicama ima više H . Ispražnjenje kože štakora od H ne smanjuje osjet bola. To se dovodi u vezu sa pomankanjem receptora za H u koži štakora, a koji je indentičan sa diaminooksidazom.

5) Diskutira se o važnosti H za pojave koje se studiraju, specijalno za upalu, i postavlja se pitanje da li je H koristan ili štetan za proces upale.

P. Stern

FUNCTION OF HISTAMINE IN THE SKIN

S u m m a r y

1) The function of histamine in the skin and its role in the genesis of allergic eczema, tuberculin reaction, inflammation and pain sensation was studied in guinea pigs, the most sensitive animals to histamin (H), and in rats which are very resistant to H . The enumerated manifestations were investigated in normal skins and in skins depleted of H by the use of the most potent histamine liberator 48/80.

2) The allergic eczema, provoked in guinea pigs by 2,4-dinitrochlorobenzene is more pronounced in the skin with more H . Therefore, it is more pronounced in the skin behind the auricles as in the skin of the hip, and it does not appear if the skin is depleted of H .

3) The inflammatory reaction was studied on »granuloma pouch« of the rat and it is less pronounced in a rat whose skin was depleted of H . In the inflamed tissue the necroses are less and the proliferations more conspicuous as in the controls. The same effect was obtained with one water-soluble guiazulene which fixed H in the tissues and prevented its action. Therefore, it is concluded that it is irrelevant for the outcome of inflammation if H is a priori missing from the skin. or if H is prevented to act. For the assanation of an inflammatory focus it is irrelevant if there is H or not. Tuberculine reaction is independent of H concentration in the skin.

4) The pain conduction was studied in rats, guinea pigs and humans. The guinea pigs and the humans have a more intense pain sensation from thermal radiations when the concentration of H in the skin is greater. In

guinea pigs the skin on the head and on the hip was investigated, and in humans the skin in the neck (below ears) and from the fingertips. The depletion of H in the skin of these two regions of guinea pigs by use of 48/80 resulted in a diminution of pain sensation, what is consistent with the findings of Feldberg and Miles. Present investigation proved that the same holds for the investigated skin regions in humans. In rats the pain sense in the skin of the back and of paws remained without change notwithstanding the fact that in the paws there is more H. The depletion of H from the skin of rats does not diminish the pain sensation. That is accounted for by the absence of H receptor in the rat skin, namely of diaminooxidase.

5) It is discussed the significance of H for the phenomena which were, investigated, especially for the inflammation, and the question is raised if H is beneficial or noxious for the inflammatory process.

P. Stern

LA FONCTION D'HISTAMINES DANS LA PEAU

R é s u m é

1) L'auteur a fait l'étude de la fonction d'histamines dans la peau et son importance pour l'étiologie d'eczéma, de réaction tuberculinique, d'inflammation et de la transmission de la sensibilité à la douleur, chez le cobaye, animaux les plus sensibles et chez les rats les plus résistants aux histamines. Ces réactions ont été étudiées sur la peau normale et la peau vidée d'histamines, par l'intermédiaire d'un histamino-libérateur le plus fort 48/80.

2) L'eczéma allergique, provoqué par 2,4 -dinitrochlorobenzole chez le cobaye, est d'autant plus fort que la quantité d'histamines dans la peau est plus grande. Il est plus fort derrière l'oreille qu'au niveau du flanc, et ne se développe pas si la peau est délivrée d'histamines.

3) La réaction inflammatoire, étudiée chez le rat par la méthode de »granuloma pouch«, est plus faible si la peau est vidée d'histamines. Le tissu inflammatoire contient moins de nécrose et plus de prolifération que le témoin. Le même effet est atteint par une guajazulène soluble dans l'eau, qui fixe les histamines dans les tissus et ne leur permet pas de venir en action. D'où la conclusion qu'il est irréalable pour le sort de la réaction qu'il y ait d'histamines dans la peau ou qu'il ne puisse pas entrer en action. Pour la sanation du foyer inflammatoire, il est irréalable que les histamines existent ou non dans la peau. La réaction tuberculinique est indépendante de la quantité d'histamines dans la peau.

4) La transmission de la sensibilité à la douleur est étudiée chez le rat, cobaye et chez l'homme. Le cobaye et l'homme montrent un effet de la sensibilité à la douleur, provoquée par les rayons chauds, d'autant plus fort que la quantité d'histamines dans la peau est plus grande. Chez le cobaye on a pris la peau de la région de tête et du flanc, chez l'homme la peau derrière l'oreille et celle du pouce. L'auteur a pu démontré la diminution de la sensibilité à la douleur la peau du cobaye, vidée d'histamines par le 48/80. Feldberg et Miles ont démontré que les deux régions citées de la peau du cobaye, contiennent des quantités différentes d'histamines. L'auteur

a démontré la même chose dans la peau humaine. La sensibilité à la douleur dans la peau de dos et de pattes du rat, reste la même, bien que les pattes contiennent plus d'histamines ne diminue pas la sensibilité à la douleur chez le rat. Ceci est en rapport au défaut en récepteur pour les histamines dans la peau de rat, identique à diaminoxidase.

5) L'auteur discute la valeur d'histamines pour les phénomènes étudiés, spécialement pour l'inflammation, et pose la question d'utilité ou de nocivité d'histamines dans le proces inflammatoire.

P. Štern

DIE FUNKTION DES HISTAMINS IN DER HAUT

Zusammenfassung

1. Es wurde die Funktion des Histamins (H) in der Haut und seine Bedeutung für das Entstehen des allergischen Ekzems, der Tuberkulinreaktion, der Entzündung und für die Uebertragung der Schmerzempfindung studiert, und zwar an Meerschweinchen, als den gegen H empfindlichsten, und an Ratten, als den gegen H sehr resistenten Tieren¹. Diese Erscheinungen wurden an normaler, sowie mittels des wirksamsten Histamin-Liberators (HL) 48/80 von H entleerter Haut untersucht.

2. Das mittels 2,4 -dinitrochlorbenzol erzeugte allergische Ekzem beim Meerschweinchen erscheint umso stärker, je höher der H-Gehalt der Haut ist. An der Nackenhaut entwickelt es sich also stärker als an der Flanke; an der von H entleerten Haut bleibt es aus.

3. Die entzündliche Reaktion, untersucht am Granulombbeutel der Ratte, zeigt an der von H entleerten Haut eine schwächere Entwicklung. Im entzündlichen Gewebe sind mehr proliferative und weniger nekrotische Prozesse als bei Kontrollen zu finden. Derselbe Effekt wurde mit einem wasserlöslichen Guajazulen erzielt, durch welches H im Gewebe fixiert und sein Eintritt in die Reaktion unmöglich wird. Es wird daraus geschlossen, dass es für den Ausgang der Entzündung gleichgültig ist, ob H a priori in der Haut fehlt, oder nur an der Reaktion nicht teilnehmen kann. Für die Einheilung des Entzündungsherdes ist die Anwesenheit des H belanglos. Die Tuberkulinreaktion ist vom H-Gehalt der Haut unabhängig.

4. Die Uebertragung des Schmerzempfindens wurde an Ratten, Meerschweinchen und Menschen untersucht. Meerschweinchen und Mensch zeigen eine umso stärkere Schmerzempfindlichkeit gegen Wärmestrahlen, je grösser der H-Gehalt der Haut ist. Beim Meerschweinchen wurde die Nacken- und Flankengegend, beim Menschen die Retroauriculargegend und die Haut des Daumens untersucht. Beim Meerschweinchen konnten wir nach der Entleerung der Haut von H mittels HL 48/80 eine verminderte Schmerzempfindlichkeit feststellen. Schon Feldberg und Miles konnten zeigen, dass diese Hautgebiete des Meerschweinchens verschiedene Mengen H enthalten und wir konnten dasselbe für die angegebenen Hautgebiete beim Menschen nachweisen. Bei der Ratte hat sich die Schmerzempfindlichkeit der Rücken- und Pfotenhaut gleich erwiesen, obwohl die Pfotenhaut mehr H enthält. Die Entleerung der Rattenhaut von H vermindert ihre Schmerzempfindlichkeit nicht. Dies wird mit der Ermangelung des Rezeptors für H in der Rattenhaut, identisch der Diaminoxidase, in Zusammenhang gebracht.

5. Die Bedeutung des H für die untersuchten Erscheinungen, besonders die Entzündung, wurde besprochen und die Frage aufgestellt, ob H im Entzündungsprozess eine nützliche oder schädliche Rolle spielt.

L I T E R A T U R A

1. Stern P.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 199,251, (1942).
2. Halpern. B. N. Arch. int. Pharmacodyn. 68,339 (1942).
3. Schayer R.: J. Biol. Chem. 196,468 (1952). 203,787 (1953).
4. McIntosh F.; Patton W.: J. Physiol. 109,190 (1949).
5. Stern P., Košak R.: Acta med. jugoslav. 5,147 (1951).
6. Ivy A.: Physiol. Rev. 10,282, (1930).
7. Haas H.: Histamin und Antihistamine. Ed. Cantor, Aulendorf 1951.
8. Häusler H. i Sterz H.: J. Mount Sinai Hosp. 19,121 (1952).
9. Speckmann K., Specht G.: Dtsch. Z. f. Nervenheilkunde 170,122 (1953).
10. Paton W.: Int. Arch. Allergy 6,203 (1955).
11. Hardwick D.: J. Physiol. 124,157 (1954).
12. Wilson C.: J. Physiol. 125,534 (1954).
13. Guggenheim M.: Die biogenen Amine, S. Karger Verlag, Basel-New York, 1951.
14. Doer R.: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. 13, 1929.
15. Dale H.: Proc. Roy. Soc. London 91 B, 126, (1920).
16. Lenč P., Marijan N., Predojević M., Stern P.: Acta med. jug. 3,245, (1949).
17. Ivančević I., Stern P.: Arch. int. pharmacodyn. 78,225, (1949).
18. Stern P.: Medicinski arhiv 5,1, (1951).
19. Bucher K.: Helv. physiol. acta 6,114, (1948).
20. Pellerat J.: Thesis Lyon 1946.
21. Fabyini M., Szebehelyi J. Schweiz. med. Wschr. 299, (1949).
22. Paton W.: Brit. J. Pharmacol. 6,499, (1951).
23. Feldberg W., Talesnik J.: J. Physiol. 120,550, (1953).
24. Feldberg W.: J. of Pharmacy and Pharmacology 6,281, (1954).
25. Feldberg W., Miles A.: J. Physiol. 120,205, (1953).
26. Miescher G.: Schweiz. med. Wschr. 360, (1941).
27. Stern P.: Arch. int. pharmacodyn. 105, 270 (1956)
28. Nilzen A.: Acta dermatovener. 27, Suppl. 17, (1947).
29. Stern P.: Neobjavljeni rezultati.
30. Misirlija A., Huković S., Stern P.: Tuberkuloza. U štampi.
31. Bucher. J, Bucher K.: Int. Arch. Allergy 3,58, (1952).
32. Bacq Z. M.: Privatno saopćenje.
33. Selye H., Horavá A.: Second annual Report of Stress, Acta Inc. Publ. Montreal 1952.
34. Stern P., Nikulin A., Misirlija A., Ciglar M.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 227, 552 (1956)
35. Stern P.: Neobjavljeni rezultati.
36. Janczo M.: Nature London 160,228, (1947).
37. Stern P., Nikulin A.: Neobjavljeni rezultati.
38. Stern P.: Erster internationaler Allergiekongress Z rich 524, S. Karger Verlag Basel-New York 1952.
39. Stern P.: Medicinski pregled. 91, (1956)
40. Stern P. Milin R.: Arzneimittelforschg. 6445 (1956)
41. Ungar G.: J. Physiol. Path. Gen. 34,77, (1936).
42. Rosenthal S. R., Minard D; Amer. J. Physiol. 126, 616P. (1939).
43. Rosenthal S. R., Sonnenschein R. R.: Amer. J. Physiol. 155,186 ,(1948).
44. Rosenthal S. R.: J. Appl. Physiol. 2,348, (1949).
45. Bornemisza GY., Csalay L., Horvath G.,Ludany G.: Acta med. hung. 8,187,(1955).
46. Stern P., Huković S.: Pfl gers Arch., Arch. int. pharmacodyn 108,273 (1956)
47. Brocklehurst W. E., Humphrey J; H., Perry W. L.: J. of Physiol. 129,205, (1955).
48. Nachmanson D.: J. Cell. Comp. Physiol. 39, Suppl. 2, (1951).
49. Stern P.: Neobjavljeni rezultati.
50. Valetta G., Cohen Y.: C. R. Soc. Biol. 146,714, (1952).
51. Jacob J., Ambrus J., Ambrus C.: Ann. Inst. Pasteur 81,281, (1951).
52. Stern P., Huković S., Fukarek V.: Neobjavljeni rezultati.
53. Parrot J. L., Reuse J.: de Physiologie. 46,99, (1954).

