

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA XXXIV

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 13.

Urednik

PAVEL ŠTERN,

redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine



SARAJEVO

1967

HISTAMINSKA ASTMA MIŠA

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 23. IX 1968. g.)

Već je dugo poznata pojava da je miš izvanredno neosjetljiv na histamin (H). Tako, npr., Bergman i Munoz¹ navode da je LD₅₀ i. p. za miša 750—1000 mg/kg, dok je prema Fühneru² kod supkutanog davanja čak 1500 mg/kg. Ne postoji zadovoljavajuće tumačenje ove interesantne pojave koja u principu vrijedi i za štakora, iako je on nešto manje rezistentan na H nego miš³. Treba, primjerice, spomenuti da adenalektomirani miš postaje neusporedivo osjetljiviji na ovaj biogeni amin nego normalni⁴. Isto tako, poznato je da i endotoksin Bordetella pertussis čini miša osjetljivijim na H⁵. 1962. god. pokazali su Fishel i saradnici⁶ da tretiranje miševa beta-adrenergičnim blokatorima (AR) čini ovu životinju osjetljivijom na H. Oni su istovremeno upozorili da miš postaje osjetljiviji ne samo na H nego i na serotonin. Ova senzibilizacija miševa na H, nakon blokade beta-adrenergičnih receptora, javlja se periferno i centralno. Bergman i Munoz¹ su primjerice pokazali da se hipersenzibilizacija na H nakon tretiranja miševa AR-om može spriječiti davanjem adrenalina ili noradrenalina. Životinja, u stvari, umire uslijed jedne jake hipotenzije, pa je spasava davanje adrenalina ili noradrenalina. Time se može tumačiti i već spomenuta činjenica da adenalektomirani miševi također postaju hipersenzibilni na H⁴. Ovo govori o perifernom djelovanju AR-a. Spomenuli smo da postoji i centralna senzibilizacija na H nakon davanja AR-a. Tako smo mi nedavno mogli pokazati da AR senzibilira životinju na male doze oxotremorina⁷. Oxotremorin je jedna supstanca koja povišuje količinu acetilholina u CNS-u⁸ i na taj način izaziva statički tremor. U jednom prethodnom radu uspjeli smo u jednoj čitavoj seriji eksperimenata pokazati da povišenje H u CNS-u senzibilira životinju na acetilholin⁹. Ako se, primjerice, pomoću CuCl₂, jednim inhibitorom imidazol-n-metiltransferaze¹⁰, spriječi razaranje H u CNS-u, vrlo male doze oxotremorina izazvaće vrlo jak statički tremor, neusporedivo jači nego bez inhibicije spomenutog fermenta⁹. Obrnuto, ako se, npr., pomoću spermidina smanji količina acetilholina u mozgu, može se potpuno spriječiti izazivanje statičkog tremora pomoću oxotremorina¹¹. Prema tome, vidimo da se stvarno radi o senzibilizaciji jednog bio-

genog amina pomoću drugog. To vrijedi i za procese na periferiji. Mi smo mogli nedavno dokazati da inhibicija diaminooksidaze, dakle onog fermenta koji razara H izvan CNS-a¹², dovodi do produžavanja života miševa otrovanih smrtnom dozom botulinus toksina A¹³. Uzrok smrti od trovanja botulinus toksinom je posljedica sprečavanja oslobađanja acetilholina na završecima motornih nerava¹⁴. Prema tome, povećanje H na periferiji senzibiliziralo je životinje na one količine acetilholina koje se još oslobađaju i produžilo na taj način život zatrovanih miševa.

Ovaj uvod bio je potreban da se upozori na različite faktore koji bi mogli dovesti do boljeg tumačenja djelovanja AR-a na senzibilizaciju za H. Nama se čini da se kod ovog procesa radi ne samo o farmakološkoj blokadi beta-adrenergičnog sistema, nego istovremeno i o pojačanju holinergičnog sistema, centralno i periferno. Iz tih razloga interesiralo nas je da li će miševi postati osjetljivi na H i pri inhalaciji ovog biogenog amina, što bi dovelo do astmatičkog disanja. Izazivanje astmatičkog disanja bilo inhalacijom, bilo izazivanjem alergičke reakcije redovno se izvodi na zamorcu — dakle, životinja koja je fantastično osjetljiva na H³. Tako, npr., LD₅₀ s. c. za zamorca iznosi svega 7 mg¹⁵, a za miša, rekli smo, 2500 mg². Prema tome, zamorac je najmanje 350 puta osjetljiviji od miša na H. Budući da bi izazivanje astmatičkog disanja na mišu moglo dobro poslužiti kao farmakološki model, smatrali smo interesantnim i potrebnim da izvedemo te pokuse. Kako smo rekli, miševi postaju hipersenzibilni i na serotonin⁵, pa smo vršili eksperimente za izazivanje astme na mišu i serotoninom. Isto tako, interesiralo nas je djelovanje bradikinina, koji se danas smatra uzročnikom za veći dio manifestacija kod kontrakcija bronha¹⁶ i nađen je povišen u krvi astmatičara¹⁷.

METODA

U pokusu su bili bijeli miševi oba spola, težine 15—25 g, hranjeni kolačićima »Kalinovica«. Vodu su životinje dobivale ad libitum. Astmatički napadaj izazivali smo inhalacijom 1% H-HCl ili 1%-nom inhalacijom serotin-kreatininsulfata, ili inhalacijom 0,1% sintetskog bradikinina »SANDOZ«*). Od AR-a upotrijebili smo Kö 592 /1-(3-Methylphenoxy)-3-isopropylaminopropanol(2)-Hydrochlorid/¹⁸ i propranolol¹⁹ /1-isopropilamino-3-(1-naphthyloxy)-propen-2-ol/. U kavezu za inhalaciju je bila uvijek grupa od 6 miševa, koji su prethodno dobili jedan od AR-a, i to 60' prije inhalacije. Kao antagoniste za histaminsku astmu upotrebljavali smo mepiramid-maleat²⁰, za serotoninisku astmu BOL (dietilamid-2-bromlisergične kiseline)²¹, a za bradikininsku astmu acidum-acetilosalicilicum²². Inhalacija jednog od sredstava za izazivanje astme trajala je maksimum 15'. Ukoliko u to vrijeme životinja ne dobije astmatički napadaj, pokus se završava. Najprije smo tražili najpogodnije vrijeme koje je za AR potrebno da se dâ prije inhalacije astmogene supstance, i pokazalo se da je 60' najpogodnije vrijeme. Ispitali smo i uticaj atropina kao eventualnog antiastmatika.

*) Firmi »SANDOZ« AG, Basel zahvaljujemo se za sintetski bradikinin.

	Broj životinja u svakoj po- jedinoj grupi	Kö 592 100 mg/kg i. p.			Propranolol 10 mg/kg i. p.			Opaska
Zaštitna supstanca		Hi- sta- min	Se- roto- nin	Bra- diki- nin	Hi- sta- min	Se- roto- nin	Bra- diki- nin	
Mepira- min 40	12	—	O	O	—	O	O	
BOL 2	12	O	—	O	O	—	O	
Aspirin 25	12	O	O	—	O	O	—	
Atropin 5	12	O	O	O	O	O	O	
Kontrole	16	O	O	O	O	O	O	0,1% otopina H također iza- ziva astmatički napad, ali sla- biji nego kod in- halacije 1% H
		Kontrolni miše- vi koji nisu tretirani za AR						
Kontrole	20	—	—	—				

O = nema zaštite, tj. razvija se astmatičko disanje

— = zaštita

REZULTATI

Kako se vidi iz priložene tabele, miševi tretirani bilo sa H ili serotoninom ili bradikininom dobivaju klasične astmatičke napadaje, dok kontrolni, tj. netretirani, ne pokazuju teško disanje, iako je kod nekih eksperimenata inhaliranje trajalo ne 15' nego čak 60'. Treba spomenuti da napadaj kod miševa tretiranih AR-om ipak nastupa kasnije nego, primjerice, kod inhalacije H ili serotoninina zamorca. Disanje nije nikad tako teško kao kod zamorca i ne dovodi do egzzitusa. Jasno su naglašeni samo teški inspirij, nemir i cijanoza. Nakon 20—30 min. životinje se potpuno oporavljaju. Iz tabele se vidi jedna jasna zakonitost: mepiramin-maleat zaštićivao je samo kod inhalacije H, a ne kod inhalacije druga dva sredstva za izazivanje astme. BOL zaštići-

vao je samo kod inhalacije serotonina, a acidumacetyl-salicilikum samo kod inhalacije bradikininina. Atropin nije ni kod jedne vrste astme imao zaštitni efekt.

DISKUSIJA

Kako vidimo, kod miša se također nakon tretiranja AR-om može izazvati astma inhalacijom svim klasičnim sredstvima za izazivanje takvog stanja. Sve je to već poznato za zamorca³. Isti antagonisti koje smo upotrebljavali i mi upotrebljavaju se, kako je poznato, vrlo često u eksperimentalnoj medicini za suzbijanje astmatičkog napadaja. Collier i saradnici²³ su pokazali da AR pojačava kod zamorca astmu izazvanu bradikininom. Kod zamorca se može izazvati alergička astma inhalacijom bradikininina i bez prethodnog tretiranja beta-blokerima.

Iz ovih naših eksperimenata vidi se da bradikinin djeluje izvanredno jako na kontrakciju bronha miša, kako je to u literaturi već često opisivano za zamorca¹⁰. Nama je bila potrebna 100 puta manja koncentracija bradikininina nego H ili serotonina da bismo izazvali astmu istog intenziteta. Međutim, ne treba zaboraviti da bradikinin oslobađa H²⁴, pa se vjerojatno kod inhalacije bradikininina radi o dva faktora, tj. o ovom polipeptidu samom i o H. Nešto slično smo mi već pokazali studirajući upalu u odnosu na bradikinin na štakorima²⁵.

Astmatički napadaj se isto tako lako može izazvati acetilholinom³. To, u stvari, imitira podražaj vagusa. Mi pretpostavljamo da se i u našem slučaju, pored direktnog djelovanja H, serotonina i bradikininina na glatku muskulaturu bronha, radi i o pojačanom tonusu vagusa na bronhe. Međutim, kako se vidi iz naše tabele, atropin nije bio u stanju da spriječi astmatičko disanje izazvano supstancama koje smo mi upotrebljavali. Rekli smo u uvodu da vrlo vjerojatno do senzibilizacije miša na H dolazi zbog otpadanja zaštitnog efekta, adrenergičkog sistema, zbog čega dolazi do jačeg izražaja holinergični nervni sistem. Interesantno je u vezi s tim spomenuti da inhibicija dijamino-oxidase pomoću aminoguanidina, najjačeg inhibitora ovog fermenta^{12, 26}, ne čini miša osjetljivijim na H²⁷. Iz toga se može zaključiti da je od bitne važnosti za podizanje osjetljivosti na H, u prvom redu, ispad adrenergične funkcije koja ima zaštitni efekt, bilo zbog djelovanja H na cirkulaciju, bilo na bronhe. Prema Moogu i Fischeru²⁸, nije zahvatna tačka ovih supstanci na plućima zamorca jednaka. Tako, npr., bradikinin djeluje najjače na vene pluća, serotonin na arterije pluća. Da li je tako i na plućima miša, mi ne možemo reći, ali teoretski je to pojmljivo.

Mislimo da bi izazivanje astmatičkog napadaja na miševima moglo poslužiti kao dobar farmakološki model, jer je životinja mala. To dolazi osobito u obzir kod izazivanja astme bradikininom do kojeg je, barem zasad, teško doći. Osim toga, ovi eksperimenti potvrđuju postojanje već opisanih komplikacija i opasnost davanja AR-a astmatičarima²⁹.

SADRŽAJ

Pokazano je da adrenergički beta-blokeri (Kö 592, propranolol), za koje se zna da senzibiliziraju miša na histamin i serotonin, omogućavaju da se na toj životinji izazove astmatičko disanje inhalacijom histamina, serotonina ili bradikinin. Tako izazvana astma mogla se suzbiti specifičnim inhibitorima. Diskutira se o značenju ovih rezultata.

Laborantici Branki Bajagić zahvaljujemo za odličnu tehničku pomoć.

PAVAO ŠTERN I ENISA BAŠAGIĆ

HISTAMINIC ASTHMA OF MICE

SUMMARY

It was shown that it was possible to provoke asthmatic respiration by inhalation of histamine, 5-hydroxytryptamine, or bradykinine in mice treated with adrenergic beta blockers (Kö 592, propranolol), the substances which sensitize mice for histamine and 5-hydroxytryptamine. Asthma provoked in this way could be abolished with specific inhibitors. It has been discussed about the importance of these findings.

LITERATURA

1. Bergman, R. K., Munoz, J.: *Proc. Soc. exper., Biol. Med.* 122, 428 (1966).
2. Fühner, H.: *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 166, 437 (1932).
3. Rocha e Silva, M.: *Histamine*, Charles Thomas Publ. Springfield, 111 (1955).
4. Kind, L. S.: *Bact. Rev.* 22, 173 (1958).
5. Munoz, J., Bergman, R. K.: *Immunolog.* 97, 120 (1966).
6. Fishel, C. W., Szentivanyi, A., Talmage, D. W. J.: *Immunol.* 89, 8 (1962).
7. Stern, P., Bašagić, E., Buljubašić, S.: *Wien. klin. Wschr.* 81, 113 (1969).
8. Holmsted, B., Lundgren, G.: *Mechanisms of release of biogenic*
9. Stern, P.: *Wien. klin. Wschr.* 80, 181 (1968).
10. White, T.: *Disertation*, Lund (1961).
11. Stern, P., Igić, R.: u pripremi za štampu.
12. Roberts, M.: *J. Endocrin.* 11, 338 (1954).
13. Boras, J., Stern, P.: *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* (u štampi).
14. Lamanna, C.: *Science* 130, 763 (1959).
15. Schmidt, G., Stähelin, A.: *Z. Immunitätsforschung* 60, 222 (1929).
16. Cerletti, A., Stürmer, E.: *Deut. Med. Wschr.* 86, 678 (1961).
17. Abe, K., Watanabe, N., Kumagai, N., Mouri, T., Seki, T., Yoshinaga, K.: *Experientia* 23, 626 (1967).
18. Stock, K., Westerman, E.: *Biochem. Pharmacol.* 14, 227 (1965).
19. Black, W., Stephenson, S.: *Lancet* II, 311 (1962).
20. Bovet, D., Horelois, R., Walthert, F.: *C. r. Soc. Biol.* 138, 99 (1944).

21. Rothlin, E.: Ann. New. York. Acad. Sci. 66, 668 (1967).
22. Collier, H. O. J., Shorley, P. G.: Brit. J. Pharmacol. 15, 601 (1960).
23. Collier, H. O. J., James, G. W. L., Piper, P. J.: J. Physiol. (Lond) 180, 13P (1965).
24. Rocha e Silva, M.: First inter. Pharmacological Meeting, 9, 3 (1963).
25. Stern, P., Nikulin, A., Ferluga, J.: Arch. int. Pharmacodyn. 140, 528 (1962).
26. Zeller, E.: u CIBA Foundation Symposium on Histamine. Little, Brown u. Co., Boston 1956, str. 339.
27. Angelakos, E. T., Loew, E.: Brit. J. Pharmacol. 119, 444 (1957).
28. Moog, E., Fischer, J.: Archexp. Path. Pharmak. 249, 384 (1964).
28. Moog, E., Fischer, J.: Arch. exp. Path. Pharmak. 249, 384 (1964).
29. Kusus, T., Schnelle, K., Lydtin, H.: Subsidia medica, 19, 63 (1967).

