

J. VENULET i Z. ŁAZOWSKI

BADANIA NAD WPŁYWEM KALCYFEROLU NA STANY ANAFILAKTYCZNE, POHISTAMINOWE I POACETYLOCHOLINOWE.

(Zakład Farmakologii Doświadczalnej Akademii Medycznej w Warszawie.
Kierownik prof. dr Piotr Kubikowski).

W poszukiwaniu skutecznej terapii licznych schorzeń alergicznych, stosowane były ze zmiennym powodzeniem najróżniejsze ciała. Istotna różnica w przebiegu spraw anafilaktycznych u zwierząt doświadczalnych i u ludzi oraz znaczne różnice w mechanizmie reakcji ustroju na szok anafilaktyczny i histaminowy (Tommy i Kriete, Eger i Stone, Feinberg, Rense, Castillo i inni) sprawiają liczne niespodzianki powstające przy przenoszeniu wyników otrzymanych w pracowni na klinikę.

Pośród leków stosowanych niekiedy z powodzeniem w schorzeniach alergicznych zaciekała nas witamina D_2 (Kalcyferol). Zainteresowanie to spowodowane było szeregiem publikacji korzystnie omawiających jej działanie. Hathaway, Rappaport et al. już w 1936 donieśli o dobrych wynikach otrzymywanych przez nich w leczeniu dychawicy oskrzelowej i kataru siennego dużymi dawkami kalcyferolu. Davison oraz Sollmann (1948) podkreślają przydatność witaminy D_2 w sprawach alergicznych. O podobnym działaniu wspomina Miklaszewski. Dainow stosował z powodzeniem kalcyferol w dermatozach uczuleniowych.

Jedyną dostępną nam pracą o wpływie wit. D_2 na stany anafilaktyczne i im pokrewne wywoływane u zwierząt doświadczalnych jest praca Dainowa. Autor ten podawał świnkom morskim ogromne dawki kalcyferolu, a następnie poddawał je dzia-

łaniu aerosolu z histaminy lub acetylocholino. Stwierdził on znaczne zmniejszenie się objawów dychawiczych u zwierząt, którym podawano kalcyferol.

C z ę ś ć d o ś w i a d c z a l n a.

W badaniach naszych, przeprowadzonych na ogółem 56 świnkach morskich zamierzaliśmy przebadać działanie przeciwalergiczne kalcyferolu na poszczególne narządy. W związku z tym przeprowadziliśmy następujące doświadczenia:

1. Wpływ kalcyferolu na przebieg wstrząsu anafilaktycznego,
2. Wpływ kalcyferolu na przebieg wstrząsu w wyosobnionym rogu macicy,
3. Wpływ kalcyferolu na przebieg wstrząsu w wyosobnionym jelicie,
4. Wpływ kalcyferolu na przebieg wstrząsu w wyosobnionych płucach,
5. Wpływ kalcyferolu na wstrząs anafilaktyczny u narkotyzowanych zwierząt z jednoczesną rejestracją oddychania i ciśnienia krwi.

Jak wspominaliśmy wyżej, mechanizm wstrząsu anafilaktycznego i histaminowego wykazuje szereg różnic. Różnice te mogłyby ewentualnie dotyczyć też i odmiennego w obu wypadkach oddziaływania na kalcyferol. Celem wyjaśnienia tej sprawy równoległe do doświadczeń na zwierzętach uczulonych przebadaliśmy wpływ kalcyferolu na stany pohistaminowe.

Wagotonia towarzysząca wstrząsowi anafilaktycznemu i przewaga układu cholinergicznego u osobników skłonnych do zapadania na schorzenia alergiczne od dawna nasuwała wielu autorom myśl, że pewną rolę w ogólnym obrazie wstrząsu odgrywa acetylocholina. W trzeciej, analogicznej do poprzednich serii naszych doświadczeń zamierzaliśmy wykazać wpływ kalcyferolu na stany poacetylocholiny.

Stosowany przez nas kalcyferol pochodził z ZZPF Nr 2. Podawaliśmy go w roztworze olejowym w iniekcjach podskórnych. Wstrzykiwaliśmy w dwu seriach dawek: 20 mg/kg (dawki małe), na kurację, podzielone na 6 części. Wstrzykiwaliśmy po

1/6 w ciągu 35 dni oraz w dawce 60 mg na zwierzę bez względu na jego wagę. Preparat wstrzykiwaliśmy podskórnie co 5 dni czterokrotnie po 15 mg (dawki duże).

O ile po dawkach małych stwierdzaliśmy przeciętny przyrost wagi o 50% w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi, to po dawkach dużych obserwowaliśmy spadek wagi wynoszący do 20% poziomu wyjściowego.

1. Wpływ kalcyferolu na stany anafilaktyczne.

Wszystkie zwierzęta na 15 dni przed doświadczeniem uczulaliśmy przez podskórne wstrzyknięcie 0,1 ml unieczynionej, normalnej surowicy końskiej (Abderhalden).

Wpływ na wstrząs anafilaktyczny ogólny.

Wstrząs wywoływaliśmy przez injekcję dosercową 0,1 ml surowicy swoistej. Otrzymane wyniki przedstawiamy poniżej:

	Wyraźny wstrząs	Bardzo silny wstrząs	śmierć
Kontrolne	1	4	2
Małe dawki D ₂	2		1
Duże dawki D ₂		1	1

Otrzymane wyniki nie wykazują większego wpływu kalcyferolu na przebieg wstrząsu anafilaktycznego.

Wpływ na wstrząs anafilaktyczny wyosobnionej macicy dziewiczej świnki morskiej.

Świnki kontrolne i leczone kalcyferolem zabijano przez dekapitację. Skurcze rogu macicy zarejestrowano na okopconym walcu. Wstrząs wywoływano przez dodanie 0,5 ml surowicy swoistej do 80 ml kąpieli w której zanurzane były narządy.

Wielkość skurczu była u obu grup zwierząt jednakowa. Również i duże dawki kalcyferolu nie osłabiały reakcji na surowicę (Ryc. 1).

Wpływ na wyosobnione jelito cienkie świnki morskiej.

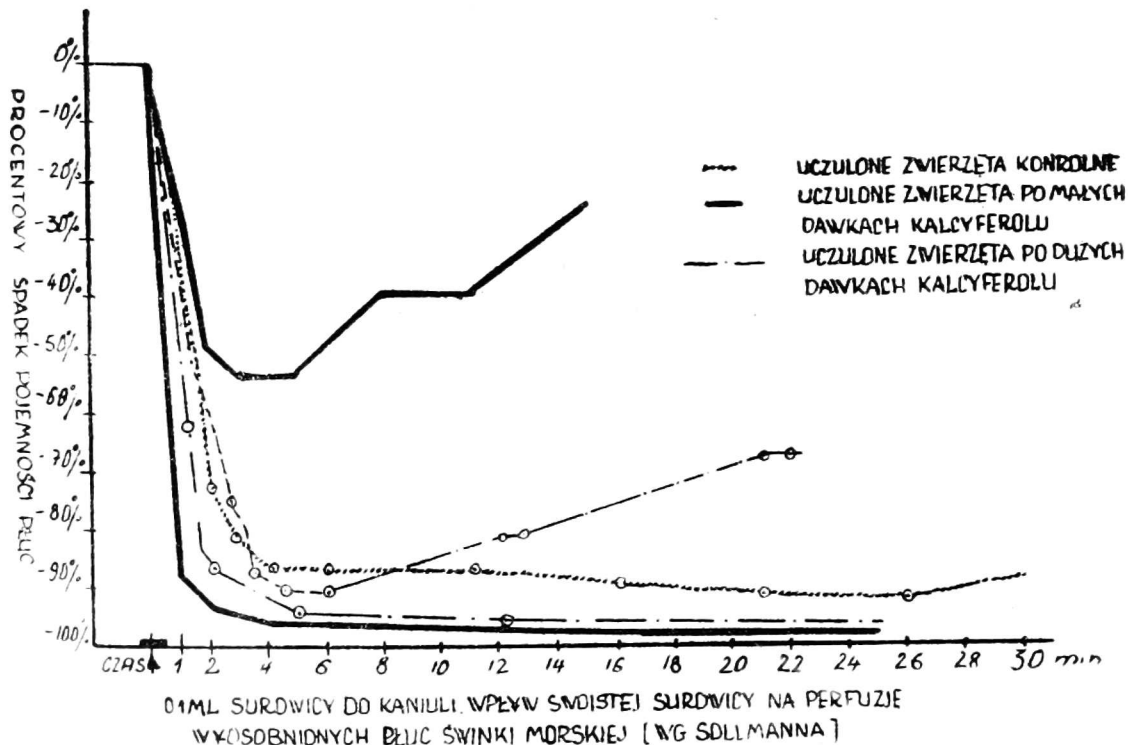
W sposób analogiczny do doświadczeń z rogiem macicy określaliśmy wielkość skurczu jelita cienkiego zwierząt kontrolnych i leczonych małymi względnie dużymi dawkami kalcyferolu.

Również i w tym wypadku nie udało się nam wykazać, aby kalcyferol wpływał w jakikolwiek sposób na wielkość skurczu jelit zwierząt uczulonych.

Wpływ na wyosobnione płuca świnki morskiej.

Badanie przeprowadziliśmy stosując metodę Sollmanna (1928). Metoda ta polega na perfuzji drzewa oskrzelowego ciepłym płynem Ringera. Miarą skurczu narządu jest zmniejszenie się liczby kropeł wypływających z nakłutej powierzchni płuc na skutek wstrzyknięcia do kaniuli tchawiczej 0,1 ml surowicy swoistej.

Otrzymane wyniki przedstawia poniższy wykres.



Ryc. 2

Zmniejszenie przepływu w 2 minuty po wstrzyknięciu wynosi 0—60%, a po 4 minutach przepływ spadł o 90% stanu

przed wstrzyknięciem. Stan ten utrzymywał się przez czas dłuższy.

Jak widać skurcz oskrzeli jest jednakowo silny u zwierząt kontrolnych oraz leczonych małemi względnie dużemi dawkami kalcyferolu.

Jako dodatkową kontrolę w ramach każdego z powyższych doświadczeń wykonaliśmy określenie wpływu surowicy na narządy zwierząt nie uczulonych. Próby te wypadły negatywnie.

Wpływ na oddychanie i ciśnienie krwi.

Świnki narkotyzowaliśmy uretanem w dawce 1,5 g/kg. Oddychanie rejestrowaliśmy bębenkiem Mareya połączonym z kaniulą tracheotomijną, a ciśnienie manometrem Ludwiga w tętnicy szyjnej. Nerw błędny przecinaliśmy po stronie kaniuli tętniczej. Surowicę wstrzykiwaliśmy do żyły szyjnej.

U zwierząt kontrolnych dawka 0,1 ml surowicy wywoływała jedynie minimalny spadek ciśnienia. Po dawce 0,5 ml następowało znaczne zmniejszenie wychyleń oddechowych przy jednocześnie b. silnych ruchach oddechowych klatki piersiowej (skurcz oskrzeli) oraz długotrwały spadek ciśnienia krwi z 75 na 45 mmHg. Oddychanie powracało do stanu wyjściowego po 1½ minucie. Następowe wstrzyknięcie 1 ml surowicy powoduje długotrwały skurcz oskrzeli i dalszy spadek ciśnienia krwi. Występują przytem drgawki. (Ryc. 3).

Te same objawy u zwierząt leczonych małemi dawkami kalcyferolu mają mniejsze nasilenie i są bardziej krótkotrwałe. Po dużych dawkach kalcyferolu spadki ciśnienia i skurcz oskrzeli są słabiej zaznaczone. (Ryc. 4).

2. WPŁYW KALCYFEROLU NA STANY POHISTAMINOWE.

Wpływ na ogólny wstrząs pohistaminowy.

Świnkom morskim wstrzykiwaliśmy do serca roztwór histaminy w dawkach 1 mg/kg*). Wyniki przedstawiają się następująco:

*)Dawkę 1 mg/kg przyjęliśmy ze względu na to, że jest to bezwzględna dawka śmiertelna dla świnek morskich.

Z kontrolnych świnek morskich 2 padły, 1 wykazywała bardzo silne objawy wstrząsu, 3 świnki, które otrzymywały kalcyferol w małych dawkach padły w typowym wstrząsie histaminowych, 2 świnki po leczeniu większymi dawkami również padły.

Obserwując przebieg wstrząsu po histaminowego i zestawiając powyższe wyniki wnioskujemy, że kalcyferol nie wpływa na tolerancję świnek morskich wobec histaminy.

Wpływ na skurcz wyosobnionego rogu macicy i jelita cienkiego.

Po zdekapitowaniu dziewiczej świnki morskiej róg macicy, a potem część jelita cienkiego umieszczaliśmy w kąpeli o pojemności 80 ml. Skurcz powstający pod wpływem dodania do kąpeli 50 gamma histaminy rejestrowaliśmy na okopconym walcu.

W porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi, u zwierząt po leczeniu kalcyferolem w małych i dużych dawkach wielkość skurczu macicy i jelita nie uległa zmianie.

Wpływ na skurcz oskrzeli wyosobnionych płuc.

Stosowaliśmy, jak w doświadczeniach z surowicą metodę perfuzji wg Sollmanna.

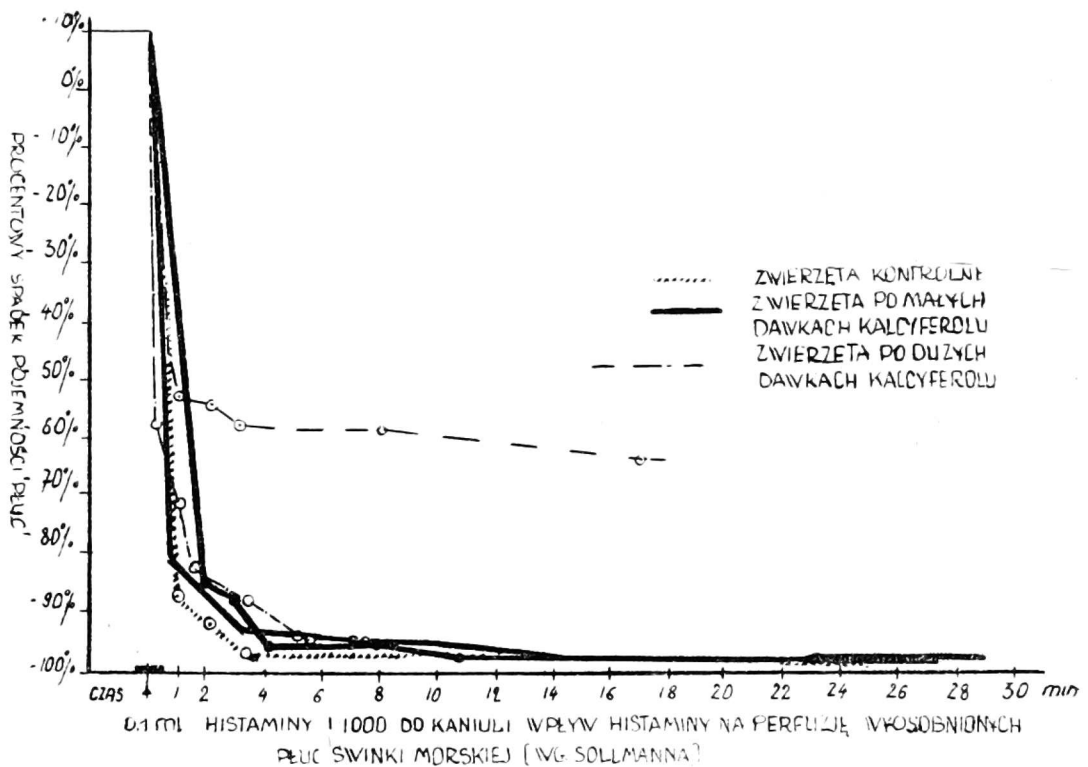
Po dodaniu do kaniuli 0,1 ml histaminy w roztworze 1:1000 obserwowaliśmy zmniejszenie pojemności płuc w równym stopniu u zwierząt kontrolnych jak i u zwierząt leczonych małymi dawkami kalcyferolu. Po dużych dawkach kalcyferolu płuco jednej świnki wykazało mniejszy spadek objętości.

Doświadczenia te zestawione są w wykresie (Ryc. Nr 5).

Po 2 minutach spadek objętości wynosił przeciętnie 87%, po 4 minutach 93%. Skurcz utrzymywał się przez czas dłuższy.

Wpływ na ciśnienie krwi i oddychanie.

Narkoza i przygotowanie zwierząt jak w doświadczeniach z surowicą.



Ryc. 5

Podanie 0,1 ml histaminy 1 : 1000 do żyły szyjnej powodowało u zwierząt kontrolnych wzrost ciśnienia, przechodzący w długotrwały spadek. U zwierząt po leczeniu kalcyferolem wzrost ciśnienia był mniejszy, spadku następowanego nie było. Oddech ulegał porażeniu w równym stopniu u zwierząt kontrolnych jak i u leczonych kalcyferolem.

3. WPŁYW KALCYFEROLU NA STANY POACETYLOCHOLINOWE.

Wpływ na ogólny stan poacetylocholinowy

Świnkom morskim kontrolnym i leczonym małymi dawkami kalcyferolu wprowadziliśmy dosercowo acetylocholinę w dawce 1 mg/kg. Obie grupy zwierząt wykazywały jednakowe objawy wstrząsu. Nasilenie tych objawów było znaczne i utrzymywały się przez czas dłuższy.

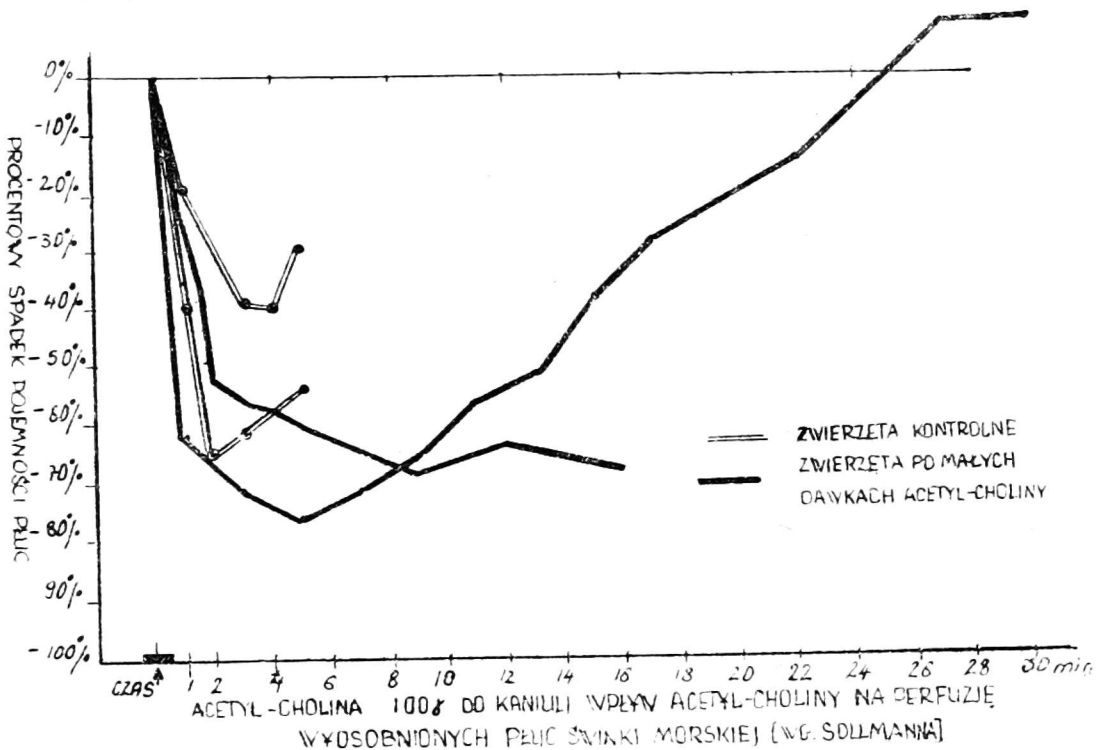
Wpływ na skurcz wyosobnionego rogu
macicy i jelita cienkiego.

Do 80 ml kąpieli, w której znajdował się narząd dodawaliśmy 50 gamma acetylocholiny. Podobnie jak w doświadcze-

niach z histaminą i surowicą swoistą nie stwierdziliśmy różnic w wielkości skurczu macicy i jelita cienkiego u zwierząt kontrolnych i leczonych kalcyferolem.

Wpływ na skurcz oskrzeli wyosobnionych płuc.

Dodanie do kaniuli 100 gamma acetylocholinę powodowało skurcz oskrzeli o prawie jednakowym nasileniu u zwierząt po leczeniu kalcyferolem jak i u zwierząt kontrolnych, co wykazuje poniższy wykres:



Ryc. 7

Wpływ na ciśnienie krwi i oddychanie.

Przygotowanie zwierząt jak w doświadczeniach poprzednich.

Podanie do żyły szyjnej acetylocholinę w ilości 0,05 mg/kg powodowało tak u zwierząt kontrolnych jak i u leczonych kalcyferolem jednakowo silne spadki ciśnienia krwi i zmniejszenie się wychyleń oddechowych.

Streszczenie.

Punktem wyjścia przeprowadzonych badań był zamiar doświadczalnego wykazania wpływu kalcyferolu na stany anafilaktyczne, pohistaminowe i poacetylocholinowe.

Kalcyferol podawano podskórnie w roztworze olejowym w dawkach 20 mg/kg i w dawkach 60 mg.

Kalcyferol nie powodował osłabienia przebiegu wstrząsu anafilaktycznego u zwierząt uczulonych. Również skurcz wyosobnionego rogu macicy, jelita cienkiego i płuc świnki morskiej pozostawał bez zmian.

Spadki ciśnienia krwi i osłabienie oddychania było u zwierząt leczonych kalcyferolem nieco mniejsze niż u zwierząt kontrolnych.

Analogiczne doświadczenia przeprowadzono na grupach zwierząt, którym zamiast surowicy swoistej wstrzykiwano odpowiednio histaminę oraz acetylocholinę. Reakcja zwierząt we wszystkich tych doświadczeniach nie odbiegała od reakcji zwierząt kontrolnych.

W n i o s k i.

Wyniki naszych doświadczeń wskazują, że nawet bardzo duże dawki kalcyferolu nie zmniejszają reakcji całego ustroju i narządów izolowanych na surowicę swoistą, histaminę i acetylocholinę. Duże dawki podawane przez nas powodowały objawy toksyczne przebiegające pod postacią utraty wagi ciała.

Wszelka ostateczna wypowiedź o wartości kalcyferolu w sprawach alergicznych jest na podstawie dotychczasowych prac niemożliwa. Nasze własne badania zdają się wskazywać, że działanie to jest co najmniej wątpliwe.

U w a g i k o ń c o w e.

Wydaje się, że korzystne wyniki kliniczne obserwowane przez różnych autorów w sprawach alergicznych i reumatycznych były spowodowane pośrednim i nie swoistym działaniem kalcyferolu. Podobną opinię wypowiada Vaughan.

Wysunięta swego czasu teza, że działanie kalcyferolu w sprawach alergicznych jest wynikiem mobilizacji wapnia, traci coraz to na znaczeniu (Oszast, Skarzyński, Kieta).

Rola biologiczna kalcyferolu dopuszcza myśl, że w wypadku zmniejszenia jego dowozu przychodzi poza objawami

charakterystycznymi dla awitaminozy do zaburzeń ułatwiających uczulanie się organizmu. Gdyby tak było w istocie, wówczas stanom awitaminozy wzgl. hypowitaminozy, towarzyszyłaby zwiększona gotowość do uczulania się. Badania w tym kierunku są przez nas prowadzone. Za takim ujęciem mechanizmu działania kalcyferolu przemawia pośrednio fakt, że nieledwie każda z witamin podana w większych dawkach poprawia stan chorych na schorzenia alergiczne oraz zmniejsza nasilenie objawów anafilaktycznych u zwierząt.

I tak Balagowski, Barodatow i Budnickaja stwierdzają przeciwhistaminowe działanie Citralu — ciała blisko spokrewnionego z witaminą A.

Lovino i Lecco opisują przeciwhistaminowe działanie witamin B₁ i B₂.

Autorzy radzieccy opisują korzystne działanie amidu kwasu nikotynowego w dychawicy oskrzelowej. (Małkin, Szmiba-tenko, Łusznikowa).

Hofmann oraz Holmes i Alexander stwierdzają korzystny wpływ witaminy C na wstrząs anafilaktyczny u zwierząt oraz na objawy alergiczne u ludzi.

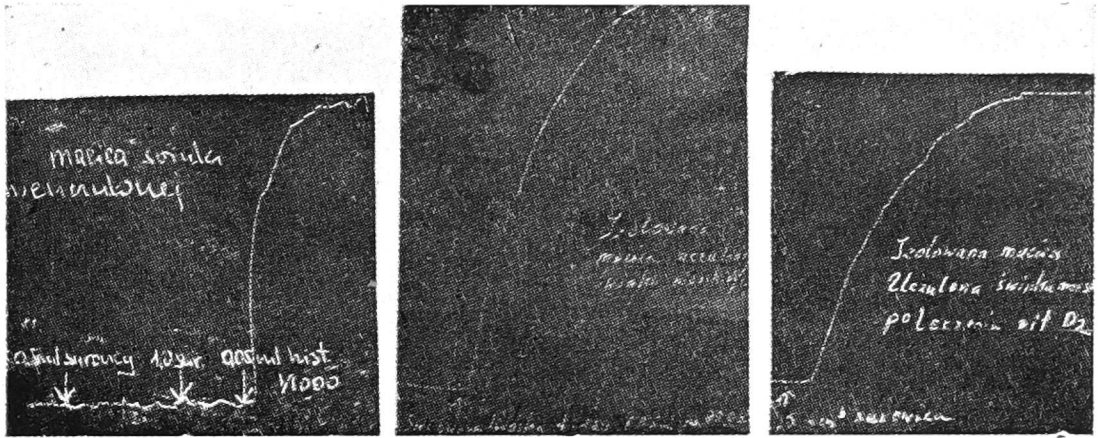
Podnoszone jest działanie przeciwanafilaktyczne hesperydyny i rutyny (Wilson).

Spośród endogennych ciał ustrojowych przeciwalergicznie oddziałują hormony płciowe (Introzzi) i żółć (Venulet i Ka-
dłubowski).

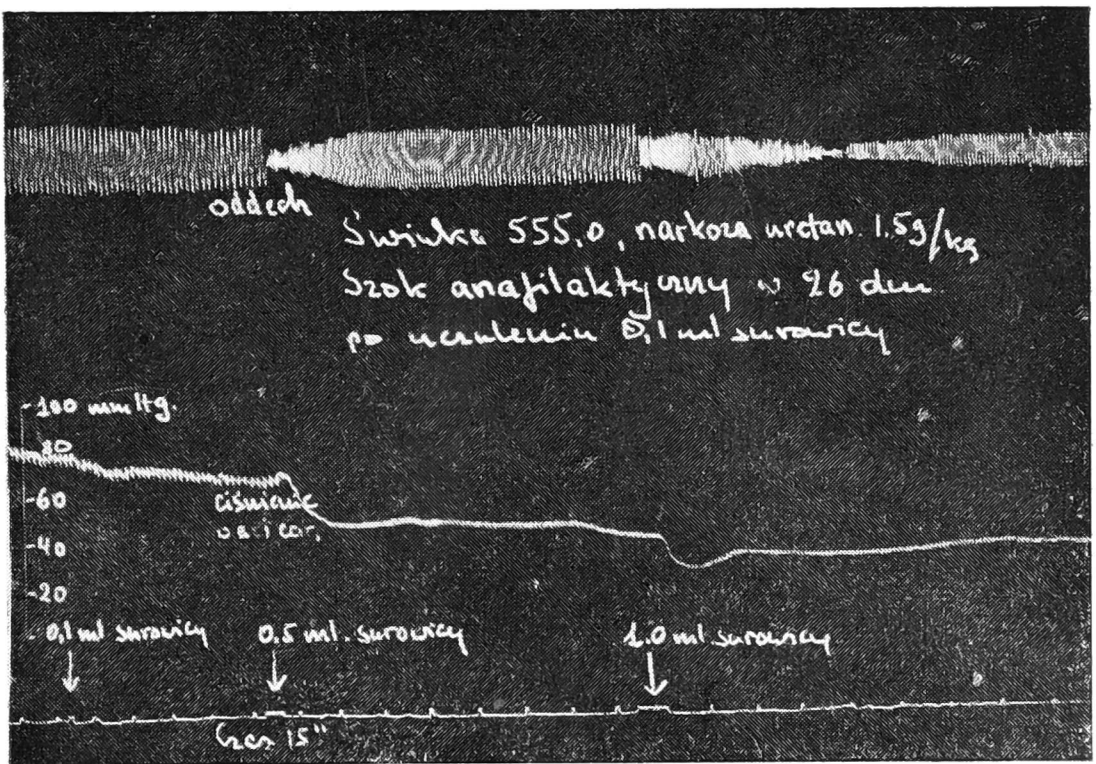
PIŚMIENNICTWO.

1. A b d e r h a l d e n E. Hdb. der biolog. Arbeitsmeth. Abt. XII T. 2. zeszyt 1.
2. B a l a g o w s k i S. D., B r o d a t o w V. V., B u d n i c k a j a E. V., Chem. abstr. 41, 5176, 1947.
3. B u d n i c k a j a E. V. et al. Sowjetskaja Medicina Nr 8. 1949.
4. C a s t i l l o J. C. J. of. Pharm. a Exp. Ther. 94/4 1948.
5. D a i n o w J. Dermatologica 94, 130, 1947.
6. D a v i s o n F. R. Hbdk. of. Mat. Med., Toxicol. a. Pharmacology Mosby ed. St. Louis 1949.
7. E g e r S. A., S t o n e J. E., Pensylv. Med. J. 47, 371, 1944 wg JAMA.
8. F e i n b e r g S. M. JAMA. 132, 703, 1946.

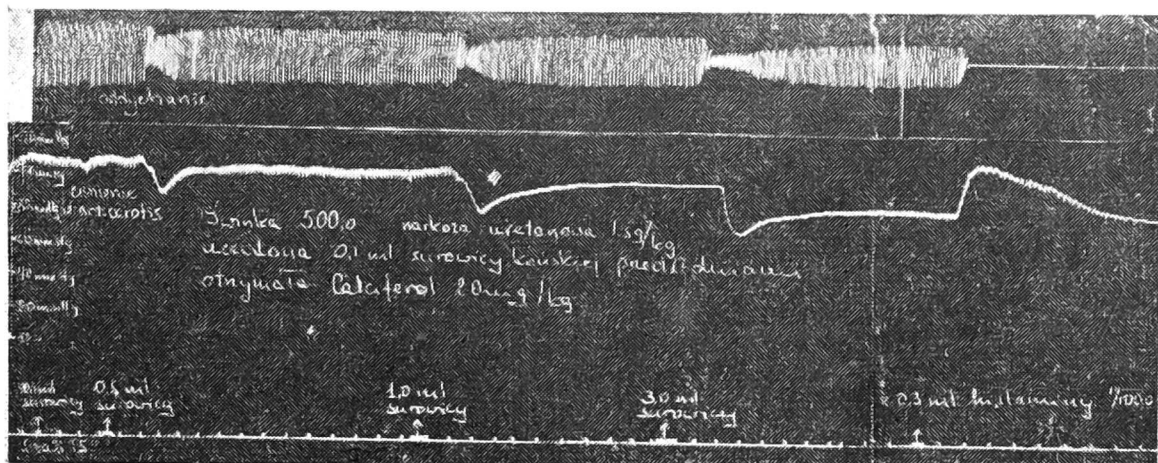
Ryc. 1



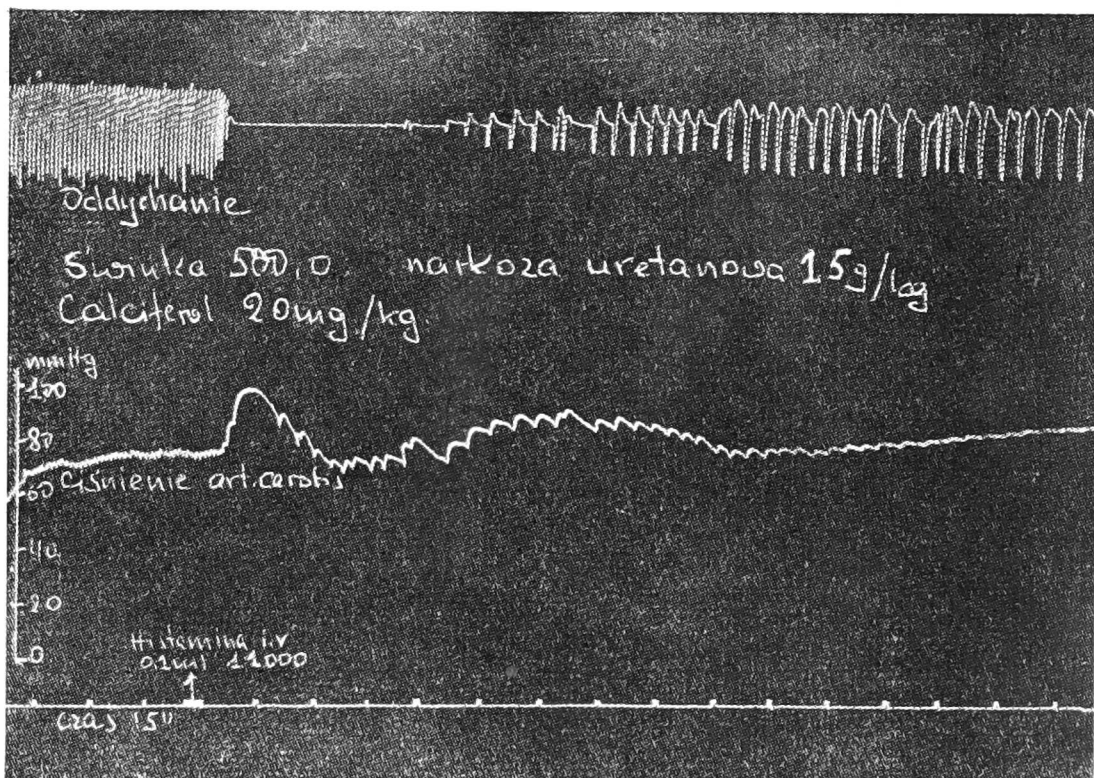
Ryc. 3



Ryc. 4



Ryc. 6



9. Hathaway M. L., Rappaport et al. *J. Allergy* 8, 1, 1936.
10. Hofmann H. *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.* 199, 664, 1942.
11. Holmes H. N., Alexander W. *Science* 96, 497, 1942.
12. Introzzi P., Larizza P. *Il Policlinico* 54/1-2 1947 wg. *Exc. med.*
13. Venulet F. i Kadłubowski R. *Pol. Tyg. Lek.* Nr 6. 1950.
14. Lovino M., Lecco V. *Acta Vitaminologica* 2/6 1948.
15. Małkin Z. I., Szmiбатенko S. I., Łusznikowa Ł. A. *Terapiewticeskij Archiw.* Nr 6, str. 62, 1948.
16. Miklaszewski W. Referat na Zjazd Int. Polskich.
17. Oszast, Skarżyński, Kieta, *Pol. Tyg. Lek.*
18. Rense J. J. *Arch. Int. de Pharmac. et de Therapie* 78/2 1940.
19. Sollmann T., Oettingen F. V. *Proc. Soc. Exp. Biolog. a. Med.* 25. 692, 1928.
20. Solmann T. A. *Manual of Pharmacology*, Saunders, Philad. 1948.
21. Toomey J., Kriete F. J. *Pediatr.* 24, 290, 1944 wg. *Jama.*
22. Vaughan W. T. *Practice of Allergy*, Mosby Co. St. Louis 1948.
23. Wilson et al. *J. Pharmac.* 89, 120, 1947.

J. VENULET and Z. ŁAZOWSKI

RESEARCHES ON THE INFLUENCE OF CALCIFEROL ON THE ANAPHYLACTIC, POST HISTAMINE AND POST ACETYLCHOLINE STATES.

To prove the influence of calciferol on anaphylactic, post histaminic and post acetylcholine states was the starting point of researches being made.

Calciferol was administrated subcutaneously in the oil solution by portions of 20 mg/kg and 60 mg per animal.

Calciferol didn't cause any diminution of the anaphylactic shock. Also the contraction of isolated uterus, small intestine and lung of the guinea pig didn't show any changes.

By the treated animals the fall of blood pressure and diminution of respiration was lower than by control animals.

Similiar experiments were made on animals whom instead of serum, histamine and acetylcholine was injected respectively. The reaction of the animals in all those researches didn't show any changes as to compare with the control animals.