

BADANIA NAD ROLĄ I UDZIAŁEM HISTAMINY W PATOGENEZIE KOLIENTEROTOKSEMII PROSIĄT

CZEŚĆ III. BADANIA NAD WPŁYWEM PAŁECZEK OKRĘŻNICY I ICH FRAKCJI LIPOWIELOCUKROWEJ (FLW) NA POZIOM HISTAMINY WE KRWI PROSIĄT PO PRÓBIE BLOKOWANIA PRZYSADKI I PO ADRENALEKTOMII

TADEUSZ JANIĄK, LEOPOLD UGORSKI, ANDRZEJ ZALESIŃSKI

Zakład Diagnostyki Chorób Wewnętrznych WSR — Wrocław

Kierownik: doc. dr T. Janiak

Katedra Chorób Wewnętrznych WSR — Wrocław

Kierownik: prof. dr B. Gancarz

Zakład Higieny Weterynaryjnej we Wrocławiu

Kierownik: dr L. Ugorski

Podstawę do obecnych rozważań nad biodynamizmem histaminy stanowiły prace Ludvigsen'a (1957, 1961), Schultze'a (1961), Mathias'a (1957, 1961), Englert'a (1959, 1960), Karga (1955) a szczególnie pozycja Verge'a, Gore't'a i Paraff'a (1956) pt. Zespół Reilly — Selye u świń.

Wg cytowanych autorów, świnia posiada najbardziej labilny układ przysadka-nadnercze usposabiający ją do schorzeń, których wspólną cechą jest wzmożona przepuszczalność naczyń. Schorzenia te przebiegają pod postacią wstrząsu. Zaliczają się do nich: choroba obrzękowa, zapalenie żołądka i jelit, rozmiękanie szarej substancji rdzenia, śmierć sercowa i inne.

Verge i wsp. uważają chorobę obrzękową za nieswoistą reakcję makroorganizmu na podrażnienie systemu wegetatywnego układu trzewnego dającą kliniczny obraz zespołu podrażnienia Reilly'ego. Długotrwałe drażnienie nerwów układu wegetatywnego przez różnego rodzaju stressory może doprowadzić do stadium wyczerpania wg Selyego.

Okresem szczególnie predysponującym do wystąpienia choroby ma być moment odsadzania prosiąt łączący się z reguły ze zmianą warunków bytowych.

Przyjmując równocześnie pogląd Ludvigsen'a sugerujący, że wieloletnia selekcja świń w kierunku ras szybko dojrzewających doprowadziły do zachwiania równowagi hormonalnej między STH i ACTH, można zatem szeroko podnoszoną labilność układu przysadka-nadnercze, uznać za jedno z pierwotnych podłoż kolienterotoksemii prosiąt.

Z piśmiennictwa ostatnich lat — Kapeller — Adler (1956), Lindell i Schayer (1958), Dale (1956) — wiadomo, że warunkiem normalnego metabolizmu histaminy jest prawidłowa funkcja nadnerczy, a potwierdzają ten fakt badania wykazujące gwałtowne i głębokie znikanie histaminy z tkanek i narządów badanych w tym kierunku zwierząt doświadczalnych. Znikanie histaminy może być zahamowane podaniem w krótkim czasie po adrenalektomii kortizonu zwierzęciu operowanemu. Kortizon restytuuje tylko te ilości enzymu, które nie zostały jeszcze przesunięte do dróg limfatycznych (Kapeller — Adler). DOCA takiego efektu nie wywiera.

W upośledzeniu degradacji histaminy można zatem dopatrywać się czynnika zaostrzającego proces chorobowy. Podobne stanowisko zajmuje także Heilmayer, wg którego spadek poziomu glukokortykoidów zmniejsza odporność na toksyny bakteryjne. Również Venulet uważa, że niewydolność nadnerczy zwiększa wrażliwość na zakażenie.

W oparciu o przytoczone dane, mówiące o roli nadnerczy w metabolizmie histaminy postanowiono prześledzić wpływ doustnej podaży pałeczek okrężnicy oraz ich frakcji lipowielocukrowej (FLW) na poziom histaminy we krwi prosiąt z blokadą przysadki i następnie u prosiąt adrenalektomizowanych.

BADANIA WŁASNE

Badania przeprowadzono na 5 prosiątach w wieku od 7 do 9 tygodnia życia.

Sposób przygotowania zawiesiny oraz frakcji lipowielocukrowej z serotypu *E. coli* 0L38 : K81(B) identyczny jak w doniesieniu II.

Histaminę oznaczono metodą Code'a na wyizolowanym jelicie świnki morskiej.

Blokadę czynności hormonalnej przysadki wykonano przy użyciu hydrokortizonu i dexamethasonu w oparciu o metodykę Zakładu Endokrynologii Klinicznej AM w Warszawie.

Skuteczność blokady kontrolowano oznaczeniem 17 KS w moczu dobowym metodą Zimmermana. Poszczególne prosięta w czasie trwania eksperymentu były ważone.

Łącznie na wymienionych uprzednio 5 prosiętach wykonano 9 doświadczeń.

Adrenalektomię u prosiąt przeprowadzono w Klinice Chirurgicznej Wydz. Wet. WSR we Wrocławiu. *)

Sposób, przebieg oraz wyniki poszczególnych faz badań zostały zebrane w czterech tabelach.

Tabela 1

Poziom histaminy we krwi pełnej po doustnym podaniu zawiesiny *E. coli* przy próbie zablokowania przysadki

Czas i ilość podawanych sterydów	Rodzaj sterydu	Dzień, godzina lub minuta badania	Ilość 17 KS w moczu dobowym	Poziom histaminy w gamma %	Waga prosięcia w kg.
17 dni 1 × dz. po 25 miligramów = 425 mg	Hydrokortizon dom.	Przed rozpoczęciem doświadczenia	0,6(1,0) miligramów	81(132)	7(7,3)
		13 dzień			7,3(7,8)
5 dni (18–22)	Dexametasonum	17			7,7(9,0)
3 × dz. po 1 mg.	doustnie	21			8,8(10,3)
3 × dz. po 2 mg.		24			8,2(10,0)
3 × dz. po 3 mg. przez 3 dni = 36 mg.		26	7,6(3,0)		
3 dni przerwa (od 23 – 25)		27 (podano zaw. <i>E. coli</i>) przed podaniem		100(158)	
		60 minut		100(142)	
		240 minut		77(128)	
		28			7,5(9,2)
		32			6,5(8,2)

U w a g a: Cyfry w nawiasach oznaczają dane dotyczące drugiego prosięcia. Na obydwu prosiętach po 4-tygodniowej przerwie powtórzono to samo doświadczenie podając 20 mg. Dexamethasonu w ciągu 4 dni. W okresie między doświadczeniami waga prosiąt wzrosła do 9 i 12,5 kg. Zawiesinę *E. coli* (doustnie) podano w 3 dniu po zaprzestaniu podawania sterydów. Poza spadkiem poziomu histaminy w 2 godz. po podaniu sterydów nie wystąpiły żadne kliniczne objawy chorobowe. Poziom histaminy obniżył się z 41 na 29,2 gamma% i z 63 na 37,8 gamma%. Wykonany w następnym dniu test Thorna dał wynik ujemny. U prosięcia nr 1 po tygodniowej przerwie usunięto operacyjnie nadnercza — padło ono w następnym dniu wśród objawów braku apetytu i ogólnej apatii. Pozostałe prosię przeznaczone do innego typu doświadczenia — tab. 3.

W wyniku przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono.

Ad tab. 1. Hormonalna blokada przysadki u prosiąt jest praktycznie nieosiągalna. W przypadku naszym zablokowanie nie udało się mimo stosowanie dwukrotnie większych dawek dexamethasonu od podawanych przez Tetera) oraz 425 mg podanego domięśniowo hydrokortizonu.

*) Panu adiunktowi dr Bogdanowi Osińskiemu za wykonanie adrenalektomii u prosiąt składamy serdeczne podziękowanie.

Wyrazem utrzymującej się hormonalnej aktywności nadnerczy mimo prób blokowania były także nie istotne wahania w poziomie histaminy. Jedynym efektem „blokady” był postępujący spadek wagi ciała.

Ad tab. 2. Samo usunięcie nadnerczy powoduje gwałtowny krótkotrwały wzrost poziomu histaminy. Począwszy od 2 dnia po zabiegu ilość jej stopniowo spada, osiągając już w 3—4 dniu wartości niższe od danych wyjściowych.

Tabela 2

Poziom histaminy we krwi pełnej po doustnym podaniu zawiesiny *E. coli* i po adrenalektomii

Dzień badania po zabiegu	Ilość 17 KS w moczu dobowym	Poziom histaminy w gamma %	Waga prosięcia w kg
Przed zabiegiem	1,78(3,67) miligramów	21,0(126,0)	8,5(7,8)
1		100,0(172,0)	8,0(7,4)
2		40,0(67,5)	
3	0,026(0,012)	5,6(24,0)	
4		8,3(18,2)	
5 — podano zaw. <i>E. coli</i> przed podaniem		8,7(20,0)	7,7(6,1)
po 3 godz.		158,0(116,0)	
po 8 godz.		96,0(102,0)	
6		65,5(67,0)	
7		66,5(42,0)	
8		50,0(39,0)	

U w a g a: Cyfry w nawiasach oznaczają dane dotyczące drugiego prosięcia. Przez cały czas doświadczenia podawano domięśniowo po 1 amp. DOCA dziennie. Obydwa prosięta po 3-dniowej przerwie użyto do innego typu doświadczenia — patrz tab. 4.

Doustne podanie prosięciu zawiesiny pałeczek okrężnicy w płynie fizjologicznym wyzwoliło ponowny wzrost poziomu histaminy we krwi, którego szczyt przypadł już w 3 godz. po zaaplikowaniu. W czasie następnych kilku dni poziom histaminy utrzymywał się w granicach normy. U prosiąt z tej serii badań poza spadkiem wagi ciała i utratą apetytu nie obserwowano żadnych innych objawów chorobowych.

Ad tab. 3. Dożylne wprowadzenie prosiętom przed adrenalektomią zawiesiny bakteryjnej w płynie fizjologicznym (10 ml) spowodowało spadek stężenia histaminy o około 50%, przy czym zjawisku temu nie towarzyszyły żadne objawy kliniczne. Dopiero podanie 30 ml w.w. zawiesiny spowodowało ciężki wstrząs, który w 2 godz. później doprowadził do śmierci. Wybitny spadek poziomu histaminy bezpośrednio przed śmiercią świadczyć może o jej udziale w wystąpieniu wstrząsu. Ponieważ

Tabela 3

Poziom histaminy we krwi pełnej po dożylnym podaniu zawiesiny *E. coli* przepłukanej płynem fizjologicznym

Ilość zawiesiny	Czas badania	Poziom histaminy w gamma %
30 ml (10 ml)	Przed podaniem zawiesiny	100,0 (62,5)
	Po 10 min.	88,5
	60 min.	99,5
	150 min.	11,2
	300 min.	padł (33,7) nie wystąpiły żadne objawy chorobowe

U w a g a: Cyfry w nawiasach oznaczają dane dotyczące drugiego prosięcia.

płyn fizjologiczny jako środowisko, w którym zawieszono były bakterie nie zawierał toksyn, dlatego też wystąpienie wstrząsu z dużym opóźnieniem należy tłumaczyć czasem, jaki potrzebny był do nagromadzenia się we krwi optymalnej ilości endotoksyn.

Tabela 3a

Poziom histaminy we krwi pełnej po dożylnym podaniu zawiesiny *E. coli* przepłukanej płynem fizjologicznym i po adrenalektomii (do doświadczenia po dwutygodniowej przerwie użyto prosięcia, który przeżył wyżej przedstawione doświadczenia)

Ilość zawiesiny	Czas badania	Poziom histaminy gamma %
10 ml, (podano w 3 dniu po zabiegu)	Przed zabiegiem	80,0
	Przed podaniem zawiesiny	60,0
	po 60 min.	32,0
	po 180 min.	23,0
	po 10 godz.	17,0
	po 24 godz.	29,0

U w a g a: Bezpośrednio po podaniu zawiesiny wystąpiły wymioty i ślinotok

Doświadczenie przedstawione w tab. 3a (jak podano wyżej) przeprowadzone zostało na prosięciu, któremu uprzednio podano 10 ml zawiesiny *E. coli* przepłukanej płynem fizjologicznym.

Poziom histaminy w godzinę od podania zawiesiny obniżył się o ponad 50%, a więc zachował się podobnie jak u prosięcia przed adrenalektomią. Drobne wahania w późniejszych godzinach nie wpłynęły zupełnie na stan ogólny.

Ad tab. 4. Dożylne podanie 5 ml frakcji lipowielocukrowej bardzo szybko spowodowało zejście śmiertelne. Towarzyszył temu gwałtowny i wybitny spadek poziomu histaminy we krwi pełnej.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Na XVIII Światowym Kongresie Weterynaryjnym w sierpniu br. w Paryżu Sofrenovic doniósł, że etiologia choroby obrzękowej, mimo bezspornej roli pałeczki *E. coli* w jej rozwoju, jest nadal nieznaną. Schorzenia tego, stosując bakterie doustnie nie udało się dotychczas eksperymentalnie wywołać. Nie powiodły się również i nasze próby, jakkolwiek udało nam się wykazać, że usunięcie nadnerczy znacznie zwiększa wrażliwość na toksyny bakteryjne. Obydwa prosięta (tab. 4) padły niemal bezpośrednio po dożylnej podaży 5 ml frakcji lipowielocukrowej, gdy inne z zachowanymi nadnerczami zniosły tę ilość bezobjawowo.

Tabela 4

Poziom histaminy we krwi pełnej po dożylnym podaniu frakcji lipowielocukrowej i po adenalektomii. Do doświadczenia użyto prosię z tabeli nr 2 (doustne podanie zawiesiny *E. coli* po adenalektomii)

Ilość frakcji	Poziom histaminy w gamma %
5 ml (5 ml) Przed podaniem frakcji	109,0 (87,0)
po 15 min.	7,0 (9,0)
Padły po dalszych 15 min. wśród objawów ciężkiego wstrząsu	

Analizując wyniki pierwszego doświadczenia (tab. 1) dochodzi się do wniosku, że sprawa zablokowania przysadki u prosiąt nie jest bynajmniej prosta. Mimo że postępujące wychudzenie jest jednym z objawów niewydolności nadnerczy, to jednak w naszym konkretnym przypadku należy je raczej odnieść do ubocznych wpływów sterydów, ponieważ test kontrolny (dobowe wydalanie 17 KS) wypadł ujemnie.

W odniesieniu do drugiego i trzeciego doświadczenia (tab. 2 i 3) gwałtowny wzrost poziomu histaminy dobrze odzwierciedla deficyt histaminazy po adenalektomii. Późniejszy spadek jej poziomu można by tłumaczyć przejęciem funkcji histaminazy przez metylotransferazę.

Jest rzeczą znamioną, że spadek poziomu histaminy i objawy wstrząsu u prosięcia po dożylnym podaniu 30 ml zawiesiny pałeczek okrężni-

cy w płynie fizjologicznym wystąpiły dopiero po 2,5 godz., a więc w czasie, gdy produkcja endotoksyn osiągnęła pewne optimum.

Doświadczenie IV (tab. 4) wydaje się wyraźnie wskazywać na rolę wypadnięcia czynności hormonalnej nadnerczy w patogenezie choroby obrzękowej. Szczególnie należy podkreślić, że każdy ciężki wstrząs prowadzący do śmierci kojarzy się zawsze z wybitnym spadkiem poziomu histaminy we krwi pełnej. Wyniki zamieszczone w tab. 4 wydają się usprawiedliwiać szerokie stosowanie glukokortykoidów w terapii kolienteroksemii.

Choć oczywistym jest, że spadek poziomu histaminy jest skutkiem uwolnienia jej z transporterów komórkowych i przejścia do osocza oraz poza naczynia do tkanek i jam ciała, to jednak należy pamiętać, że kształtowanie się poziomu histaminy we krwi jest wypadkową procesów syntezy i degradacji.

WNIOSKI

1. Przeprowadzenie hormonalnej blokady przysadki u prosiąt napotyka na poważne trudności.

2. Doustne podanie prosiętom po adrenalectomii zawiesiny pałeczek okrężnicy wywołuje przejściowy wzrost stężenia histaminy we krwi — pozostaje on jednak bez wpływu na ogólny stan zwierzęcia.

3. Dożylnie podanie prosiętom po adrenalectomii zawiesiny pałeczek okrężnicy w płynie fizjologicznym (do 10 ml) obniża poziom histaminy we krwi o około 50% — z objawów klinicznych towarzyszących temu zjawisku obserwuje się jedynie ślinotok i wymioty — większe ilości (ponad 15 ml) powodują, po upływie około 2 godz. wstrząs prowadzący do śmierci.

4. Dożylnie podanie prosiętom po adrenalectomii małych dawek FLW (5 ml) wywołuje wstrząs śmiertelny. Zwierzęta kontrolne znoszą tę dawkę bezobjawowo.

5. Niedobór (brak) glukokortykoidów zmniejsza odporność przeciw działaniu frakcji lipowielocukrowej pałeczek okrężnicy.