

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XVI, 9

SECTIO D

1961

Z Katedry i Zakładu Patologii Ogólnej i Doświadczalnej Wydziału Lekarskiego
Akademii Medycznej w Lublinie

Kierownik: prof. dr Jarosław Billewicz-Stankiewicz

Jarosław BILLEWICZ-STANKIEWICZ

**Badania doświadczalne nad znaczeniem acetylocholiny
wewnątrzpochodnej w pohistaminowym spadku ciśnienia krwi**

**Экспериментальные исследования над значением тканевого
ацетилхолина при послегистаминовом снижении давления крови**

**Experimental Investigations on the Role of Endogenous Acetylcholine
in Post-Histaminic Fall of Blood Pressure**

W swych pracach Bing (4, 5) wyraża pogląd, że działanie biologiczne histaminy na ustrój jest aktywowane przez uwalnianą pod jej wpływem acetylocholiny. Autor ten prowadził badania nad odruchami: skórno-mięśniowym oraz skrzyżowanym u człowieka. Zadrapanie skóry powoduje powstawanie w miejscu zadrażnienia histaminy, ta zaś z kolei według Binga wyzwała z zakończeń nerwowych acetylocholiny, która na drodze odruchu osiowego zmniejsza napięcie mięśni, leżących pod zadrażnionym miejscem skóry. Tonus mięśniowy zmniejsza się nie tylko po stronie zadrażnienia, lecz również na symetrycznym miejscu przeciwległej strony ciała. Autor przytacza następujące dowody doświadczalne na poparcie swej hipotezy, świadczące o tym, że zarówno histamina jak i acetylocholina mogą brać udział w powstawaniu opisywanych zjawisk. Histamina lub acetylocholina wprowadzone doskórnie zmniejszają napięcie mięśni. Środki przeciw-histaminowe, podane doskórnie, znoszą działanie histaminy, zaś atropina unieczynnia zarówno acetylocholiny jak również histaminę. Atropina i środki przeciw-histaminowe znoszą również wspomniane odruchy.

Hipoteza Binga jest interesująca i zasługuje na doświadczalne sprawdzenie na zwierzętach, aby przekonać się, czy ma ona znaczenie bardziej ogólne i odnosi się nie tylko do człowieka, lecz i do zwierząt wyższych i nie tylko do zjawisk zachodzących w skórze, ale i w innych układach i narządach. Zagadnienie to było dla mnie tym bardziej ciekawe, że łączy się z tematami poprzednich naszych prac (2, 3), w których zostało wykazane, że pod wpływem bodźca histaminowego powstaje w ścianie jelita substancja adrenalinopodobna. Innym spostrzeżeniem było stwierdzenie, że pohistaminowy spadek ciśnienia pod wpływem atropiny ulega zmniejszeniu oraz, że pobudliwość nerwu błędnego w przebiegu histaminowego

spadku ciśnienia krwi i po jego ustąpieniu ulega obniżeniu, przy czym odnosi się wrażenie, że uwalnianie acetylocholinę z zakończeń nerwu błędnego w układzie krążenia ulega zahamowaniu. Wobec tego, że wyniki uzyskane przez nas były częściowo sprzeczne z hipotezą B i n g a, postanowiłem przekonać się, czy w przebiegu histaminowego spadku ciśnienia krwi u kota uwalniana zostaje acetylocholina, która może być przyczyną hipotenzji.

METODYKA

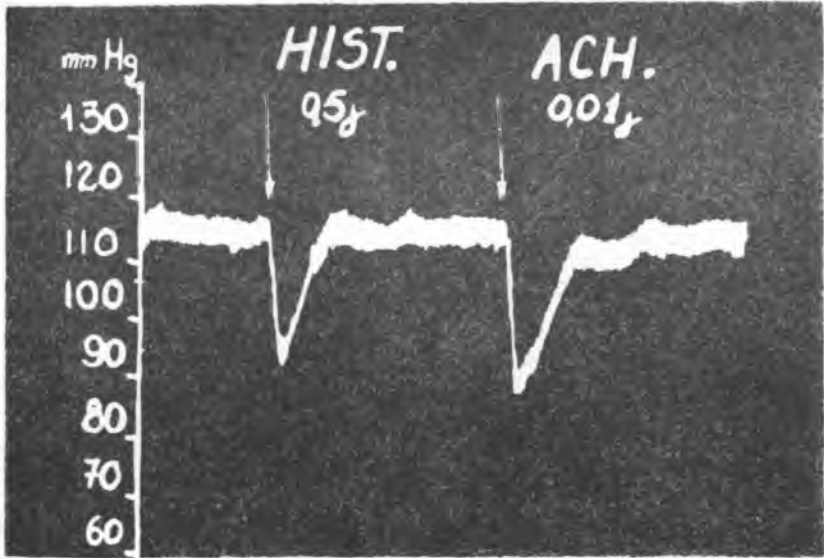
Wykonałem doświadczenia na 42 kotach uśpionych uretanem (1,0—1,5 g na 1 kg wagi w 25% roztworze). Ciśnienie krwi zapisywałem na kimografie z tętnicy szyjnej, połączonej z manometrem rtęciowym Ludwiga. Jako metodami badania posłużyłem się zatrucaniem zwierząt ezeryną, kurarą oraz bezpośrednim oznaczaniem acetylocholinę w osoczu krwi. Chodziło o stwierdzenie, czy ezeryna będąca inhibitorem cholinesterazy oraz kurara będąca według znanej hipotezy Minza jej aktywatorem — wpływają na kształt krzywej pohistaminowego spadku ciśnienia krwi. W doświadczeniach z kurarą stosowałem sztuczne oddychanie. Celem wywołania spadków ciśnienia krwi posługiwałem się również surowicą końską.

Histamina, acetylocholina, surowica końska, ezeryna oraz tubokuraryna wprowadzane były do odpreparowanej żyły udowej. Histamina bądź to w dawkach pojedynczych od 0,5 do 5,0 mikrogramów na kota, bądź też w kroplówkach 1,0—2,0 mg w 10—20 ml płynu fizjologicznego w ciągu 20—30 minut. Acetylocholina od 0,01—40 mikrogramów, ezeryna (salicylan) 0,1—1,0 mg, tubokuraryna 0,5—2,0 mg, surowica 0,5—1 ml.

Acetylocholinę we krwi oznaczałem ilościowo przy pomocy próby biologicznej na mięśniu prostym brzucha żaby metodą opływową A h m e d a i T a y l o r a (1). Surowica krwi wkraplana była na powierzchnię mięśnia, zawieszzonego w płaszczu powietrznym i połączonego z pisakiem. Wysokość wychyleń pisaka była odczytywana na papierze milimetrowym. Mięsień zraszany był nieustannie płynem Ringera o składzie: 6,5 g NaCl, 0,2 g NaHCO₃, 0,14 g KCl, 0,12 g CaCl₂, 0,01 g NaH₂PO₄, 2,0 g glukozy na 1 litr wody podwójnie przekroplonej z dodatkiem salicylanu ezeryny (10⁻⁵). Szybkość spływania wynosiła 80 kropli na minutę. Na 10 sekund przed podaniem płynu zawierającego acetylocholinę dopływ płynu Ringera ulegał przerwaniu. Płyny z wzorcowymi dawkami acetylocholinę 0,01, 0,02, 0,04, 0,08 mikrograma, jak też surowica wkraplane były na powierzchnię mięśnia w objętości 0,2 ml i działały na mięsień przez 2 minuty, po czym wznowiane było zraszanie mięśnia płynem Ringera. Wysokości skurczów mięśnia, uzyskanych za pomocą wzorcowych dawek acetylocholinę znaczone były na semilogarytmicznym układzie współrzędnych. Na osi rzędnych znaczone były wysokości skurczów, na osi odciętych w skali logarytmicznej wzorcowe dawki acetylocholinę. Z wysokości skurczu, wywołanego badaną surowicą, drogą interpolacji wykresu obliczana była zawartość acetylocholinę w surowicy. Progowa dawka acetylocholinę dla ezerynowanego mięśnia wynosi w tej metodzie 0,01 mikrograma. Czułość metody „opływowej” jest 10—20 razy większa w porównaniu z metodą „kapieli”.

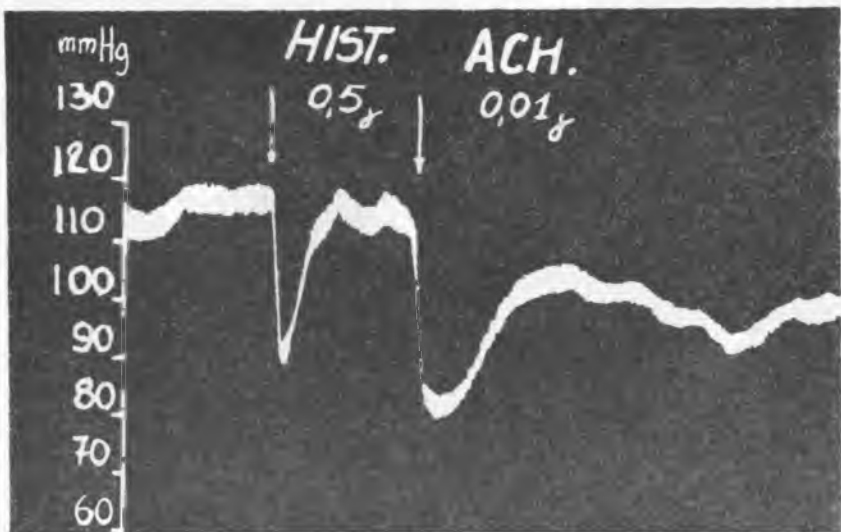
CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

W pierwszej grupie doświadczeń wprowadzane były dożylnie acetylocholina i histamina, przy czym dawki tych substancji były tak dobie-



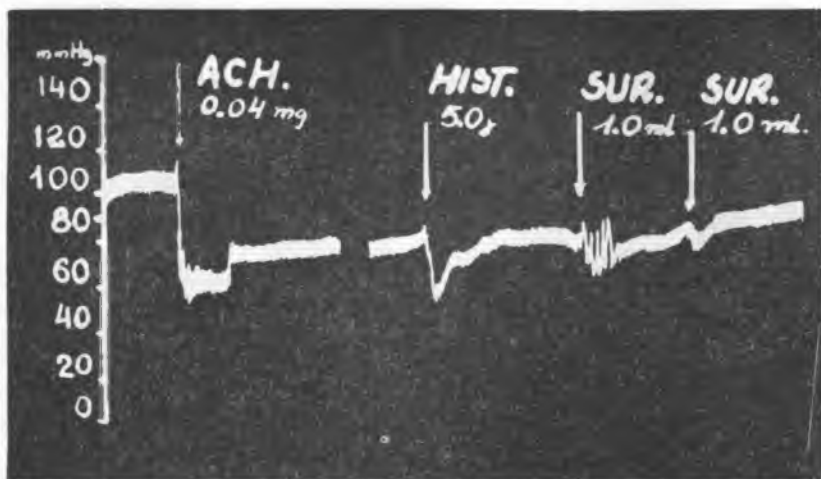
Ryc. 1. Krzywa ciśnienia tętniczego krwi kota po podaniu histaminy i acetylocholino (dośw. nr 12/VI a)

Arterial blood pressure curve of a cat after administration of histamine and acetylcholine (exp. No. 12/VI a)

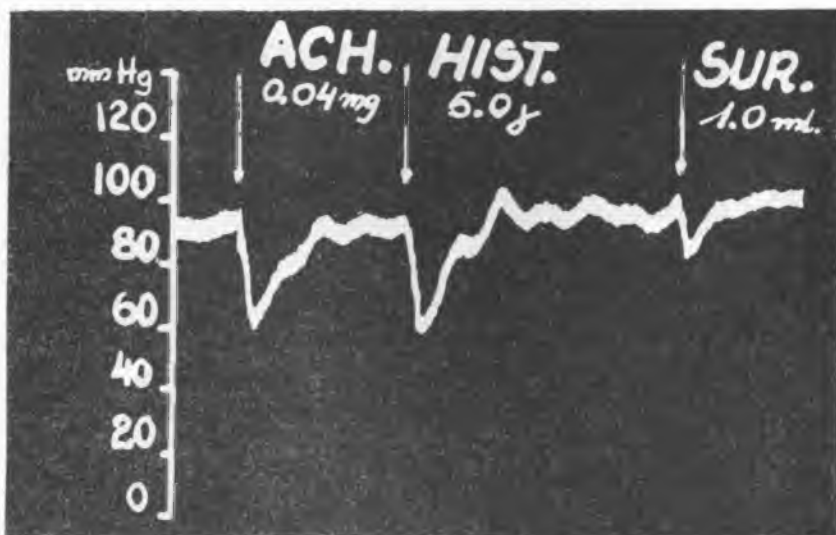


Ryc. 2. Krzywa ciśnienia tętniczego krwi kota po podaniu histaminy i acetylocholino w dawkach jak na ryc. 1, lecz po uprzednim zastosowaniu ezeryny (dośw. nr 12/VI b)

Arterial blood pressure of a cat after administration of histamine and acetylcholine in doses as in Fig. 1, but following administration of eserine (exp. No. 12/VI b)



Ryc. 3. Krzywa ciśnienia tętniczego krwi kota po podaniu acetylocholíny, histaminy i surowicy końskiej (dośw. nr 36/VI a)
 Arterial blood pressure curve of a cat after administration of acetylcholine, histamine and horse serum (exp. No. 36/VI a)



Ryc. 4. Krzywa ciśnienia tętniczego krwi kota po podaniu acetylocholíny, histaminy i surowicy końskiej w dawkach jak na ryc. 3, lecz po uprzednim zastosowaniu ezeryny (dośw. nr 36/VI b)
 Arterial blood pressure curve of a cat after administration of acetylcholine, histamine and horse serum in doses as in Fig. 3, but following administration of eserine (exp. No. 36/VI b)

rane, aby powodowały spadki ciśnienia krwi mniej więcej tej samej głębokości. Następnie podawana była ezeryna, a po upływie 15—25 minut ponownie takie same dawki acetylocholino i histaminy. Ochronne działanie ezeryny w stosunku do acetylocholino przejawiało się typowym pogłębieniem spadku ciśnienia i przedłużeniem czasu jego trwania. Natomiast krzywa histaminowego spadku ciśnienia krwi pozostawała po ezerynie nie zmieniona (ryc. 1 i 2).

W drugiej grupie doświadczeń obok acetylocholino i histaminy podawana była surowica końska, która również powoduje spadek ciśnienia krwi. Po podaniu wzorcowych dawek wprowadzana była ezeryna, a po upływie 15—30 minut wszystkie wymienione substancje ponownie w takich samych dawkach. Działanie acetylocholino ulegało wzmożeniu i przedłużeniu, podczas gdy hipotenzyjne efekty histaminy i surowicy pozostawały bez zmian (ryc. 3 i 4).

W trzeciej grupie doświadczeń oznaczałem zawartość acetylocholino w surowicy przed i po dożylnym, powolnym, kroplowym wlewie 1—2 mg histaminy. Ponowne pobranie krwi następowało po upływie 10 minut lub więcej od zakończenia wlewu. W pięciu podwójnych oznaczeniach nie stwierdziłem, aby po wlewie histaminy następowała istotna zmiana

Tab. 1. Wyniki pomiarów zawartości acetylocholino w surowicy krwi
Results of measurements of acetylcholine content in blood serum

Nr doświadczenia	Zawartość acetylocholino w osoczu krwi przed podaniem histaminy	Zawartość acetylocholino w osoczu krwi po podaniu histaminy	Uwagi
39/VI	poniżej 5 mikrog ⁰ / _o	poniżej 5 mikrog ⁰ / _o	10 min. po podaniu 1 mg histaminy dożylnie
40/VI	poniżej 5 mikrog ⁰ / _o	poniżej 5 mikrog ⁰ / _o poniżej 5 mikrog ⁰ / _o	20 min. po podaniu 1 mg histaminy 2 godz. po pierwszej dawce i 10 min. po dodatkowym 1 mg histaminy
41/VI	poniżej 5 mikrog ⁰ / _o	poniżej 5 mikrog ⁰ / _o poniżej 5 mikrog ⁰ / _o	10 min. po podaniu 1 mg histaminy 1 godzinę po pierwszej dawce i 10 min. po dodatkowym 1 mg histaminy

stężenia acetylocholino osocza. U wszystkich trzech badanych zwierząt poziom acetylocholino był niski, wynosił poniżej 5 mikrogramów na 100 ml osocza zarówno przed, jak i po histaminie (tab. 1).

W czwartej grupie doświadczeń podawałem kotom wzorcowe dawki acetylocholino i histaminy, następnie tubokurarynę w dawce „podprogowej”, nie hamującej oddychania, jak również w dawkach większych, powodujących porażenie mięśni oddechowych. Okazało się, że zarówno po małych, jak i większych dawkach kuraryny zarówno hipotenzyjny efekt acetylocholino, jak i histaminy nie ulegał większym zmianom.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Stwierdzenie, że u zwierząt po podaniu czynnych dawek ezeryny histamina nie wywołuje ani głębszego, ani też bardziej długotrwałego spadku ciśnienia krwi, przemawia za tym, że wewnątrzpochodna acetylocholino nie bierze udziału w histaminowej hipotenzji.

Surowicę obcogatunkową wprowadziłem do doświadczeń, wychodząc z założenia, że powoduje ona, podobnie jak inne antygeny, uwalnianie z tkanek histaminy wewnątrzpochodnej (P a t o n) (6), przy czym ma to stać w łączności z aktywacją w tkankach procesów proteolizy (U n g a r) (7). Dlatego spadek ciśnienia tętniczego po podaniu obcogatunkowej surowicy można uznać, że jest najprawdopodobniej następstwem działania wewnątrzpochodnej histaminy. Uważałem za interesujące porównanie, czy w działaniu mobilizującym acetylocholino między zewnątrz- i wewnątrzpochodną histaminą zachodzą jakieś różnice. Ponieważ zarówno przed, jak i po podaniu ezeryny surowica wywołuje podobne spadki ciśnienia krwi, należy sądzić, że również w posurowicznej hipotenzji acetylocholino nie bierze udziału.

Znaczna mobilizacja, gdyby taka istniała, przez histaminę acetylocholino tkankowej mogłaby mieć za następstwo wzrost jej zawartości w osoczu. Jak wynika z dokonanych pomiarów, wprowadzanie nawet dużych dawek histaminy nie wywołuje uchwytnych zmian w koncentracji acetylocholino w osoczu. Ewentualny maskujący wpływ rozcieńczenia osocza przez wprowadzany z histaminą płyn fizjologiczny nie powinien mieć istotnego znaczenia. Objętość podawanego płynu wynosiła od 5% do 10% objętości krwi krążącej i zapewne nadmiar płynu był natychmiast eliminowany przez nerki. Maksymalne rozcieńczenie osocza było więc mniejsze od 10%, a więc leżało w granicach błędu metody oznaczania acetylocholino i było bez wpływu na wyniki oznaczeń.

W doświadczeniach z kuraryną spodziewałem się, że jeżeli, zgodnie z hipotezą M i n z a, zachodzi aktywacja cholinesterazy w tkankach, to acetylocholino u zwierząt przed kuraryzacją powinna wywierać silniej-

sze działanie hipotenzyjne niż po kuraryzacji. Oczekiwałem również wzmożenia hipotenzyjnego działania histaminy w wypadku, gdyby hipoteza Binga odnosiła się nie tylko do odruchów skórno-mięśniowych, lecz także działania histaminy na inne układy ustroju. Ponieważ wpływ tubokuraryny nie ujawnił się ani w stosunku do hipotenzyjnego działania acetylocholin, ani też do podobnego działania histaminy, z doświadczeń z tubokuraryną nie można wyciągać żadnych wniosków.

W ostatecznej konkluzji doszedłem do przekonania, że jest mało prawdopodobne, aby histamina obniżała ciśnienie krwi nie bezpośrednio, lecz pośrednio przez mobilizację acetylocholin ustrojowej.

WNIOSKI

1. Ezeryna nie powoduje u kotów ani pogłębienia, ani też przedłużenia spadku ciśnienia krwi po podaniu histaminy lub surowicy końskiej, jak to ma miejsce w stosunku ezeryny do działania acetylocholin.

2. Nie udało się wykazać, aby pod wpływem dożylnego wprowadzania nawet dużych dawek histaminy zawartość acetylocholin w osoczu krwi wzrastała.

3. Tubokuraryna nie wzmacnia hipotenzyjnego działania zarówno acetylocholin, jako też histaminy.

4. Autor dochodzi do wniosku, że jest mało prawdopodobne, aby hipotenzyjne działanie histaminy było powodowane lub wzmacniane przez uwalnianą pod wpływem histaminy wewnątrzpochodną acetylocholinę.

PIŚMIENNICTWO

1. Ahmed A., Taylor N. R. W.: The Assay of Acetylcholine on the Superfused Frog Rectus Muscle. *Journ. Pharm. Pharmacol.* **11**, 536—540 (1957).
 2. Billewicz-Stankiewicz J., Popik Cz.: Analiza sympatykomimetycznego działania histaminy na jelito cienkie. *Ann. Univ. Mariae Curie Skłodowska, sect. D*, **10**, 495—508 (1955).
 3. Billewicz-Stankiewicz J., Popik Cz.: O zmianach pobudliwości nerwu błędnego pod wpływem kroplowego dożylnego wprowadzania histaminy. *Ann. Univ. Mariae Curie Skłodowska, sect. D*, **12**, 1—20 (1957).
 4. Bing H. I.: A Cutomuscular Reflex (scratch reflex). *Acta Med. Scand.* **150**, 413—415 (1954).
 5. Bing H. I.: A Peculiar Crossed Reflex; a Study in Histamine. *Acta Med. Scand.* **157**, 474—478 (1957).
 6. Paton W. D. M.: The Mechanism of Histamine Release. *Ciba Foundation Symposium on Histamine*, Churchill, 59—73. London 1956.
 7. Ungar G.: Mechanism of Histamine Release. *Ciba Foundation Symposium on Histamine*, Churchill, 431—443. London 1956.
-

РЕЗЮМЕ

Установление Бингом, что образующийся в коже под влиянием механического раздражителя гистамин вызывает повторное освобождение из тканей ацетилхолина, заставило автора заняться вопросом связано ли гистаминовое снижение давления крови с образованием тканевого ацетилхолина. Соответствующие эксперименты были проведены на 42 кошках. На основании полученных результатов автор приходит к следующим заключениям:

1. Эзерин не вызывает углубления, а также более длительного падения кровяного давления после введения гистамина или лошадиной сыворотки, как это наблюдается по отношению к эзерину для действия ацетилхолина.

2. Автору не удалось показать, чтобы под влиянием внутривенного введения даже больших доз гистамина количество ацетилхолина в сыворотке крови возрастало.

3. Тубокурарин не усиливает гипотензийного действия как ацетилхолина, так и гистамина.

4. Автор приходит к заключению, что весьма мало вероятно, чтобы гипотензийное действие гистамина вызывалось или усиливалось освобождаемым под влиянием гистамина тканевым ацетилхолином.

Рис. 1. Кривая артериального давления крови у кошки после введения гистамина и ацетилхолина (опыт № 12/VIa).

Рис. 2. Кривая артериального давления крови у кошки после введения гистамина и ацетилхолина в дозах как и на рис. 1, но после предварительного применения эзерина (опыт № 12/VI б)

Рис. 3. Кривая артериального давления крови у кошки после введения ацетилхолина, гистамина и лошадиной сыворотки (опыт № 36/VI а).

Рис. 4. Кривая артериального давления крови у кошки после введения ацетилхолина, гистамина и лошадиной сыворотки в дозах как на рис. 3, но после предварительного применения эзерина (опыт № 36/V б).

SUMMARY

The discovery made by Bing that histamine which is formed in the skin under the influence of a mechanical stimulus causes a secondary liberation of acetylcholine from the tissues, induced the author to investigate the problem whether the post-histaminic fall of blood pressure is also connected with the formation of tissue acetylcholine. The experiments were carried out on 42 cats, and resulted in the following conclusions.

1. Eserin produces neither intensification nor prolongation of the fall of blood pressure after administration of histamine or horse serum, as it happens when acetylcholine and eserine act simultaneously.

2. It was not possible to demonstrate that the content of acetylcholine in blood plasma increased under the influence of intravenous administration of histamine, even in large doses.

3. Tubocurarine does not intensify the hypotensive action of acetylcholine or histamine.

4. The author arrives at the conclusion that it is difficult to believe that the hypotensive action of histamine should be caused or intensified by endogenous acetylcholine liberated under the influence of histamine.

