



Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

RADOVI XXXIV, knj. 13.

Stern, Pavao

1967

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

<https://bastina.anubih.ba/items/47536be5-1618-4858-9176-4512eae2696c>

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

<https://bastina.anubih.ba/>

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA XXXIV

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

knjiga 13.

SARAJEVO

1967

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

ACADEMIE DES SCIENCES ET DES ARTS DE BOSNIE-HERZEGOVINE

TRAVAUX

TOME XXXIV

SECTION DES SCIENCES MEDICALES

Livre 13.

Rédacteur

PAVEL ŠTERN,

membre de l'Académie des sciences et des arts
de Bosnie-Herzégovine



SARAJEVO

1967

S A D R Ž A J

	Strana
1. <i>Nedo Zec, Nenad Bokonjić, Risto Bokonjić, Muhamed Gavranović i Slobodan Loga:</i> Elektroencefalografska ispitivanja kod paroksizmalnih hemikranija — Electroencephalographic investigations in patients with paroxysmal hemicrania	5
2. <i>Pavao Štern i Enisa Bašagić:</i> Histaminska astma miša — Histaminic asthma of mice	17
3. <i>Seid Huković i K. U. Malik:</i> Uticaj etanola na resorpciju histamina i glukoze kroz segment izoliranog ileuma in vitro — Effect of ethanol on the passage of histamine and glucose across the isolated ileum of gvinea — pig in vitro	23
4. <i>Pavao Štern i Rajko Igić:</i> Djelovanje tricijano-2-amino-1-propena i Na-fericijanida na transplantabilne maligne tumore životinja — The effect of tricyano-2-amino-1-propene and Na-nitroferrocyanide on transplantable malignant cancers of animals	31
5. <i>Josip Ježić, Jevrosima Begović i Hazim Mahić:</i> Radiometrijski prilog izučavanju etiologije i patogeneze hematuričnog sindroma goveda — Contribution radiométrique à l'étude de l'étiologie et de la pathogénèse du syndrome hématurique des bovins	43
6. <i>Jakob Gaon:</i> Ispitivanje uloge mogućih rezervoara klasičnog pjegavca značajnih za eradikaciju ove bolesti u SRBiH — The role of possible reservoirs of classical typhus fever important for the eradication of this disease in SR Bosnia and Herzegovina	49
7. <i>Seid Huković:</i> Model-sistemi u eksperimentalnoj farmakologiji — Die Modell-Systemen der experimenteller Pharmakologie	67
8. <i>Džemal Rezaković, Aleksandar Nikulin, Pavle Plamenac, Edita Gmaz-Nikulin i Branko Pikula:</i> Djelovanje heparina na razvoj histaminskog šoka i na obnavljanje faktora koagulacije: fibrinogen, protrombina (F II), akcelarina (F V), kompleksa konvertin-stuart (F VII—X) i trombocita za vrijeme oporavka nakon šoka — The effect of the heparin on the development of the histamin shock and on regeneration of the clotting factors: fibrinogen, prothrombin (F II), accelerin (F V), konvertinstuart complex (F VII—X) and platelet during the recovery after shock	87





NEDO ZEC, NENAD BOKONJIĆ, RISTO BOKONJIĆ, MUHAMED
GAVRANOVIĆ I SLOBODAN LOGA

ELEKTROENCEFALOGRAFSKA ISPITIVANJA KOD PAROKSIZMALNIH HEMIKRANIJA

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 12. II 1968. g.)

U novije vrijeme preovladalo je mišljenje da u osnovi migrenskih glavobolja leže poremećaji regulacije tonusa krvnih sudova: vazospazmu slijedi vazodilatacija, što se manifestuje moždanom ishemijom i konsektivnim napadom glavobolje. S druge strane, nisu u potpunosti odbacene ni starije koncepcije prema kojima treba bar jedan broj migrenskih glavobolja da bude uvršten u krug epilepsije.

Nadanje da će elektroencefalografska ispitivanja raščistiti ovo pitanje nije se u potpunosti ostvarilo. Radovi iz ove oblasti nisu dali jednoobrazne rezultate kako u pogledu učestalosti abnormalnih nalaza, tako ni u pogledu karaktera nađenih promjena. Procenat abnormalnih EEG-a varira kod raznih autora od 13—60% (Dow i Whitty⁽¹⁾, Ulett et al.⁽²⁾, Weil⁽³⁾, Heyck⁽⁴⁾, Selby i Lance⁽⁵⁾, Wissfeld i Neu⁽⁶⁾, Smyth i Winter⁽⁷⁾, Giel et al.⁽⁸⁾, Slater⁽⁹⁾, a nađene promjene opisuju se, s jedne strane, kao nespecifične, a s druge, kao fokalne i signifikantne za epilepsiju. I značaj elektroencefalografskih promjena interpretira se različito. Dok jedni autori (Hill i Parr⁽¹⁰⁾, Smyth i Winter⁽⁷⁾, Towle⁽¹¹⁾) u ovim promjenama vide podršku za shvatanje da je migrenska glavobolja uslovljena funkcionalnim anomalijama krvnih sudova, drugi autori (Weil⁽³⁾, Heyck⁽⁴⁾, Camp i Wolff⁽¹²⁾) poseban značaj pridaju nalazima prema kojima bar izvjestan broj migrenskih glavobolja treba povezivati sa epilepsijom. Mora se pretpostaviti da ovakve raznolikosti u nalazima i shvatanjima proizilaze, s jedne strane, iz neujednačenih kriterijuma sa kojima se prilazi problemu, a, s druge strane, i iz činjenice da diferencijalna dijagnoza između funkcionalnih paroksizmalnih glavobolja i epilepsije nije uvijek jednostavna.

U svjetlu izloženih činjenica stiče se utisak da u grupi bolesnika koji pate od glavobolja migrenskog tipa, a za koje nije nađena organska osnova, postoji i jedna podgrupa koja je usko povezana uz epilepsiju. Kolika će ta podgrupa da bude u pojedinim serijama zavisi, između ostalog, i od dijagnostičkih kriterijuma koji vrijede u sredini gdje se serija ispituje. Stoga je kao cilj ovog rada postavljeno da se ustanovi:

1. kolika je učestalost abnormalnih EEG-a i kakve se elektroencefalografske promjene mogu da nađu u interparoksizmalnom periodu kod bolesnika sa paroksizmalnim hemikranijama na našem bolesničkom materijalu — i

2. kolika je kod takvih bolesnika učestalost elektroencefalografskih promjena koje se smatraju signifikantnim za epilepsiju.

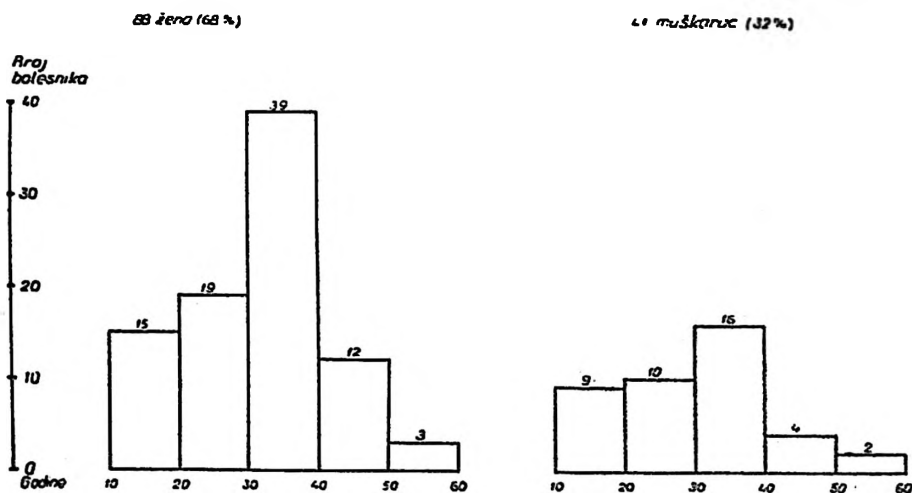
MATERIJAL I METODE

Bolesnički materijal sastojao se prvobitno od 149 bolesnika koji su ležali na Neuropsihijatrijskoj klinici u Sarajevu u periodu 1931—1965. zbog paroksizmalnih glavobolja (86 bolesnika), ili su zbog ovog sindroma ispitivani ambulantno (63 bolesnika). Nakon završenih ispitivanja kod 20 bolesnika ustanovljeno je organsko-neurološko oboljenje ili drugo somatsko oboljenje koje je moglo da prouzrokuje ovaj sindrom ili da utiče na EEG, te ovi bolesnici nisu uvršteni u seriju koja se ispitivala. Na taj način definitivni bolesnički materijal sastoji se od 129 bolesnika (72 hospitalizovana i 57 ambulantnih) čija je osnovna tegoba bila paroksizmalna glavobolja koja se manifestovala unilateralno, ili pretežno unilateralno, a za koju se objektivnim pregledima nije mogla da nađe organska osnova.

U 104 od 129 bolesnika (81%) kao premonitorna, odnosno popratna pojava paroksizama glavobolje javljali su se poremećaji vida i senzibiliteta, odnosno vegetativni simptomi, kao nauzea i povraćanje. Kod ostalih 19% bolesnika ove pojave su bile samo naznačene ili nisu opisane.

Kontrolnu grupu sačinjavaju 42 bolesnika koji su u istom vremenskom razdoblju tretirani od tipičnih neurotskih glavobolja.

Slika 1 prikazuje distribuciju bolesnika prema spolu i godinama života u seriji bolesnika sa paroksizmalnom glavoboljom. Iz grafikona



Slika 1.
Distribucija prema polu i godinama bolesnika sa paroksizmalnom glavoboljom.

se vidi da je broj žena više nego dva puta veći od broja muškaraca, da je distribucija prema godinama života među ženama i muškarcima veoma slična, te da približno dvije trećine od ukupnog broja bolesnika spada u grupu od 20—40 godina. Slična distribucija nađena je i u kontrolnoj grupi.

Klinički podaci za bolesnike koji su bili hospitalizovani uzeti su iz istorija bolovanja, a za ambulantne bolesnike iz elektroencefalografskih kartona koji su popunjeni prilikom snimanja na osnovu anamneze, objektivnog pregleda i dopunskih nalaza koje je sakupio nadležni neurolog.

Elektroencefalografski podaci uzeti su sa elektroencefalografskih kartona, s tim što su svi EEG-i koji su klasificirani kao abnormalni i granični ponovo pregledani. Ukoliko je kod jednog bolesnika postojalo više snimaka, u obradu je uzet onaj u kojem su promjene bile najizrazitije.

EEG-i su snimani na aparatima »medcraft« i »kaiser« sa šest i osam kanala. 14 elektroda postavljeno je simetrično nad frontalne, centralne, parijetalne, okcipitalne i temporalne regije, dok je 15-ta postavljena nad verteksom. Korišteno je 6 dipolarnih montaža i dvije sa referentnom elektrodom nad verteksom. Za vrijeme snimanja bolesnici su ležali sa zatvorenim očima. Snimanje je trajalo 20—30 minuta, uključujući 3 minuta hiperventilacije. U vrijeme snimanja bolesnici nisu imali napad glavobolje i nisu primali lijekove za koje je poznato da izazivaju promjene u EEG-u. Klasifikacija EEG-a na normalne i abnormalne izvršena je prema kriterijumima koje su izložili Gibbs i Gibbs⁽¹³⁾.

REZULTATI

U tabeli 1 prikazana je učestalost abnormalnih EEG-a u grupi bolesnika koji su posmatrani na Klinici i u grupi bolesnika koji su ispitivani ambulantno.

Tabela 1.

UČESTALOST ABNORMALNIH ELEKTROENCEFALOGRAMA U GRUPI AMBULANTNIH I U GRUPI HOSPITALIZOVANIH BOLESNIKA

	ukupno	Elektroencefalografski nalaz		
		normalan	abnormalan	
			broj	procent
hospitalizovani bolesnici	72	36	36	50%
ambulantni bolesnici	57	35	22	39%
ukupno	129	71	58	45%

$$\chi^2 = 1,671$$

Učestalost abnormalnih elektroencefalograma je veća u prvoj grupi (50% prema 39%), ali razlika nije statistički signifikantna. S obzirom na ovu činjenicu, kao i na okolnost da su kriterijumi za odabiranje bolesnika u ovu seriju bili isti, u daljem prikazu obje grupe bolesnika tretiraju se kao jedna.

U tabeli 2 prikazana je učestalost abnormalnih EEG-a u bolesnika sa paroksizmalnom glavoboljom i u kontrolnoj grupi. Iz tabele se vidi da je EEG bio abnormalan kod 58 od 129 bolesnika sa paroksizmalnom hemikranijom. Ovo iznosi 45% od ukupnog broja bolesnika — prema 14% u kontrolnoj grupi. Razlika je statistički signifikantna.

Tabela 2.
UČESTALOST ABNORMALNIH ELEKTROENCEFALOGRAMA
U BOLESNIKA SA PAROKSIZMALNOM GLAVOBOLJOM
I U KONTROLNOJ GRUPI

	ukupno	Elektroencefalografski nalaz		
		normalan	abnormalan	
			broj	procent
bolesnici sa paroksizmalnom hemikranijom	129	71	58	45%
kontrolna grupa	42	36	6	14%
ukupno	171	107	64	—

$X^2 = 12,65$

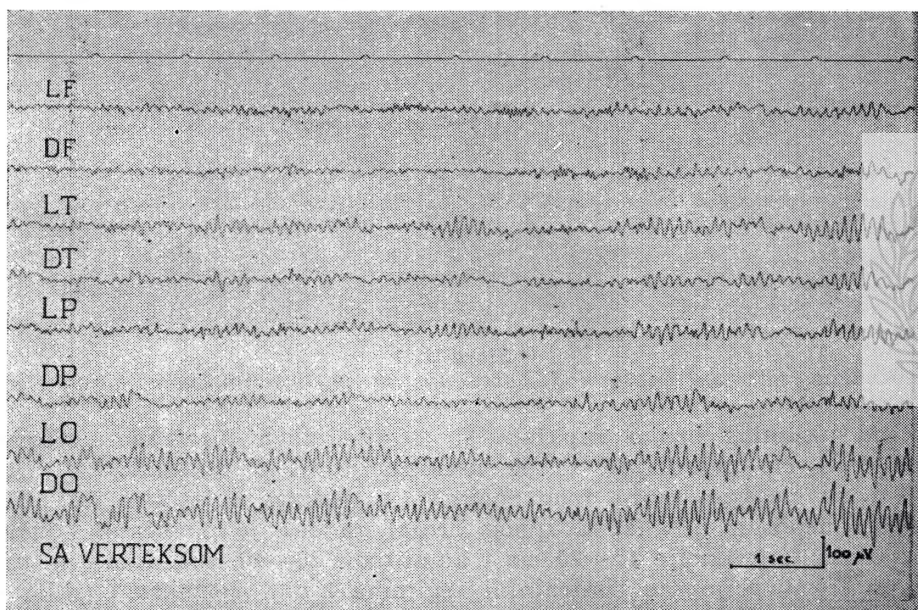
U tabeli 3 izneseni su elektroencefalografski podaci do kojih smo došli u toku ispitivanja. Iz prvog dijela tabele proizilazi da se bolesnici

Tabela 3.
ELEKTROENCEFALOGRAFSKE PROMJENE U BOLESNIKA
SA PAROKSIZMALNOM HEMIKRANIJOM I U KONTROLNOJ GRUPI

	Bolesnici sa paroksizmalnom hemikranijom		Kontrolna grupa	
	broj bolesnika	% od ukupnog broja	broj bolesnika	% od ukupnog broja
paroksistička aktivnost	10	8%	—	—
1) Vrsta promjena u abnormalnim elektroencefalogramima				
nespecifične promjene	48	37%	6	14%
ukupno	58	45%	6	14%

	2—4 c/s aktivnost	11	8%	—	—
2) Vrsta anomalija kod 48 bolesnika sa nespecifičnim promjenama u EEG-u	4—7 c/s aktivnost	47	36%	5	12%
	aktivnost preko 15 c/s	9	7%	2	5%
	asimetrija nalaza	5	4%	—	—

sa abnormalnim EEG-om mogu sa elektroencefalografskog stanovišta da podijele u dvije grupe. Prvu grupu sačinjava 10 bolesnika (8% od ukupnog broja bolesnika) u čijem EEG-u je nađena paroksistička aktivnost signifikantna za epilepsiju, kao šiljci, šiljak-talas kompleksi i generalizovani paroksizmi sporih i brzih talasa (slika 2). U kontrolnoj

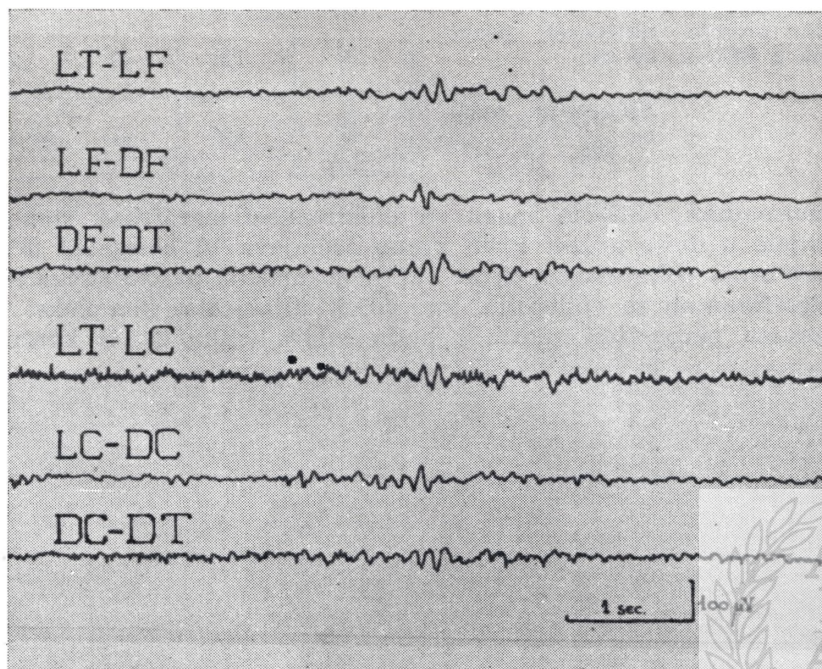


Slika 2.
EEG nalaz karakterističan za epilepsiju (šiljci i šiljak — talas kompleksi) kod bolesnika sa paroksizimalnom glavoboljom.

grupi ova vrsta aktivnosti nije nađena ni kod jednog bolesnika. Druga grupa obuhvata 48 bolesnika (37% od ukupnog broja) u čijem EEG-u su nađene nespecifične promjene. U kontrolnoj grupi ova vrsta anomalija nađena je kod svih 6 bolesnika sa abnormalnim EEG-om.

Drugi dio tabele 3 predstavlja dalju analizu elektroencefalografskih promjena kod 48 bolesnika sa nespecifičnim anomalijama. Iz ovog dijela tabele se vidi da dominirajuću anomaliju čini pojava sporih frekvencija teta i delta-spektra. U svih izuzev jednog bolesnika (36% od ukupnog broja) osnovnu anomaliju predstavljala je 4—7 c/s aktiv-

nost, često sa pretežnom ili isključivom lokalizacijom u okcipitalnim i temporalnim regijama. Teta-talasi javljali su se pojedinačno u nepravilnoj alfa-aktivnosti, ili u obliku manjih ili većih grupa sa amplitudom kao okolna alfa-aktivnost ili nešto višom (slika 3). U 11 bolesnika



Slika 3.

Pojedinačna teta aktivnost kod bolesnika sa paroksizimalnom glavoboljom.

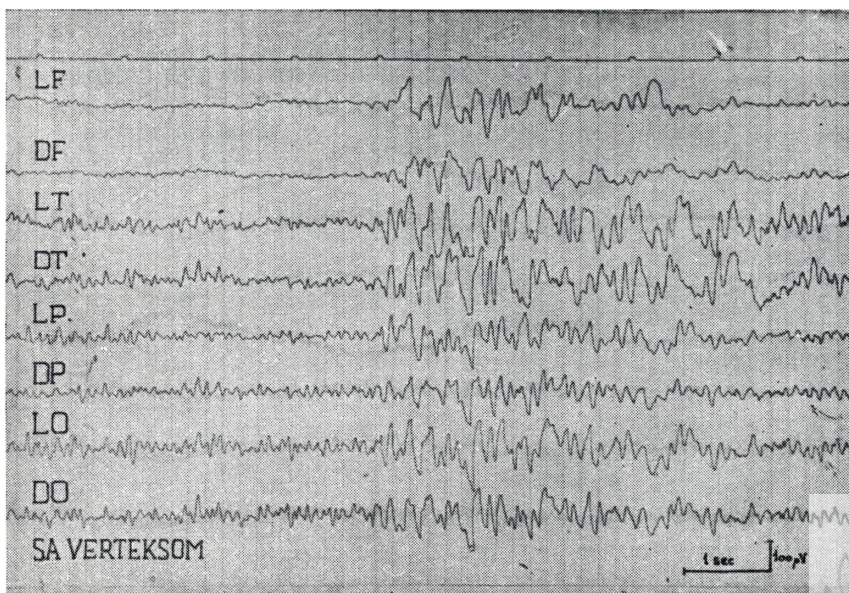
(8% od ukupnog broja) zapaženi su i pojedinačni pretežno niskovoltazni 2—4 c/s potencijali slične lokalizacije. U 8 bolesnika u čijem EEG-u su nađene spore frekvencije i u jednog bolesnika čiji EEG nije bio usporen (7% od ukupnog broja) nađena je povećana količina beta-talasa frekvencije 15—25 c/s i amplitude 20—40 mikrovolti sa pretežnom lokalizacijom u centralnim regijama i nad verteksom (slika 4).

Opisane elektroencefalografske promjene bile su, po pravilu, bilateralne i manje-više simetrične. U 5 bolesnika one su bile više izražene na jednoj strani, a samo u jednog od njih teta-aktivnost nađena je unilateralno.

Tabela 4 prikazuje učestalost abnormalnih EEG-a u grupi muškaraca i u grupi žena. Procent abnormalnih nalaza nešto je veći u grupi žena, ali razlika nije statistički signifikantna.

U 33 od 48 bolesnika sa nespecifičnim elektroencefalografskim anomalijama (25% od ukupnog broja) za vrijeme hiperventilacije u snimku su se pojavile spore frekvencije (delta i teta-aktivnost) koje ne odgovaraju uzrastu bolesnika. U 24 slučaja radilo se o izrazitoj intenzifikaciji usporenja koje je bilo zapaženo i u spontanom EEG-u, dok su u 9 slučajeva spore frekvencije za vrijeme hiperventilacije pred-

stavljale jedinu primijećenu anomaliju. U kontrolnoj grupi spore frekvencije pojavile su se za vrijeme hiperventilacije samo kod jednog bolesnika. Razlika je statistički signifikantna.



Slika 4.

Beta aktivnost u centralnim regijama kod bolesnika sa paroksizmalnom glavoboljom.

Tabela 4.

UČESTALOST ABNORMALNIH ELEKTROENCEFALOGRAMA U GRUPI MUŠKIH I U GRUPI ŽENSKIH BOLESNIKA SA PAROKSIZMALNOM HEMIKRANIJOM

	ukupno	Elektroencefalografski nalaz		
		normalan	abnormalan	
			broj	procent
muškarci	41	24	17	41%
žene	86	47	41	47%
ukupno	129	71	58	45%

$$X^2 = 0,3040$$

U tabeli 6 prikazane su reakcije na hiperventilaciju u grupi bolesnika ispod 30 i u grupi preko 30 godina. Iz tabele se vidi da je pojačana reakcija na hiperventilaciju bila podjednako česta u obje grupe.

Tabela 5.

UČESTALOST POJAČANE REAKCIJE NA ELEKTROENCEFALOGRAFSKU HIPERVENTILACIJU U GRUPI BOLESNIKA SA PAROKSIZMALNOM HEMIKRANIJOM I U KONTROLNOJ GRUPI BOLESNIKA

	ukupno	Pojačana reakcija na hiperventilaciju		
		ne postoji	postoji	
			broj	procent
bolesnici sa paroksizmalnom hemikranijom	129	96	33	25%
kontrolna grupa	42	41	1	2%
ukupno	171	137	34	—

$$\chi^2 = 10,71$$

Tabela 6.

UČESTALOST POJAČANE REAKCIJE NA ELEKTROENCEFALOGRAFSKU HIPERVENTILACIJU U GRUPI BOLESNIKA SA ABNORMALNIM EEG-om ZAVISNO OD UZRASTA BOLESNIKA

Godine bolesnika	ukupno	Pojačana reakcija na hiperventilaciju		
		ne postoji	postoji	
			broj	procent
manje od 30	22	15	7	68%
više od 30	26	18	8	69%
ukupno	48	33	15	69%

DISKUSIJA

U 45% bolesnika iz serije koju smo prikazali EEG je bio abnormalan. Ovaj procent je oko 3 puta veći nego u kontrolnoj grupi, koja se sastojala od bolesnika sa nekarakterističnim funkcionalnim glavoboljama. Učestalost abnormalnih EEG-a u našem bolesničkom materijalu odgovara približno onome što su našli Smyth i Winter⁽⁷⁾. Neki

autori, kao Ulett et al.⁽⁸⁾, Selby i Lance⁽⁵⁾ te Smyth i Winter⁽⁷⁾, ističu da je učestalost anomalija češća, odnosno da je količina spornih frekvencija u EEG-u veća u grupi ženskih bolesnika. U našoj seriji ova razlika nije zapažena.

U najvećem broju slučajeva (37% od ukupnog broja bolesnika) elektroencefalografske promjene su bile nespecifične i sastojale su se u pojavi sporih frekvencija u EEG-u. Slično rezultatima starijih autora, a u posljednje vrijeme Towlea⁽¹¹⁾ i Slatera⁽⁹⁾, i kod naših bolesnika zapažena je pojačana reakcija na elektroencefalografsku hiperventilaciju: kod 25% od ukupnog broja bolesnika za vrijeme hiperventilacije došlo je do izrazitog porasta količine spore aktivnosti u EEG-u, ili su se spore frekvencije pojavile kod bolesnika čiji je spontani EEG bio normalan. Pojava sporih talasa u EEG-u za vrijeme hiperventilacije smatra se do izvjesne granice fiziološkom pojavom u djece i adolescenata. Prema klasičnim shvatanjima (Gibbs i Gibbs⁽¹³⁾) elektroencefalografska preosjetljivost na hiperventilaciju može da se protegne i do 30-te godine života. Da bismo ustanovili nije li na učestalost pojačane reakcije u našoj seriji uticao veliki broj mladih pacijenata u seriji, uporedili smo učestalost ove pojave u grupi bolesnika ispod 30 i u grupi iznad 30 godina. S obzirom da tom prilikom nisu nađene nikakve razlike između obje grupe, smatramo zajedno sa Towleom⁽¹¹⁾ da pojačanu reakciju na hiperventilaciju treba smatrati karakterističnom pojavom kod glavobolja vaskularne geneze.

Česta pojava paroksističke aktivnosti karakteristične za epilepsiju (8% od ukupnog broja naših bolesnika) zaslužuje posebnu pažnju u diskusiji. Hill i Parr⁽¹⁰⁾ podsjećaju da diferencijalna dijagnoza između epilepsije i migrene može u pojedinim slučajevima da bude teška: napad glavobolje može da počne kratkotrajnim senzornim ili motornim fenomenima, a bolesnik za vrijeme napada može da ima pomućenu svijest. Iznoseći svoja iskustva kod djece koja su patila od nesimptomatske migrene, Lericque — Koehlin i Mises⁽¹⁴⁾ ističu da je diferencijalna dijagnoza između migrene i epilepsije u pojedinim slučajevima nemoguća, te da EEG koji je kod većine bolesnika abnormalan ne dozvoljava »da se preciziraju relacije između migrene i epilepsije«. Ipak, autori dopuštaju mogućnost da se u jednom malom procentu slučajeva epilepsija može da manifestuje isključivo migrenskim napadima. Prema Kugleru⁽¹⁵⁾, diferencijalno dijagnostičke teškoće između migrene i epilepsije nastaju u sljedećim slučajevima: 1. ako se migrenski napad javi kao aura abortivnog epileptičnog napada koji počinje u okcipitalnim regijama, a EEG ne otkrije specifičnu aktivnost; 2. ako je migrena praćena afazijom, senzitivnim Jacksonskim napadima i motornim podražajnim simptomima, a u EEG-u postoji aktivnost signifikantna za epilepsiju (autor smatra da je u ovakvim slučajevima sa terapijskog stanovišta bolje pretpostaviti simptomatsku epilepsiju), i 3. kada poslije napada migrene koji je uslovio hemodinamski inzult u EEG-u zaostanu fokalne anomalije. Smatramo da bi se navedenim dijagnostičkim poteškoćama mogle pridodati i sljedeće: 1. epileptički napad može da se ograniči na auru i 2. EEG snimljen između dva epileptična napada ni iz daleka uvijek ne sadrži promjene specifične za epilepsiju.

Izgleda da u izvjesnom broju slučajeva osnovnu poteškoću pri opredjeljivanju da li jednu glavobolju migrenskog tipa treba shvatiti kao nesimptomatsku migrenu ili epilepsiju pričinjava činjenica da se migrena i epilepsija dodiruju u više tačaka: a) epilepsija se može manifestovati paroksističkom glavoboljom; b) organsko oboljenje mozga može istovremeno da uslovi i simptomatsku migrenu i simptomatsku epilepsiju; c) ishemija nakon migrenskog napada može da izazove ireverzibilna oštećenja sa stvaranjem ožiljaka i razvijanjem epileptogenog fokusa; d) u svim ovim slučajevima EEG može da bude promijenjen u smislu epilepsije, može da sadrži nespecifične promjene, ili čak da bude normalan. Prema tome, samo na osnovu specifičnog elektroencefalografskog nalaza ne možemo u pojedinačnom slučaju bez rezerve da primimo dijagnozu epilepsije, kao što je ne možemo ni odbaciti bez daljnjeg ako je EEG normalan ili nespecifično promijenjen. Stoga smatramo da je u ovakvim slučajevima najracionalnije da se problemu priđe sa praktičnog stanovišta: iskustvo je pokazalo da je epilepsija daleko najčešći uzrok paroksističke aktivnosti u EEG-u, te će vjerovatnost da ćemo pogriješiti biti manja ako bolesnike sa takvim promjenama shvatimo kao epileptične, nego ako shvatimo da su oboljeli od funkcionalne bolesti.

U rješavanju pitanja epilepsijâ ili migrenâ često se u pomoć pozivaju i terapeutska iskustva, te se do dijagnoze pokušava doći *ex juvantibus*. Mnogi autori zapazili su da neke forme migrenske glavobolje bolje reaguju na antiepileptičnu terapiju nego na terapiju migrene. I naša iskustva govore u tom smislu, ali broj dosada obrađenih bolesnika nije dovoljan da bismo već sada iznijeli rezultate.

ZAKLJUČAK

Vršena su elektroencefalografska ispitivanja kod 129 bolesnika čija je osnovna tegoba bila paroksizmalna hemikranija za koju se objektivnim pregledima nije mogla da nađe organska osnova. U 58 bolesnika (45%) EEG je klasifikovan kao abnormalan. Učestalost abnormalnih EEG-a bila je približno jednaka kod muškaraca i kod žena.

U 48 slučajeva (37%) promjene u EEG-u su bile nespecifične i sastojale su se u pojavi sporih frekvencija teta i delta-spektra, a u 9 bolesnika i u povećanoj količini beta-aktivnosti. 33 bolesnika (25%) ispoljila su pojačanu reakciju na elektroencefalografsku hiperventilaciju, pri čemu pojačanje ove reakcije nije zavisilo od uzrasta bolesnika.

U 10 bolesnika (8%) u EEG-u je nađena paroksistička aktivnost signifikantna za epilepsiju (šiljci, šiljak-talas kompleksi, generalizovani paroksizmi sporih i brzih frekvencija). Autori smatraju da je u ovim slučajevima racionalnije da se prihvati pretpostavka o epilepsiji nego o funkcionalnom oboljenju, te da u tom smislu treba usmjeriti i terapiju.

ELECTROENCEPHALOGRAPHIC INVESTIGATIONS IN PATIENTS WITH PAROXYSMAL HEMICRANIA

SUMMARY

Electroencephalographic examinations were carried out in 129 patients with paroxysmal hemicrania where investigation showed no underlying structural pathology. In 58 patients (45%) the EEG was abnormal. The incidence of abnormal EEG-s in the group of male patients was almost as high as in the group of female patients.

In 48 cases (37%) electroencephalographic changes were non-specific, consisting of occurrence of theta and delta waves, and in 9 patients also of the occurrence of beta activity. 33 patients (25%) manifested an intensified reaction to electroencephalographic hyperventilation, whereby the intensification did not depend on the patient's age.

Paroxysmal activity significant for epilepsy was found in 10 patients (8%). The authors believe that in such cases it is rather reasonable to suppose epilepsy as the basis of paroxysmal headaches and, accordingly, to attempt adequate treatment.

LITERATURA

- 1) Dow D. Y. and Whitty C. W. M.: Lancet 2, 52 (1947).
- 2) Ulett G. A., Evens D. and O'Leary J. L.: Electroenceph. clin. Neurophysiol. 4, 463 (1952).
- 3) Weil A. A.: Electroenceph. clin. Neurophysiol. 4, 181 (1952).
- 4) Heyck H.: Neue Beiträge zur Klinik und Pathogenese der Migräne, Georg Thieme, Stuttgart (1956).
- 5) Selby G. and Lance J. W.: J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 23, 23 (1960).
- 6) Wissfeld E. und Neu O.: Nervenarzt 31, 418 (1960).
- 7) Smyth V. O. G. and Winter A. L.: Electroencephal. clin. Neurophysiol. 16, 194 (1964).
- 8) Giel R., Vlieger M. and Vliet A. G. M.: Electroencephal. clin. Neurophysiol. 21, 492 (1966).
- 9) Slater K. H.: Brain 91, 85 (1968).
- 10) Hill D. and Parr G.: Electroencephalography, a symposium on its various aspects, MacMillan, New York (1963).
- 11) Towle P. A.: Electroencephal. clin. Neurophysiol. 19, 390 (1965).
- 12) Camp W. A. and Wolff H. G.: Arch. Neurol. (Chicago) 4, 475 (1961).
- 13) Gibbs F. A. and Gibbs E. L.: Atlas of Electroencephalography, Vol. I, Addison-Wesley, Cambridge (1950).
- 14) Lericque-Koechlin A. et Mises J.: Electroencephal. clin. Neurophysiol. 16, 203 (1964).
- 15) Kugler J.: Electropencephalographie in der Klinik und Praxis, Georg Thieme, Stuttgart (1963).



PAVAO ŠTERN I ENISA BAŠAGIĆ

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 adenektomirani 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 adenektomirani 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 povisuje 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 serotonin⁹, pa smo vršili eksperimente za izazivanje astme na mišu i serotoninom. Isto tako, interesiralo nas je djelovanje bradikina, 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 bradikina »SANDOZ«*). Od AR-a upotrijebili smo Kö 592 /1-(3-Methylphenoxy)-3-isopropylaminopropanol(2)-Hydrochlorid¹⁸ i propraranol¹⁹ /1-isopropilamino-3-(1-naphthyl-oxy)-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.

Zaštitna supstanca	Broj životinja u svakoj pojedinoj grupi	Kö 592 100 mg/kg i. p.			Propranolol 10 mg/kg i. p.			Opaska
		Hi-sta-min	Se-ro-to-nin	Bra-diki-nin	Hi-sta-min	Se-ro-to-nin	Bra-diki-nin	
Mepiramin 40	12	—	○	○	—	○	○	
BOL 2	12	○	—	○	○	—	○	
Aspirin 25	12	○	○	—	○	○	—	
Atropin 5	12	○	○	○	○	○	○	
Kontrole	16	○	○	○	○	○	○	0,1% otopina H također izaziva astmatički napad, ali slabiji nego kod inhalacije 1% H
		Kontrolni miševi koji nisu tretirani za AR						
Kontrole	20	—	—	—				

○ = nema zaštite, tj. razvija se astmatičko disanje

— = zaštita

REZULTATI

Kako se vidi iz priložene tabele, miševi tretirani bilo sa H ili serotinom 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 serotina 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 acidumacetylosalicilikum 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 astmatskog 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.

Astmatski 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 astmatsko 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 dijaminooxidase 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 astmatskog 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 astmatskima²⁹.

SADRŽAJ

Pokazano je da adrenergički beta-blokeri (Kö 592, propraranol), za koje se zna da senzibiliziraju miša na histamin i serotonin, omogućavaju da se na toj životinji izazove astmatičko disanje inhalacijom histamina, serotoninina ili bradikininina. 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, propraranol), 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).



SEID HUKOVIĆ I K. U. MALIK*)

UTICAJ ETANOLA NA RESORPCIJU HISTAMINA I GLUKOZE KROZ SEGMENT IZOLIRANOG ILEUMA IN VITRO

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

UVOD

Etanol zahvaljujući svojim fizikalno-hemijskim svojstvima veoma lako i brzo difundira kroz lipoidne membrane stanica. Povoljna fizikalno-hemijska svojstva etanola za pasažu kroz membrane su: mala i nedisocirana molekula, mali polaritet, topivost u vodi i lipoidima i dr. Etanol ne samo što lagano prolazi kroz mukozu crijeva nego, također, može da povećava prolaz drugih supstanci kroz razne membrane, pa čak i kroz hemoencefaličnu barijeru. Lee (1962) je injicirao kunićima u arteriju karotis komunis određenu koncentraciju etanola i ustanovio je povećan permeabilitet za bjelančevine. Pretpostavlja se da je centralni nervni sistem (CNS) pod uticajem etanola mnogo vulnerabilniji za bakterijske toksine i neurotrofske viruse, koji bez uticaja etanola ne bi mogli preći u CNS.

Danas se mnoge patološke promjene dovode u vezu sa histaminom. Premda je biogeneza histamina u tkivima dobro proučena, postoje dokazi da se kod psa, mačke i čovjeka histamin stvara dekarboksilacijom iz histidina u lumenu gastrointestinalnog trakta, odakle se resorbira u organizam. Histamin se može resorbirati u organizam iz GIT-a iz hrane. Poznata su masovna trovanja resorbiranim histaminom iz hrane, kao, npr., tunjevinom (Jovanović, 1957). Prema Watsonu (1963), histamin se u organizmu čovjeka pretežno dobiva resorpcijom iz GIT-a. Pošto su patološke promjene, kojima je vjerovatno osnovna oslobađanje histamina, veoma frekventne i pošto je veoma frekventno uzimanje većih ili manjih količina etanola, cilj ovog rada je ispitivanje uticaja etanola na prolaz histamina kroz ileum zamorca in vitro.

Glukoza je glavni izvor energije za resorptivne procese i glavna nutritivna supstanca uopšte. Ranije je pokazano da je glukoza potrebna za resorpciju kroz mukozu, i to posebno protiv koncentracionog gra-

*) K. U. Malik je specijalizant iz Republike Pakistan.

Izrada ovog rada je potpomognuta od strane Republičkog fonda za naučni rad SRBiH.

dijenta (Barry et al., 1963). Pored glukoze za resorpciju je potreban ion natrija (Csaky and Thale, 1960). S obzirom na značaj glukoze za resorpciju i dobivanje energije, želi se također ispitati uticaj etanola na prolaz glukoze kroz ileum in vitro, pogotovu zbog toga što je poznato da niz hemijskih najrazličitijih supstanci može mijenjati resorpciju glukoze iz GIT-a, kao, npr., srčano aktivni glikozidi (Csaky et al., 1961, Csaky, 1963) i površinske aktivne supstance (Nissim, 1964).

Kako se može vidjeti, prisustvo etanola u probavnom traktu može usloviti bržu ili slabiju resorpciju nutritivnih i toksičkih supstanci. Cilj ovog rada je da se ustanovi uticaj etanola dodatog skupa sa histaminom i glukozom na prolaz histamina i glukoze kroz zid crijeva in vitro.

METODA

Odmah nakon dekapitacije zamoraca, teških 500—700 g, uzme se segment ileuma, duljine 4 cm, navuče se i fiksira na donji krak staklene U-cijevi. Na mjestu čvrste fiksacije crijeva nalaze se otvori u cijevi, tako da sluznica dolazi u kontakt sa sadržajem crijeva; kroz cijev preko rezervoara od 30 ml cirkuliše Tyrodeova otopina. Pri ispitivanju prolaza glukoze, uzima se otopina bez glukoze u koju se zatim stavlja glukoza u koncentraciji od 120 mg/ml. Histamin se stavlja u finalnoj koncentraciji 0,1 mg/ml, a etanol 4 mg/ml. Čitav sistem se zaroni u posudu za izolirane organe, volumena 30 ml, u kojoj se nalazi Tyrodeova otopina, koja se miješa i aerira sa karbogenom. Temperatura otopine je $35^{\circ}\text{C} \pm 0,1$.

Prilikom ispitivanja prolaza histamina sa mukozne na seroznu stranu fiksanog segmenta ileuma, uzima se drugi komad ileuma, koji se nalazi u istoj posudi i koji je povezan sa frontalnom pisaljkom za registraciju kontrakcije. U posudu za izolirane organe, pomoću infuzione pumpe, infundira se tačno određena koncentracija histamina i ustanovi se odnos između količine infundiranog histamina i visine kontrakcije. Izabere se zatim ona koncentracija histamina koja daje 50% maksimalne koncentracije i stalno infundira. Svake 3 min. posuda se ispira, ileum se relaksira na kontrolne vrijednosti, a pod uticajem kontinuirano infundiranog histamina ponovno se kontrahira u roku od 3 min., ponovno se ispira, i tako se ponavlja. Kada se kontrakcije ileuma indikatora ujednače, u posudu se dodaje etanol da se ustanovi uticaj etanola na kontrakcije izazvane histaminom.

Nakon što se ustanovi uticaj etanola na kontrakcije izazvane histaminom, u lumen cijevi, odnosno u lumen crijeva doda se 0,1 mg/ml histamina i ispituje se prolaz histamina kroz zid crijeva. Posuda se ispira svake 3 minute. Kada se ujednače kontrakcije, u cijev se doda 4 mg/ml etanola i promatra se uticaj ovog etanola na prolaz histamina i konsektivno izazvane kontrakcije histaminom indikator-organa.

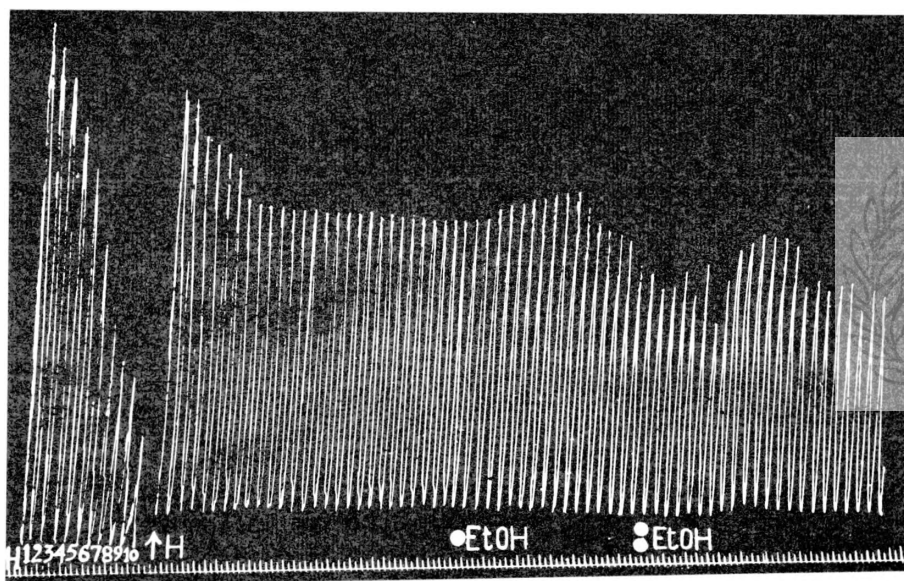
Za ispitivanje prolaza glukoze pod uticajem etanola prvo se ustanovi prolaz glukoze u koncentraciji od 150 mg/ml kroz kontrolno crijevo, a zatim kroz crijevo u koje je dodato 4 mg/ml etanola. Glukoza se utvrđuje kolorimetrijskom metodom, čiji se princip sastoji u stva-

ranju metilfurfurola; pod uticajem koncentrovane sumporne kiseline stvara se ružičasta boja koja se može kolorimetritirati (M e n d e l, K e m p and M y e r s, 1954).

Prolaz histamina i glukoze se izračunava na cm^2 crijeva u minuti. Izračunata je srednja vrijednost, standardna greška srednje vrijednosti (SE), procent povećanja prolaza i standardna greška srednje vrijednosti procenta povećanja ($\bar{x} \pm \text{SE}$).

REZULTATI

Infundirani histamin u posudu za izolirane organe u koncentraciji 0,03 mg/ml izaziva vidne kontrakcije ileuma. Nakon ispiranja posude svake 3 minute ileum se relaksira na polaznu liniju. Postoji pravolinijski odnos između logaritma koncentracije infundiranog histamina i visine kontrakcije (slika 1).



Slika 1.

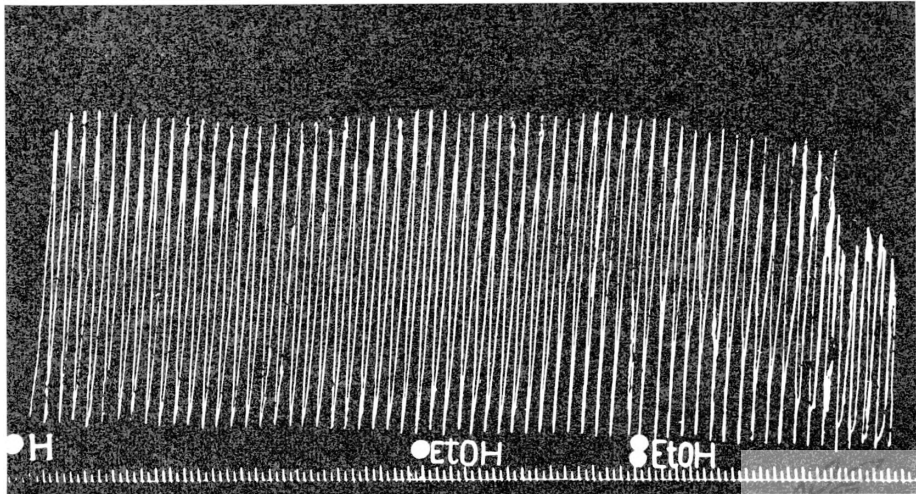
Kontrakcije ileuma izazvane infuzijom histamina (lijeva strana slike) i difundiranim histaminom kroz zid crijeva (desna strana slike). Kod tačke EtOH dodato 4 mg/ml, a kod dvotačke EtOH dodato 16 mg/ml stanola u ileum crijeva. Vidi se da je difuzija pojačana.

Etanol dodat u koncentraciji od 16 mg/ml ne utiče na kontrakcije izazvane histaminom. U većim koncentracijama smanjuje osjetljivost segmenta prema histaminu (sl. 2).

Histamin apliciran u lumen crijeva u koncentraciji od 0,1 mg/ml difundira kroz zid ileuma sa mukozne na seroznu stranu u prosjeku od $48,9 \pm 8,12$ ng/min/cm² (tabela 1).

Etanol dodat u lumen crijeva u koncentraciji od 4 mg/ml povećava prolaz histamina, kako se može vidjeti na slici 1. Na svih 6 ispi-

tivanih segmenata crijeva ustanovljen je pojačan prolaz histamina. Na tabeli 1 vidi se da pod uticajem etanola prolaz histamina iznosi u prosjeku $55,1 \pm 5,56$ ng/min/cm². Poslije početnog povećanja kontrakcija, vidi se smanjenje. Redukcija kontrakcija je rezultat smanjene osjetljivosti prema histaminu.



Slika 2.

Uticaj etanola na kontrakcije ileuma izazvane histaminom: kod tačke EtOH dodato je 4 mg/ml, a kod dvotačke EtOH dodato je 18 mg/ml etanola.

Tabela 1.

PROLAZ HISTAMINA I GLUKOZE KROZ ZID KONTROLNOG ILEUMA I ILEUMA U ČIJI JE LUMEN DODAT ETANOL (ng/min/cm²)

Supstanca	Kontrola	Etanol 4 mg/ml	Povećanje u %
Histamin (0,1 mg/ml)	48,9 ± 8,1	55,1 ± 5,6	12,71 ± 1,17
Glukoza (0,15 g/ml)	40,9 ± 2,8	50,9 ± 3,7	24,20 ± 1,86

Etanol apliciran u lumen crijeva u koncentraciji od 4 mg/ml povećava prolaz glukoze. Kroz zid kontrolnog ileuma glukoza prolazi u koncentraciji od $40,9 \pm 2,8$ ng/min/cm². Kada se u lumen ileuma doda etanol, glukoza prolazi u prosjeku u koncentraciji $50,9 \pm 3,7$. Etanol dodat u lumen crijeva 4 mg/ml povećava prolaz glukoze za 24,20% ($\pm 1,86$), a histamina za 12,71% ($\pm 1,17$).

DISKUSIJA

Nakon što je konstruisana jednostavna aparatura za mjerenje prolaza raznih supstanci sa mukozne na seroznu stranu izoliranih segmenata crijeva, ustanovljeno je da histamin prolazi najjače kroz zid ileuma u odnosu na druge ispitivane segmente (Malik, 1966). Histamin

dotat skupa sa etanolom prolazi za 12,71% brže kroz zid ileuma, a glukoza dodata skupa sa etanolom prolazi brže kroz zid ileuma sa mukozne na seroznu stranu za 24,2%. Etanol od 16 mg/ml ne mijenja osjetljivost i visinu kontrakcija ileuma izazvanih histaminom.

Histamin je ubikvitarna supstanca u biljnom i životinjskom svijetu. U organizam čovjeka može lako da dođe iz hrane ili iz histidina, kojeg ima mnogo u hrani. Dekarboksilacija je pod uticajem normalne crijevne flore (W a t o n, 1963). Budući da se drži da je biohemijski ekvivalent niza patoloških procesa histamin, to je etanol, koji se veoma frekventno uzima, značajna supstanca za nastajanje, odnosno stimulaciju patoloških procesa, kojima je u osnovi oslobađanje histamina ili njegovo nagomilavanje. U ovom radu je prikazano da se histamin brže resorbira pod uticajem etanola, pa se prema tome više i gomila u organizmu. U ovom radu je ustanovljeno da amin histamin ubrzano prolazi pod uticajem etanola, a ne samo da postoji ubrzana pasaza aminokiselina, kako je našao S p e n c e r (1964).

Pacijenti alkoholičari obično imaju nutritivne i druge smetnje organa trbušne šupljine. Osnova ovim simptomima je poremećaj respiracije i multipna angažovanost organa pod uticajem etanola. H u k o v i ć, M a l i k i S m a j k i ć (1967a, 1967b) su pokazali da etanol inhibira nervnu transmisiju izoliranih organa, i da prolazi u dovoljnoj koncentraciji kroz ileum zamorca da izazove pomenutu inhibiciju transmisije nerv—glatki mišić. Inhibitorno djelovanje je izrazito na organe u trbušnoj šupljini — crijevo i duktus deferens. Sa druge strane, glatka muskulatura mokraćnog mjehura, pluća i krvnih žila se kontrahira pod uticajem etanola (H u k o v i ć i R u s t a n b e g o v i ć, 1967).

Povećanje prolaza amina pod uticajem etanola može jako komplicirati tumačenje pojedinih simptoma, jer oni sa svoje strane mogu da djeluju na organe u trbušnoj šupljini. Sluznica crijeva je normalna barijera za prelaz u organizam nizu toksičnih supstanci koje se nalaze u sadržaju crijeva. Mnogi amini iz sadržaja crijeva pod uticajem etanola mogu prodrijeti kroz ovu barijeru i doći u razne organe, pa čak i u CNS, jer, kako je pokazao L e e (1962), etanol utiče na propustljivost hemoencefalične barijere. Etanol, prema tome, monificira funkcije per se, ali isto tako poremećajem resorpcije iz crijeva mora da mijenja normalne reakcije pojedinih organa in situ, kako je to pokazano in vitro.

Z A K L J U Č A K

Pomoću jednostavne aparature ispitivan je prolaz histamina i glukoze kroz zid ileuma zamorca pod uticajem etanola in vitro.

Količina histamina koji prolazi kroz zid crijeva određivana je simultano biološkom metodom na ileumu zamorca, a količina glukoze je određivana pomoću mikrokolorimetrijske metode. Nađeno je da etanol povećava prolaz histamina za 12,71%, a glukoze za 24,20%.

Etanol djeluje direktno i indirektno na glatkomišićne organe in situ. Direktno djelovanje dovodi do spazma ili spazmolize mišića; indirektni efekt etanola nastaje pod uticajem promjene resorpcije aktivnih supstanci iz lumena crijeva.

**EFFECT OF ETHANOL ON THE PASSAGE OF HISTAMINE
AND GLUCOSE ACROSS THE ISOLATED ILEUM OF GUINEA
— PIG IN VITRO**

SUMMARY

The passage of histamine and glucose have been investigated quantitatively across the ileal wall of guinea — pig under the influence of ethanol in vitro using a simple apparatus. The amount of histamine passing the intestinal wall have been estimated simultaneously and instantly by a biological method using ileum of guinea-pig. The amount of glucose passing the intestinal wall was estimated by a micro — colorimetric method. It has been found that ethanol increase the passage of histamine and glucose across the ileal wall to 12,71% and 24,20% respectively.

Ethanol caused direct and indirect effect on the smooth muscle organs in situ. Direct effects were spasm or relaxation of muscle. Indirect effect of ethanol was induced by the change of resorption of different active substances from intestine.

LITERATURA

1. Barry, R. J. C., Smyth, D. H., and Wright, E. M.: Short circuit current and jejunal transfer of fluid and solute in vitro, *J. Physiol. (London)* 168, 1963, 50p—51p.
2. Csaky, T. Z., and Thale, M.: Effect of ionic environment on intestinal sugar transport, *J. Physiol. (London)* 151, 1960, 59—65.
3. Csaky, T. Z., Hartzog, H. G., and Fernald, G. W.: Effect of digitalis on the active intestinal sugar transport. *Am. J. Physiol.*, 200, 1961, 459—460.
4. Csaky, T. Z.: The effect of digitalis upon the biological transfer mechanisms in the small intestine, *Proceedings of the First International Pharmacological Meeting*, 3, 1963. 225—231. Pergamon press, N. Y.
5. Huković, S., Malik, K. U., and Smajkić, A.: The inhibitory effect of alcohol on nerve transmission of isolated innervated Oesophagus, Ileum, Urinary bladder and Vas deferens, *Alcoholism* 3, 1967, 1—7.
6. Huković, S., Malik, K. U. i Smajkić, A.: Prelaz etanola kroz zid crijeva i njegov uticaj na susjedne organe u trbušnoj šupljini, *Anali Bolnice »Dr M. Stojanović«* 6, 1967, 305—309.
7. Huković, S. i Rustembegović, F.: Periferno spastičko djelovanje etanola u kardiovaskularnom, respiratornom i digestivnom traktu, *Med. zbornik* 5, 1967, 21—27.
8. Jovanović, L.: Trovanje aminskim bazama (histaminom) u hrani, *Prehrambena industrija* br. 1, Beograd, 1957, 121—125.
9. Lee, J. C.: Alcohol and blood — brain barrier. *Quart. J. Stud. Alcohol.* 23, 1962, 4—15.
10. Malik, K. U.: Permeability of drugs through body membranes under the influence of stimulation of respective nerves and some active substances. Doctorate thesis. Faculty of Medicine, University of Sarajevo, 1966.

11. Malik, K. U., and Huković, S.: Permeability of histamine across the intestine under the influence stimulation of autonomic nerves in vitro. *Naunyn — Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path.* 257, 1966, 42—43.
12. Mendel, B., Kemp, A., and Myers, D. X.: A colorimetric micro-method for the determination of glucose, *Biochem. J.* 56, 1954, 639—646.
13. Nüssim, J. A.: Mechanism of intestinal absorption: The concept of a spectrum of intracellular plasma, *Nature* 204, 1964, 148—151.
14. Spencer, R. P.: Spatial distribution of intestinal activities, *Yale J. Biol. Med.* 36, 1964, 279—294.
15. Waton, N. G.: Is tissue histamine formation necessary in cat, dog and mon? — *International Arch. Allergy* 22, 1963, 87—101.



PAVAO ŠTERN I RAJKO IGIĆ

**DJELOVANJE TRICIJANO-2-AMINO-1-PROPENA
I Na-FERICIJANIDA NA TRANSPLANTABILNE MALIGNNE
TUMORE ŽIVOTINJA^{*)}**

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 20. XI 1968. g.)

Hyden i Hertelius našli su da malono-di-nitril povećava količinu nukleoproteina u nervnim stanicama¹. Kasnije su Eghazy i Hyden² korigirali to mišljenje i pokazali da nije malono-di-nitril ona supstanca koja tako djeluje, nego tricijano-2-amino-1-propen (TAP) jedno onečišćenje, koje dolazi u malono-di-nitrilu, a predstavlja njegov dimer. Davanzo i saradnici³ mogli su potvrditi nalaze Eghazy i Hydena, a i neki naši pokusi govore u tom smislu⁴.

Iz tih razloga smatrali smo da bi bilo interesantno ispitati efekt TAP-a na rast malignih ćelija. Posve spekulativno promatrano, moglo se očekivati da bi TAP mogao ubrzati rast tumora zbog sinteze nukleinskih kiselina, ali je isto tako postojala mogućnost da se pokaže i suprotan efekt ovog spoja. Osim toga, smatrali smo interesantnim ispitati i druge supstance kemijski srodne TAP-u, polazeći od osnovne pretpostavke da bi se među njima možda moglo naći spojeva koji ubrzavaju ili inhibiraju rast malignih stanica.

Promatrajući sa posve fundamentalnog stanovišta, interesantne su i supstance koje su u stanju ubrzati rast tumora, jer mogu poslužiti kao model za ispitivanje antitumoroznog djelovanja drugih supstanci.

Nas je interesiralo, osim toga, i djelovanje TAP-a i njegovih srodnika u kombinaciji sa već poznatim citostaticima za koje znamo da utiču na rast tumora preko djelovanja nukleinskih kiselina. I tu se, naime, može očekivati i inhibitorno ili pojačano djelovanje citostatika, što bi moglo doprinijeti boljem razumijevanju farmakodinamike nekih citostatika. Mi smo se, uglavnom, služili ciklofosamidom (C), jednim dobro poznatim sredstvom protiv malignih tumora⁵.

Za TAP je potrebno naglasiti da se već uspješno upotrebljava u humanoj terapiji kao sredstvo kod hipertiroidizma⁶. Prema tome, mogli bismo bez straha ovu supstancu, ukoliko bi eksperimenti pokazali upotrebu, ispitati na klinici. Kako smo već u početku rekli, ispitivali smo

^{*)} Materijalna sredstva za ovaj rad dobivena su od Saveznog fonda SFRJ, a dijelom i od Akademije nauka i umjetnosti BiH.

i druge supstance slične TAP-u. Ta se srodnost odnosila samo na cijanske grupe. Iz tih razloga uzeli smo prvenstveno u razmatranje natrijum-nitro-fericijanid (NNP), jednu supstancu koja je također bogata CN-skupinama, ali koja se, isto kao i TAP, već upotrebljava u terapeutske svrhe kod ljudi⁷. Tako je, npr., NNP, prema Pageu⁸, najbolje hipotenzivno sredstvo, iako se, mora se priznati, vrlo malo upotrebljava. Međutim, razlozi su više ekonomski nego medicinski.

Osim TAP-a, ispitali smo i njegove srodnike:

- I. 3,4-dihidroksukumarin-4-amid cijansirćetna kiselina
- II. 3,4-dihidroeskuletin-4-amid cijansirćetna kiselina
- III. 3,4-dihidroeskuletin-4-/1'3'3'-trician-aminopropen*)

Osim toga, ispitali smo sam malono-di-nitril.

Od hemijskih srodnih spojeva NNP-a ispitali smo natrijum ferocijanid i natrijum fericijanid, koji za razliku od NNP-a nemaju u molekuli nitro-skupinu, ali imaju cijano-skupine.

Mi smo se u našem radu služili Ehrlichovim ascites karcinomom (EAK)⁹ i Yoshida-ascites sarkomom (YAS)¹⁰. Isto tako, upotrijebili smo mišju limfatičku leukemiju LY 1210¹¹ i Shay mieloičku leukemiju štakora¹², kao i limfatičnu leumeiju miša NK Ly¹³.

Ascites smo preferirali u odnosu na solidni tumor zato što smo na taj način uvijek mogli presaditi poznati broj malignih stanica. Osim toga, pokazalo se da ascites mnogo pravilnije raste nego solidni tumor i da je vrijeme uginjavanja životinja mnogo ravnomjernije nego kod solidnih tumora. Presađivanje svih tumora vršili smo uvijek pod maksimalno mogućim sterilnim uvjetima.

Životinje su narkotizirane eterom, instrumentima skinuta je koža abdomena i punktira se kroz mišićnu stijenku, izvuče se ascites, te izbroje stanice. Mišu i štakoru injicirano je oko 3—4 miliona supkutano, ukoliko nije drukčije označeno. Promatrana je brzina rasta tumora, tj. obujam abdomena i dan uginuća. Pokusi su vršeni uvijek na Wistar-štakorima oba spola, težina 120—150 g. Miševi (soj: Zavod za medicinska naučna istraživanja, Novi Sad) su bili također oba spola, težine 18—22 g. Štakori i miševi hranjeni su kolačićima »Kalinovica« uz vodu ad libitum. Životinje su držane ljeti i zimi pri sobnoj temperaturi od 18° C.

Limfatičku leukemiju 1210 miša ispitivali smo na DBA-sojevima (crni miševi). Sedmi dan nakon infekcije miš se žrtvuje, izvadi mu se slezena, razriba u tarioniku i doda se nešto fiziološke otopine. Sad se izbroje leukemičke stanice u komori za eritrocite. Iza toga se otopina sa malignim stanicama razrijedi do potrebne koncentracije i injicira i. p. mišu i promatra vrijeme uginuća. Kontrole uginjavaju 8—10. dan. Mi smo davali obično oko 1,200.000 stanica na čitavu životinju.

NK Ly predstavlja također limfatičku leukemiju; ovaj tumor dolazi u formi ascitesa kod miša. Za presađivanje uzima se 0,2 cc ascitesa i doda 3 cc fiziološke otopine. Od toga se daje 0,5 cc i. p. na čitavu

*) Supstance pod brojem I, II i III sintetizirala je doc. dr J. Grujić-Vasić.

životinju. Obično se mjeri i težina životinje. Kontrole uginjavaju oko 12. dana.

Shay-chloroleukemija (štakori). Cijeli solidni tumor se izvadi, malo isitni i zatim istrlja u tarioniku. Doda se cca 10 ml fiziološke otopine i filtrira kroz gazu. Od toga se injicira po 0,3 ml i. p. na mladim štakorima, starim dvije sedmice. Kontrole žive otprilike 10 dana.

Shay solidni tumor treba uvijek održavati na starim štakorima, pa se odande presađuje na mlade štakore i. p. prema potrebi. Solidni tumor na odraslim štakorima se prenosi tako da se isjecka tkivo i pomoću troakara transplantira u kožu leđa.

Po pravilu, ispitivane supstance su davane istovremeno kad i presađen tumor, a u nekim pokusima 24—48^h i 6 dana kasnije. U nekim eksperimentima supstance su miješane prije presađivanja sa ascitesom da bi se vidio eventualni direktni efekt supstance na maligne stanice. Maksimalna doza TAP-a i NNP-a uzeta je iz podataka iz literature^{6, 8}.

Ispitan je uticaj obiju ovih supstancu na broj leukocita u kroničnom davanju tokom 30 dana na štakorima. Istovremeno su praćeni potrošnja hrane, težina i ponašanje tih životinja. Na kraju četvrtog tjedna izvršena je sekcija i makroskopski su pregledani svi organi. Potrošnja hrane mjerena je metodom Farnera¹⁴.

REZULTATI

Pokusi sa TAP-om.

Kako se vidi iz priložene tabele I, kontrolni miševi sa Ehrlich-ascites tumorom žive prosječno 10—11 dana. Miševi tretirani sa TAP-om žive prosječno 13—14 dana. 5 mg/kg i 2,5 mg/kg ne zaštićuju životinju, ali ascites u momentu uginuća nije tako razvijen kao kod kontrola. Kod životinja sa 10 mg/kg TAP-a, dakle, doza koja produžava život, ascites je također smanjen.

Ciklofosfamid 2,5 mg/kg potpuno zaštićuje životinje od rasta EAT. One su proživjele i 4 tjedna, i dalje ih nismo promatrali. U kombinaciji sa TAP-om 10 mg/kg i ciklofosfamidom 2,5 mg/kg zaštitni efekt se nije povećao, pa su životinje uginjavale već 14. dan. Ako se doza ciklofosfamida smanji na 1 mg, a TAP daje 10 mg ili 2,5 mg, život Ehrlich ascites carcinoma miševa skraćuje se čak na 7 dana. Iz toga se može zaključiti da kombinacija TAP-a sa ciklofosfamidom čak pogoršava terapijski efekt ciklofosfamida. Potpuno isti efekt smo dobili i sa mielobromolom (M), jednim drugim citostatikom¹⁵. Sam M u dozi od 75 mg/kg potpuno zaštićuje životinje od uginuća, tj. životinje žive dulje od 4 tjedna. U kombinaciji M sa TAP-om 10 mg/kg životinje također žive samo 7 dana.

Poznato je da je SKF-525-A jedna supstanca koja jako protrahira razgradnju nekih farmaka¹⁶. Iz tih razloga mi smo pokušali ispitati da li će SKF-525-A potencirati djelovanje TAP-a. Sam SKF-525-A u dozi od 50 mg/kg produžio je život EAT-miševima svega za 1 dan. Isto je tako i u kombinaciji sa TAP-om 10 mg/kg.

Tabela I

TAP Doza mg/kg	Broj životinja	Citostabik	Dan uginuća	Primjedba
	60		10—11	
10	86		13—14	ascitesa manje nego kod kontrola
5	12		10	"
2,5	12		10	"
	24	C 2,5	živi više od 28 dana	
10	24	C 2,5	14	
	24	C 1,0	10—11	
10	24	C 1,0	7—8	
	10	M 75	živi više od 28 dana	
10	10	M 75	7	
	15	SKF 525-A	11	
10	15	SKF 525-A	12	
10	12		10—11	TAP dan 24 ^h poslije transplantacije tumora
10	12		10—11	TAP dan 48 ^h poslije transplantacije tumora

Ako se TAP injicira 24^h ili 48^h iza presađivanja tumora, zaštitnog efekta nema.

Srodnike TAP-a spomenute u uzorku pod brojem I, II i III ispitivali smo također na Ehrlich ascites carcinomu i Yoshida sarkomu u dozi od 2,5 i 5 mg/kg i. m. Te su supstance bile bez ikakvog efekta. Ove supstance su netopive u vodi, pa smo ih dali u oleum olivae i. m.

Od drugih spojeva slične konstitucije, kako smo rekli, ispitivali smo NNP (tabela II). Ova supstanca sama u dozi od 2,5 mg/kg produžuje život EAT-miševa do 18—19 dana, ako se daje s. c., dok kontrole žive 10—11 dana; 1 mg/kg NNP produžuje život za circa 6 dana, a 0,5 mg je bez efekta. Interesantno je da intravenozno davanje NNP-a u dozi od 2,5 mg produžuje život svega za 4 dana. Vjerovatno je ta doza dana i. v. pretoksična. Dok 1 mg i. v. produžuje život za 6 dana kao i kod s. c. davanja, 0,75 mg i. v. i 0,5 mg i. v. su bez efekta. Kombinacija NNP-a 2,5 mg i TAP-a je uopće bez efekta. Očito se vidi da je kombinacija ovih dvaju spojeva toksičnija nego oni sami zasebno.

Tabela II

NNP Doza mg/kg	Broj životinja	Citostatika	Dan uginuća	Primjedba
	48		10—11	
2,5	30		18—19	
1	30		16	
0,75	30		11	
0,50	30		11	
2,50	10		14	i. v.
1,0	10		16	i. v.
0,75	20		11	i. v.
0,50	20		11	i. v.
2,5 + TAP 10	12		6	
2,5 + TAP 5	12		5	
2,5 + TAP 2,5	12		11	
2,5	20	C 2,5	svi živi	
2,5	20	C 1,0	16	
2,5	12		16	24h nakon transplantacije
2,5	12		14	48h nakon transplantacije
2,5	12		11	6 dana nakon transplantacije
2,5 Kaliumferocijanid	12		10	
2,5 Kaliumferocijanid	12		10	

Kombinacija najdjelotvornije doze NNP-a sa nedjelotvornom dozom ciklofosfamida 1 mg ne potencira djelovanje NNP-a. Ako se NNP daje 24 ili 48 sati prije presađivanja tumora, efekt zaštite je očevidan. Ako se NNP aplicira šesti dan iza presađivanja, zaštitni efekt se gubi.

U jednoj seriji pokusa miješali smo količinu stanica koje presađujemo (u volumenu od 2 ml) sa TAP-om ili NNP-om, tako da je kon-

centracija u ascitesu bila 10^{-5} ili 10^{-6} . Takav ascites smo držali 15 min. u termostatu od 38° i onda presadili. U jednom i drugom slučaju transplantat se primio.

Kako se vidi iz priloženih tabela III i IV, niti NNP, niti TAP ne obaraju broj leukocita štakora ni nakon 4 tjedna davanja. Opazili smo samo da su životinje na koncu četvrtog tjedna bile iste težine, dok su kontrole u isto vrijeme porasle za 15—22 g, apetit im je oslabio; inače, u ponašanju grupa nismo zapazili ništa karakteristično. Kod sekcije nisu također nađene nikakove promjene na unutrašnjim organima.

Tabela III
TAP 10 mg/kg
Broj leukocita

	Normalne vrijednosti	Nakon 7 dana	Nakon 14 dana	Nakon mjesec dana
1.	12,300	12,000	13,100	11,800
2.	11,100	10,000	11,600	12,000
3.	9,900	10,200	10,400	11,000
4.	10,400	12,100	12,500	12,100
5.	10,900	11,700	11,300	11,800
6.	11,400	11,200	10,700	9,400

Tabela IV
NNP 2,5 mg/kg i. p.
Broj leukocita

	Normalne vrijednosti	Nakon 7 dana	Nakon 14 dana	Nakon mjesec dana
1.	11,850	8,600	9,550	10,650
2.	12,350	12,200	8,450	14,300
3.	13,950	10,300	9,200	8,300
4.	9,150	10,400	13,800	10,150
5.	8,050	9,000	7,750	11,700
6.	10,250	10,300	8,550	16,000

Iz tabele V se vidi da TAP ne zaštićuje životinje od rasta transplantata YAS. NNP je pokazao slabiji zaštitni efekt na YAS nego na EAC ako se uzme doza od 2,5 mg/kg, dok 1 mg nema više nikakvog efekta.

Kako se vidi iz tabele VI, TAP je potpuno bez efekta i u dozi od 5 i od 10 mg/kg na limfatičku leukemiju miša LY 1210. Međutim, posve je druga situacija kod NNP-a. Ova supstanca izrazito produžuje

u dozi od 2,50 mg/kg život DBA-miševa, dok oni normalno uginjavaju za 8 do 10 dana; od ove doze uginuli su tek za 25 dana.

Tabela V

Supstanca Doza mg/kg	Broj životinja	Dan uginuća	Primjedba
Kontrola	15	10—11	Yoshida sarkom
TAP 10	15	10—11	„
NNP 2,50	12	16—17	„
NNP 1,0	12	10	„
NNP	10	16—17	Dano 48 ^h prije presađivanja tumora

Tabela VI
Ly 1210

Supstanca	Doza mg/kg	Broj presađenih leukocita	Dan uginuća pokus. život.	Dan uginuća kontrola
TAP	5	1,200.000	10	10
TAP	10	1,200.000	10	10
NNP	1	1,200.000	12	10
NNP	2,5	1,200.000	25	10



Kod NK Ly-leukemije miša TAP također nema efekta. Od 1 mg, dapače, tumori pokusnih životinja brže rastu od kontrola. NNP u dozi od 1 mg izrazito produžuje život miša za 4 dana u odnosu na kontrole, dok je doza od 2,50 mg ove vrste tumora pretoksična, tako da ove pokusne životinje uginjavaju prije kontrola (tabela VII).

Tabela VII
NK Ly

Supstanca	Doza	Dan uginuća pokus. životinja	Dan uginuća kontrola	Primjedba
TAP	10	12	12	Pokusni imaju daleko više ascitesa od kontrola
NNP	1	16	12	
NNP	2,5	7	12	pretoksična doza

Tabela VIII
Shay Chloroleukemija

Supstanca	Doza	Dan uginuća pokus. životinja	Dan uginuća kontrola	Primjedba
TAP	10	14	13	Tumori kontrola i pokus. životinja otprilike jednako velike
NNP	1	14	14	„
NNP	2,5	14	14	„

Kako se vidi iz tabele VIII, na Shay-leukemiju štakora ni TAP, ni NNP nemaju nikakvog efekta.

DISKUSIJA

Iz naših rezultata proizlazi da i TAP i NNP zaštićuju životinje od rasta transplantiranog Ehrlich karcinoma, a NNP i od rasta Yoshida sarkoma. NNP se pokazao efikasniji, jer produžuje život miša sa EAK više nego TAP. Ipak nijedna od ovih supstanci nije u stanju potpuno zaštititi životinje kao C ili M. Isto tako, interesantni su rezultati sa eksperimentalnim leukemijama. Kako vidimo, NNP ima efekta kod obje limfatičke leukemije miša koje smo mi upotrijebili, dok je TAP bez efekta; dapače, u jednom slučaju ubrzava rast tumora. S obzirom na to da je određeni efekt postignut i kod leukemije djece, što će biti kasnije objavljeno, smatramo da ove rezultate treba osobito istaknuti.

Interesantno je da TAP u kombinaciji sa citostaticima koje mi upotrebljavamo ne poboljšava djelovanje nego čak pogoršava, pa se postavlja pitanje je li to posljedica sumiranja toksičnog djelovanja jedne i druge supstance, ili je to efekt na molekularnom nivou, tj. na nukleinske kiseline. Moglo bi se, naime, zamisliti da uslijed forsiranja sinteze nukleinskih kiselina dolazi do smanjenja djelovanja C, koji djeluje suprotno na sintezu tih kiselina¹⁷. Istovremeno davanje TAP-a i NNP-a zajedno pokazalo se kao toksičnije, nego davanje pojedinačnih supstanci samih, vjerovatno zbog sumiranja toksičnog efekta. Uklanjanje nitro-skupine iz NNP-a potpuno anulira zaštitni efekt, kako se vidi iz djelovanja kalijum feracijanida i kalijum ferocijanida. Iz toga se može povući zaključak da djelovanje NNP-a ne ide samo na račun cijanskih skupina. Istovremeno to dozvoljava zaključak da bi daljnje kemijske deriviranje NNP-a imale smisla i da bi ih trebalo ispitati i na druge tumore.

Mi nemamo za sada mogućnosti da rastumačimo mehanizam djelovanja ovih spojeva. Pošli smo od pretpostavke da TAP forsira sintezu nukleinskih kiselina. Međutim, metodom Neškovića¹⁸ to se nije

moglo verificirati niti za TAP, niti za NNP. O direktnom oštećenju malignih stanica isto se ne bi moglo govoriti, jer kad smo inkubirali ascites sa NNP-om ili TAP-om in vitro, transplantacija je primljena.

Možda, ali to je samo naša hipoteza, NNP i TAP zbog svojih cijanskih grupa smanjuju oksidativne procese u stanicama, razumljivo, bolesnim i zdravim i na taj način utiču na rast tumora. Ako ta komponenta dolazi do izražaja i zaustavlja rast tumora, vrlo je vjerojatno da se cijanske skupine u organizmu vrlo polako oslobađaju. Zato valjda nisu ove supstance ni izdaleka toliko toksične kao slobodni cijan (HCN, KCN itd.) sam. To bi, prema tome, isto tako bila neka vrsta transportne forme jedne antitumorozne supstance, kao što imamo slučaj kod ciklofosfamida¹⁰. Naglašavamo da je to samo pretpostavka za koju nemamo dokaza.

NNP se pokazao efektan u našim eksperimentima kod četiri različite vrste tumora: EAC, YAS, Ly1210 i NK Ly. Prema izvještaju prof. Kellnera²⁰, NNP nije do sada ispitivan¹⁸, barem to nije registrirano u djelu »Negativna evidencija«. U početku smo naglasili da se ovaj spoj već godinama upotrebljava u humanoj terapiji^{7, 8} kao dobro antihipertenzivno sredstvo. Iz svega toga mislimo da možemo zaključiti da bi se ovaj spoj mogao već sada ispitati u humanoj patologiji, što smo mi zajedno sa Kosorićem već i započeli.

ZAKLJUČAK

Ispitani su tricijano-2-amino-1-propen i natrijum-fericijanid na rast Ehrlich ascites carcinoma, Yoshida ascites sarkoma, mišju leukemiju Ly 1210, te mišju leukemiju NK Ly i Shay mieloičku chloroleukemiju štakora. Pokazalo se da TAP djelomično produžava život Ehrlich carcinoma. U kombinaciji sa ciklofosfamidom i mielobromolom djeluje obrnuto, tj. forsira rast tumora. NNP djeluje na Ehrlich ascites mnogo bolje od TAP-a. TAP nema efekta na Yoshida sarkom, dok je kod NNP-a naznačen. Ni TAP ni NNP nisu kod zdravih štakora obarali broj leukocita, ako se apliciraju kroz 28 dana. TAP je potpuno bez efekta na obje limfatičke leukemije kao i na chloroleukemiju. NNP produžava život jedne i druge limfatičke leukemije, ali nema efekta na mieloičku leukemiju.

Diskutira se o značaju tih rezultata budući da su obadva spoja srodna s obzirom na cijanske grupe u svojoj molekuli. Jedna od njih — TAP forsira sintezu nukleinskih kiselina. Isto tako je značajno za dalja ispitivanja da se obje ove supstance već primjenjuju u humanoj terapiji, ali za druge indikacije.

Preliminarni klinički rezultati sa NNP pokazuju stanoviti terapijski efekt kod leukemija djece.

Laborantici Branki Bajagić zahvaljujemo za odličnu tehničku pomoć u izvođenju ovog rada.

PAVAO ŠTERN I RAJKO IGIĆ

**THE EFFECT OF TRICYANO-2-AMINO-1-PROPANE
AND Na-NITROFERRICYANIDE ON TRANSPLANTABLE
MALIGN CANCERS OF ANIMALS**

SUMMARY

The effect of tricyano-2-amino-1-propene and Na-nitroferricyanide were studied on growing of Ehrlich ascites carcinoma, Yoshida ascites sarcoma, leukemia LY 1210 and NK Ly of mice, and Shay myeloid chloroleukemia of rats. TAP partly prolonged the life of Ehrlich carcinoma. This substance in combination with cyclophosphamide or melphalan had the opposite effect, i.e. it forced growing of the cancer. NNP had a better effect on Ehrlich ascites than TAP. TAP had no effect on Yoshida sarcoma, while NNP had. Neither TAP nor NNP diminished the number of leukocytes administered daily for 28 days. TAP was completely without effect on both kinds of lymphatic leukemias, and on chloroleukemia. NNP prolonged both lymphatic leukemias, but had no effect on myeloid leukemia.

It has been discussed about these findings, because both of these substances are chemically related (cyan groups). One of them (TAP) forced the synthesis of nucleic acids. It is also important that these two substances are being used in human therapy, but for the other purposes.

Preliminary clinical results with NNP showed a certain therapeutic effect in children suffering from leukemia.

LITERATURA

1. Hyden H., Hartelius H.: Acta psychiat. scand. Suppl. 48 (1948).
2. Egyhazi E., Hyden H.: Méd. et Hyg., 736, Genève (1961).
3. Davanzo J. P., Matthews R. J., Wingerson F., Barnes M. B.: Pharmacodyn 41, 299 (1963).
4. Potkonjak D., Stern P., Tomić S.: Med. Pharmacol. exp. 12, 32 (1965).
5. Brock N.: Arzneimittel-Forschung 8, 1 (1958).
6. Ingbar S. H.: J. clin. Endocrin. 21, 128 (1961).
7. Mercks Jahres-Berichte, str. 220 (1930).
8. Page I. H., Corcoran A. C., Dustan H. P., Koppányi Th.: Circulation 9, 188 (1955).
9. Loewenthal H., Jahn G.: Ztschr. Krebsforsch. 37, 439 (1932).
10. Yoshida T., Muta Y., Sasaki Z.: Proc. Impl. Acad. Tokyo 20, 611 (1944).
11. Law L. W., Dunn T. B., Boyle P. J., Miller H. J.: Nat. Cancer Inst. 10, 179 (1949).
12. Shay H., Gruenstein M., Marx H. E., Glazer L.: Cancer Research 11, 29 (1951).
13. Németh L., Gál F.: Arzneimittel-Forschung 12, 197 (1962).

14. Farner D.: Gerantologia 5, 35 (1961).
15. Cook L., Toner J., Fellows E.: J. Pharmacol. exper. Therapeut. *III*, 131 (1954).
16. Institóris L., Horváth I. P., Csányi E.: Ile Symp. int. Chiothérapie, Naples 1961; *III*, 250 (1963).
17. Bergel F.: iz Plattner P. A. »Chemotherapy of Cancer«, Elsevier, Amsterdam, London, New York, 1964, str. 21.
18. Nešković B.: Nature 206, 837 (1965).
19. Brock N., Hohorst H. J.: Arzneimittel-Forsch. 13, 1021 (1963).
20. Kellner B.: privatno saopštenje.



JOSIP JEŽIĆ, JEVROSIMA BEGOVIĆ I HAZIM MAHIĆ*)

RADIOMETRIJSKI PRILOG IZUČAVANJU ETIOLOGIJE I PATOGENEZE HEMATURIČNOG SINDROMA GOVEDA

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 20. XI 1968. g.)

Na Trećem veterinarskom kongresu u Sarajevu 1967. postavili su Ježić i Janjatović⁵ tezu o vjerovatnom etiološkom i patofiziološkom pluralitetu hronične hematurije goveda sa prijedlogom da se govori o hematuričnom sindromu, a ne o bolesti određene, jedinstvene etiologije i patofiziologije. U tim etiopatogenetskim traganjima nekoliko pitanja ostalo je bez odgovora, a neka nisu ni postavljena. Sindrom na bazi *Pteridium aquilinum* su Francuzi, prvenstveno J. Guilhon, dobro označili »pteridism«, ali ni oni nisu jasno diferencirali i utvrdili odnos akutnih i hroničnih trovanja. Izvjesna epidemična podudarnost čovjekove strume i hematurije goveda nije kod nas gotovo ni zabilježena, iako su naši veterin. istraživači Jovanović i Pantić⁶ — za istočni dio zemlje, a Forembaher i Mihaljević¹ — za zapadnu oblast utvrdili hipotireoze životinja u rejonima čovjekove strume. Niko se, isto tako, nije ni osvrnuo na hipotezu norveškog geokemičara Goldschmidta, ni na njeno provjeravanje za Švicarsku od strane F. Merkea¹⁰ u vezi s činjenicom da se čovjekova gušavost pokriva rejonima zahvaćenim posljednjim glacijalnim pojavama. Isto tako smo posve zanemarili kao etiološki kofaktor tzv. retrogradaciju fosfora na površinskim kopovima aluminijskih, željeznih i drugih metalnih ruda. Konačno, svi skupa nismo nikako uzeli u obzir mogućnost

*) Prvi autor je prof. Veterin. fakulteta i vanjski saradnik Zavoda za transfuziju krvi u Sarajevu (direktor dr Sreten Bošković), u kome su centralizovana ova istraživanja hematurije. Drugi koautor je asistent na Institutu za primjenu nuklearne energije u poljoprivredi, veterinarstvu i šumarstvu, Zemun, Baranjska 15, a treći je pukovnik u penziji, dobrovoljni saradnik na ovim istraživanjima. Pri odabiranju grla, kliničkih i post mortem registracija, uzimanja i ekspedicije materijala dale su punu saradnju veterinarske stanice u Bosanskoj Krupi (veterin. Sreten Marić), u Bosanskom Petrovcu (veterin.) i Sanskom Mostu (veterin. Dragan Vujanović i veterin. Hajro Karabegović). Sredstva za ova istraživanja odobrili su u jednakom iznosu Akademija nauka i umjetnosti i Republički fond za naučni rad u Sarajevu. Posebnu zahvalnost dugujemo prof. dru J. Gligorijeviću, šefu Odsjeka za dijagnostiku i terapiju domaćih životinja INEP-a, za prihvatanje ove saradnje, određivanje saradnika i za formulaciju drugog dijela ovog saopćenja.

učesća radioaktivnih zračenja u uzrokovanju, bilo kao primarnih, bilo kao sekundarnih faktora. Iz naše prilično oskudne raspoložive literature dajemo nekoliko podataka o zračenju da bismo mogli zaključiti koliko su na mjestu istraživanja i u ovom pravcu.

M. Martinčić⁹ kaže u svojoj monografiji ovo: »Prema neobično velikom postotku malignih epitelnih i mezenhimatskih proliferacija, moglo bi se možda pomisliti na neki radioaktivni spoj iz tla, koji bi putem bilja došao u organizam i dugotrajnim uzimanjem uz neprestanu koncentraciju u mokraći dovodio do takvih proliferacija. Svakako će trebati provesti istraživanja i u tom smjeru, to više što geološki i mineraloški sastav tla ne isključuju i takvu pretpostavku«.

Engleski autori Heath G. B. i Wood B.⁴ (1958) konstatuju frapantnu, signifikantnu sličnost trovanja papratima sa bolešću radijacije. To je pteridizam J. Guilhona³ i saradnika, Purpura hemorragique (veći broj publikacija, uglavnom, poslije II svjetskog rata, pretežno u L'Académie vétérinaire) na centralnim masivima Francuske, u pokrajini Jura i Kroaze, u Bretanji, u departmentu Finistere, u regionu Morlaix i drugdje; oni i u eksperimentima naslućuju isto. U tom smislu govore i nalazi J. Gorišeka i B. Maržana² sa akutnim eksperimentalnim trovanjem teladi, kao i brojni izvještaji o bolesti radijacije. Spominju se: opći hemoragični sindrom, sklonost krvarenju razne jačine i lokalizacije (koža, sluznice, supseroze, tkiva, organi, nos i, prvenstveno, mokraćni mjehur), povišena sedimentacija, jaka leukopenija, anizocitoza, agranulocitoza, Jollyeva tjelašca, visoka eozinofilija, hyperchromatoza, liza crvenih krvnih zrnaca, progresivna anemija, deletarni faktor za B₁-vitamin, sličnost sa deficitom B₆-vitamina, thrombocytopenija. Ali, vjerovatno ne na bazi direktnog djelovanja paprati, nego kroz oštećenje jetre, degeneraciju tkiva i stanica i opći poremećaj jetrene funkcije. Na nekim mjestima se govori da erythropoeza koštane srži nije nikako ili je samo djelomično oštećena, a na drugim se ukazuje na hipo- ili disfunkciju koštane srži. Limfni čvorovi su povećani, slezena atrofirana. Nejasni su izvještaji i naoko kontradiktorni oko grušanja krvi, protrombinskog vremena, dikumarolskih tvari, K-vitamina. Kontradikcije dolaze, po našem mišljenju, zato što niko ne polazi od pretpostavke o mogućnosti višestruke etiologije i patofiziologije, dok sličnost sa zračenjem pokazuje samo »pteridizam«.

Katkada zabilježene visoke temperature, kao i čitav hemoragični sindrom postavili su već zarana sumnju u infektivnost procesa. Sumnjalo se na antraks, pasteureloze, neke protozoe. Međutim, nikakvi infektivni procesi nisu dokazani, a ni provjerene sumnje u infekcije nisu evidentirane. Uostalom, hiljade hematuričnih goveda kolje se svake godine bez ikakvih kautela i isto tako troši, a da odatle ni najmanja sumnja prenosa nije postavljena. I naša lična iskustva govore protiv infekcije. Pokušali smo serijom poznatih preporučenih pyrogena i nekim infekcijama, kao što su krvlje boginje (vakcina) i antraksne klice, uzalud da dobijemo i minimalno povišenje temperature kod hematuričnih goveda. Postavljena je sumnja da su zabilježene temperature uzrokovane jetrenim krvarenjima i posljedicama lokalnih infekcija tih lezija, ali, u stvari, niko nije dokazao upalne procese uopće. Na kraju, ovdje treba dodati i činjenicu razmjerno čestih malignih alteracija pro-

česa na bazi *Pteridium aquilinum*: papilomatoze, karcinomi, sarkomi u mokraćnom mjehuru sa dosad poznatim prenosima na kožu goveda (P a m u k c u¹¹).

I Guilhon se saglašava da su to sve znakovi poznati u humanoj patologiji kod raznih trovanja, među kojima se spominje benzol, arsenobenzol, živa, petovaljani arsen i dr., pa i rendgenska i radioaktivna zračenja. Sve odreda poznati kancerogeni. Poznato je da radioaktivno zračenje pri prolazu kroz živu materiju izaziva promjene koje mogu imati privremeni ili trajni karakter, mogu iščeznuti bez posljedica po živu materiju, ili ostaviti trajna oštećenja. Karakter promjena koje nastaju na živoj materiji pod djelovanjem radioaktivnog zračenja uvijek je isti, bez obzira na koju vrstu zračenja se misli. Stepenn oštećenja zavisi od vrste i količine zračenja kojoj je živa materija izložena, ali određenu ulogu ima i stanje u kome se živa materija nalazi u trenutku zračenja, vrijeme trajanja zračenja, biološke karakteristike žive materije — itd.

Jonizacija žive sredine po svome karakteru istovjetna je za mrtvu i živu materiju. To je primarni fizičko-hemijski proces prenošenja energije sa zraka na živu materiju. Ovo je samo početni period jednog veoma složenog kompleksnog problema u kome primarna oštećenja izazvana jonizacijom povlače za sobom niz drugih disfunkcija žive materije koje po svome opsegu uveliko prevazilaze početna oštećenja. To je tzv. sekundarno djelovanje zračenja, odnosno to su sekundarna oštećenja koja su u biološkom i medicinskom smislu daleko važnija od primarnih, a na kraju se manifestuju oštećenjem ćelija i tkiva organizma. Poznata su pod imenom akutne ili hronične radijacione bolesti.

Radioaktivni materijal unijet u organizam kroz usta prodire u digestivni trakt. Nerastvorljivi materijal proći će kroz digestivni trakt i biće izbačen napolje. U toku njegovog prolaska oštećuje se okolni epitel i opasnost može da se izrazi dozom zračenja koju organizam za to vrijeme može da primi. Rastvorljivi materijal je daleko opasniji. On biva asimilovan i krvlju raznesen po cijelom organizmu. Radioaktivne materije se ponašaju tako da se neke od njih ravnomjerno raspoređuju po svim ćelijama i tkivima (P i Na), dok druge pokazuju sklonost ka selektivnom deponovanju u pojedine organe (J, Sr i dr.). Opasnost od deponovanih radioaktivnih materija u organizmu je dvojaka: od radioaktivnog zračenja koje se iz tih materija oslobađa i od trovanja tim materijama. Ta opasnost zavisiće od više faktora: od vremena poluraspada, energije i vrste zračenja, od toga da li postoji selektivna koncentracija u nekim organima ili ne, od brzine eliminacije iz organizma i dr.

Od fisionih produkata koji se u ovom slučaju mogu smatrati izvorom zračenja posebno su biološki važni i opasni radionuklidi: ⁸⁹Sr sa vremenom poluraspada 55 dana, ⁹⁰Sr — 28 godina, ¹⁴⁰Ba — 12,8 dana, jer se veoma brzo apsorbuju preko digestivnog trakta, a izlučuju se veoma sporo. Stroncijum unijet u organizam u potpunosti prati metabolizam kalcijuma, deponuje se u kostima odakle ga je veoma teško istjerati. ¹³⁷Cs — 30 god. — se resorbuje u mekom tkivu i deponuje u mišićima, jetri i drugim unutrašnjim organima. ¹⁴⁴Ce — 285 dana, izaziva atrofiju jetre i pojavu sarkoma kosti.

Direktne dokaze o ulozi i značaju radioaktivnih zračenja u etiologiji hematurije goveda pokušali su, koliko je nama poznato, dati samo rumunski istraživači Jonesku D., Dulceanu N. i Filip D.⁶ Oni su pretraživali zemljišta, krmiva i kosti zdravih i bolesnih od hematurije na dobrima u dvije oblasti. Pokazalo se da je u hematuričnim oblastima radioaktivnost tla dva puta veća, a krmiva su četiri puta veća nego u oblastima u kojima hematurija nije registrovana.

Mislimo da je i ovo malo što se o predmetu zna, odnosno čime mi raspolažemo, dovoljno obrazloženje da u danim mogućnostima izvršimo u prvi čas neka orijentaciona, a potom i sistematska radiometrijska istraživanja, ukoliko orijentacioni nalazi ne bi posve isključili ovu sumnju.

S obzirom na složenost pitanja etiologije i patogeneze sindroma hematurije, interesovalo nas je kakve su korelacije u našim hematuričnim područjima između prisustva i stepena prirodne i vještačke radioaktivnosti i morbiditeta goveda. U tom cilju izvršena su prva orijentaciona radiometrijska mjerenja.

ISPITIVANI MATERIJAL

Za analizu su uzimani uzorci pune krvi, mokraćne, slezine, jetre, cjevastih kostiju i mokraćnog mjehura bolesnih životinja. U pokusu je bilo 8 životinja: 4 iz Bosanske Krupe, 2 iz Bosanskog Petrovca i 2 iz Sanskog Mosta. Uporedo su vršeni klinički pregledi, dok kod jednog dijela izvršeni su i hematološki pregledi; kod svih je izvršeno oko 600 biohemijskih analiza, a u toku su i histofiziološke analize endokrinih žlijezda. Radiometrijska ispitivanja vršena su u INEP-u, Odsjek za dijagnostiku i terapiju domaćih životinja. Materijal je dostavljen u specijalnim termosanducima za transport krvi.

METOD RADA

Da bi uzorci bili spremni za radiometrijska mjerenja na brojačkim uređajima, prethodno su obrađivani na slijedeći način: uzorci poznate težine prvo su isušivani, a zatim spaljivani u peći za žarenje na 600° C do prelaska u pepeo (24 sata), pa im je težina ponovo mjerena. Pepeo svih uzoraka je rastvaran u koncentrovanoj azotnoj kiselini.

Za detekciju i mjerenje beta-zračenja korišćen je »Philipsov« GM brojač (čija je efikasnost 1—3%) i aparat za nisku aktivnost »Inter-technique«, koji je pogodan radi svoje velike osjetljivosti i niskog fona. »Philipsov« i »Ekco« scintilacioni brojači sa NaJ-kristalom i aktiviranim talijumom korišćeni su za mjerenje gama-zračenja.

Pored radiometrijskih mjerenja korišćena je autoradiografska metoda kao vrlo osjetljiva. Uzorci su stavljeni na rendgen-film i izlagani ekspoziciji u vremenu od osam dana.

POSTIGNUTI REZULTATI I DISKUSIJA

Mjerenja izvršena navedenim mjernim instrumentima, u opsegu njihove osjetljivosti, nisu pokazala prisustvo radio-izotopa u ispitivanim uzorcima. Broj imp/min. u svim uzorcima se kretao u granicama fona (spontana aktivnost).

Radioautogrami su potvrdili ova mjerenja, jer na filmu, i pored njegove velike osjetljivosti na zračenje, nije zapaženo nikakvo zacr-njenje.

Ovo ne znači da je ovim pokusima isključena radioaktivnost iz uzrokovanja hematuričnog sindroma goveda.

Kratkoživeći radio-izotopi mogu da izvrše kontaminaciju i da po-slije toga budu izlučeni, odnosno da pređu u stabilno stanje. Isto tako, može do ozračivanja doći iz vanjskog izvora sa kliničkim i patomor-fološkim manifestacijama, a da organi i tkiva ostanu negativni. U tak-vim slučajevima ne mora se mjernim instrumentima ustanoviti nikakva radioaktivnost ni u organima ni u njihovim sekretima i ekskretima.

ZAKLJUČAK

Radiometrijskim mjerenjima i autoradiografijom nije ustanovljeno prisustvo radio-izotopa u ispitivanim uzorcima.

Smatramo da je potrebno, u cilju upotpunjavanja ovih ispitivanja, proširiti broj i vrstu uzoraka (zemljište, vegetacija i atmosfera navedenih područja), naročito u slučaju da istovremeno poduzeta uporedna istraživanja ne dokažu drugu etiologiju.

JOSIP JEŽIĆ, JEVROSIMA BEGOVIĆ I HAZIM MAHIĆ

CONTRIBUTION RADIOMETRIQUE À L'ETUDE DE L'ETIOLOGIE ET DE LA PATOGENESE DU SYNDROME HEMATURIQUE DES BOVINS

RESUME

On a douté que le syndrome hématurique des bovins a été causé par irradiation radioactive. Les auteurs informent dans cette publica-tion sur les premières études pour mieux répondre à cette question.

On a pris pour analyse les exemplaires du sang, de l'urine, de la rate, du foie, des os tubulaires et de la vessie des animaux malades de quatre microrégions de la Bosnie de l'est de chaque région deux bovins malades. En tout 48 analyses sur les 8 bovins malades. En même temps on a fait des observations cliniques, les examens hématologiques et environs 600 analyses biochimiques. Les analyses histophysiologiques des glandes endocrines sont en train d'être examinées.

On a fait les recherches radiométriques à l'Institut pour applica-tion de l'énergie nucléaire à l'agriculture, médecine vétérinaire et syl-viculture. On n'a pas constaté la présence des radioisotopes dans les exemples examinés à l'aide des recherches radiométriques et de l'auto-radiographie.

Pour mieux compléter ces recherches il faudrait étendre le nombre et l'espèce de ces exemples sur le terrain, la végétation et l'atmosphère des régions citées. Eu égard à une certaine pluralité de l'étiologie, il faudrait embrasser encore quelques régions, surtout si les recherches comparées faites en même temps ne prouvent pas une autre étiologie.

LITERATURA

1. Forembaher S. i Mihaljević K.: Klinika i profilaksa joda kod domaćih životinja, II simpozijum o endemskoj gušavosti, Zagreb 1961.
2. Gorišek J. i Maržan B.: Veränderungen des Blutbildes und der Blutgerinnung bei mit Adlerfarn (*Pteridium aquilinum*) vergifteten Kälbern, W. t. M. 1965.
3. Guilhaon J.: Purpura hemorragique des bovidés bretons (*Pteridisme*). R. Path., Phys. clinique, Paris 1957.
4. Heath G. B. i Wood B. (1958): Bracken poisoning in cattle. J. comp. path. 68. 201—212. Ref. veter. bulletin, 1959.
5. Ježić J. i Janjatović M.: Etiološki i patofiziološki pluralitet vezikalne hematurije goveda. Zbornik III kongresa, Sarajevo 1967. Etiologic and pathophysiologic plurality of the vesical hematuria in bovines.
6. Jonescu D., Dulceanu N., Filip D.: Corelation diustre cistita hemoragica a taurinelor si radioactivita tea natural. Lucrari stient Inst. agron., Jasi, Bucurest 1963. Referatni žurnal biologije, Moskva.
7. Jovanović M., Pantić V.: Enzootska struma u našoj zemlji, I simpozijum, 1957.
8. Martinčić M.: Krvavo mokrenje goveda. Haematuria in Cattle, Veterinaria, Sarajevo 1955.
9. Merke F.: Die Eiszeit als primordiale Ursache des endemischen Kropfes, Schw. med. Wochenschrift, 1965.
10. Pamukcu A. M.: Epidemiologic studies on urinary bladder tumors turkish cattle, Annales of The New York Academy, 1963.

JAKOB A. GAON

ISPITIVANJE ULOGE MOGUĆIH REZERVOARA KLASIČNOG PJEGAVCA ZNAČAJNIH ZA ERADIKACIJU OVE BOLESTI U SRBIH

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 5. II 1969. g.)

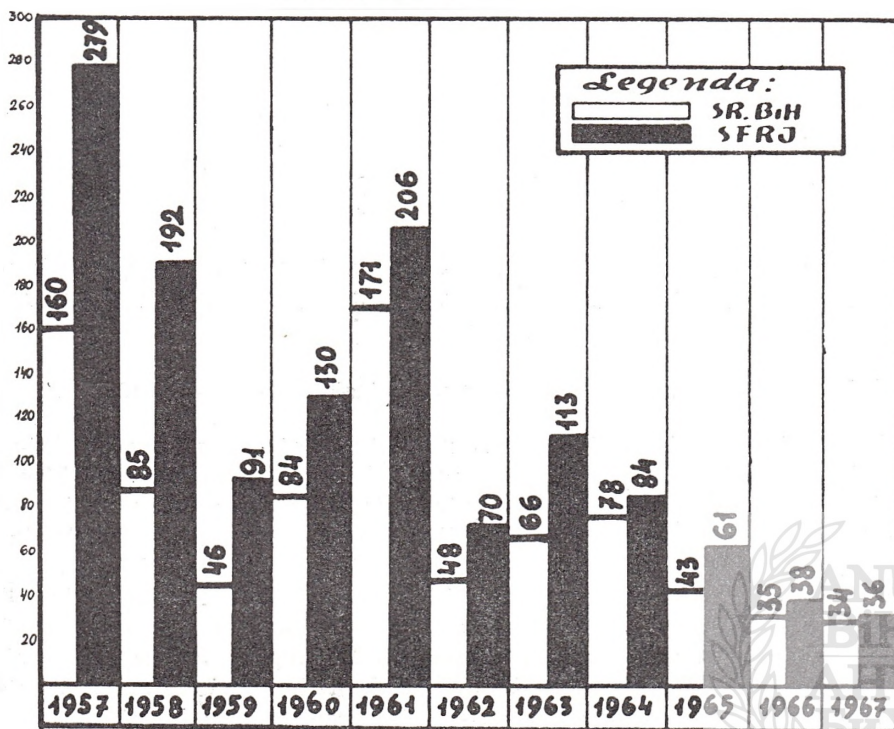
U zemljama gdje se još javlja poneki slučaj pjegavca primijećeno je da je epidemiološka slika ove bolesti sasvim izmijenjena. Mjesto manjih ili većih većinom eksplozivnih epidemija sa približnim brojem težih oboljenja, naročito među starijim licima, sada se oboljenja javljaju mahom u sporadičnom obliku, daleko prevladavaju lakši oblici, a oboljenja su najčešće međusobno epidemiološki nepovezana. Sada više oboljevaju starija lica i bez zimsko-proljetne sezone predomitanije pojave oboljenja. Većina autora danas smatra da su to pretežno recidivi pjegavca (Brill-Zinsserova bolest). Takva epidemiološka slika pjegavca preovladava i kod nas u Bosni i Hercegovini, u kojoj se, pored recidiva, još uvijek u ušljivoj sredini javljaju pravi slučajevi primarnog klasičnog pjegavca (1). Kretanje pjegavca u toku posljednjih deset godina u SR Bosni i Hercegovini (grafikon broj 1) pokazuje da ovo oboljenje brojčano svake godine opada. Treba istaknuti da je u jugoslovenskoj sumi oboljenja od pjegavca udio SRBiH preko dvije trećine, pa tek zatim dolazi udio APK i užeg dijela SR Srbije. Klasični se pjegavac u ostalim republikama javlja vrlo rijetko, i to su većinom uneseni pojedinačni slučajevi klasičnog pjegavca.

Interesantno je da je SR Makedonija upotrebom DDT-a za borbu protiv malarije i protiv ušljivosti uspjela likvidirati klasični pjegavac, koji se preko 6 godina ne javlja u toj Republici.

KRETANJE KLASIČNOG PJEGAVCA

Sada kada se približavamo fazi konačne eradikacije ove bolesti kod nas postavlja se sasvim opravdano pitanje da li je moguće da ostali rezervoari pjegavca, osim manifestnih oblika klasičnog pjegavca i Brill-Zinsserove bolesti, čija je uloga u održavanju i širenju ove bolesti već dobro poznata i općeprihvaćena (2, 3, 4, 5, 6, 7), igraju izvjesnu ulogu i drugi rezervoari koje treba uzeti u obzir u strategijskoj koncepciji za likvidaciju ove bolesti, i neće li, ne vodeći računa o njima, biti usporena ili čak onemogućena uspješna eradikacija klasičnog pjegavca.

KRETANJE KLASIČNOG PJEGAVCA OD 1957 DO 1967 GODINE U SRBIJI I SFRJ



Grafikon 1.

Osim manifestnih oblika klasičnog pjegavca i njegovih recidiva, u dominirajućim hipotezama kao rezervoari pjegavca dolaze u obzir: a) postojanje murinog pjegavca i njegova eventualna mogućnost prenošenja preko uši tijela u sredini gdje vlada ušljivost; b) održavanje rikecija u interepidemijskom intervalu u vidu inaparentnih i supkliničkih oblika pjegavca; c) preživljavanje rikecija u fecesu zaraženih ušiju i njihovo održavanje u odijelu i rublju, i d) najnovija hipoteza o mogućnosti održavanja rezervoara pjegavca među domaćim životinjama kao da se radi o pravoj zoonozi.

U ovom radu autor iznosi rezultate rada do kojih je došao u provjeravanju opravdanosti gore postavljenih hipoteza u cilju procjene njihove eventualne uloge u održavanju klasičnog pjegavca kod nas.

METODE I TEHNIKA RADA

a) Mogućnost postojanja murinog pjegavca kod nas

Po metodi slučajnog izbora, iz svih endemskih područja klasičnog pjegavca u našoj Republici uzeta je u febrilnoj fazi od 42 bolesnika

krv u količini od 3—4 cc. krvi i ubrizgana u najmanje 3—4 zamorca intraperitonealno, a pokušano je kod jednog zamorca izolovanje rikecija.

Kod preostala dva ili tri zamorca pomoću reakcije aglutinacije izvršeno je serološko ispitivanje na klasični i murini pjegavac.

Od 49 bolesnika ispitano je 135 seruma. Kod ovih bolesnika, kod kojih je serološki dokazan pjegavac pomoću solubilnog CF-testa, izvršena je serološka diferencijacija antigenom koji se sastoji iz pročišćenih rikecija spravljenih iz domaćeg soja klasičnog pjegavca »Rogatica« i iz soja R. mooseri. Uvijek su ispitana najmanje dva seruma iz akutnog i rekonvalescentnog toka oboljenja. Osim toga, u našoj laboratoriji je u toku deset godina vršena kod 303 seruma serološka diferencijacija pjegavca, ali nikada nije utvrđen murini pjegavac.

Ispitano je i 89 seruma zdravih ljudi iz okoline bolesnika da se vidi da li postoje rezidualni titrovi za r. mooseri viši nego za r. prowazeki, u kom slučaju bi se moglo pomisliti na postojanje murinog pjegavca.

CF-test i reakcija aglutinacije rađeni su po metodi opisanoj u Diagn. Proc. for Vir. and Rick. Dis. 1956.

REZULTATI

Tabela 1.

VISINA TITROVA ZA MURINI I EPIDEMIČNI ANTIGEN U KRVI ZAMORACA INFICIRANIH KRVlju BOLESNIKA

Broj krvi	Pročišćeni korpuskularni antigen r. prowazeki	Pročišćeni korpuskularni antigen r. mooseri
1	1:8	1:8
1	1:16	1:4
2	1:32	1:4
6	1:32	1:4
3	1:32	1:8
3	1:32	1:32
4	1:64	1:4
5	1:64	1:8
2	1:64	1:16
3	1:64	1:64
2	1:128	1:4
3	1:128	1:16
2	1:128	1:32
1	1:128	1:128
1	1:256	1:4
1	1:256	1:69
2	1:1024	1:16
Svega: 42	Svega: 1:67.61 (geometrijska sredina)	Svega: 1:10.42 (geometrijska sredina)

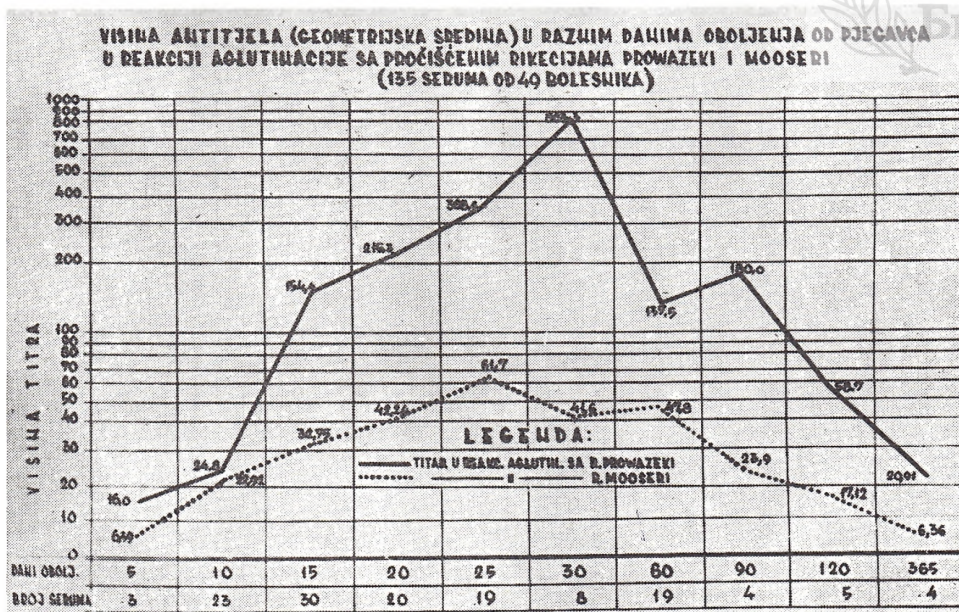
Iz krvi mozga, slezine i tunike vaginalnih inficiranih zamoraca nije mogla biti izolovana r. mooseri.

Serološki rezultati prikazani na tabeli br. 1 govore (geometrijska sredina titra) za infekciju rikecijama tipa prowazeki. Nijedan nalaz ne govori za infekciju murinim pjegavcem.

Tabela 2.
VISINA ANTITIJELA SERUMA BOLESNIKA (GEOMETRIJSKA SREDINA)

Dani oboljenja	Broj seruma	Reakcija aglutinacije		CF-test sa solubilnim antigenom
		Epidemični korpuskularni antigen	Murini korpuskularni antigen	
3—5	3	16.0	6.39	12.69
6—10	23	24.77	22.92	129.55
11—15	30	154.43	32.75	279.21
16—20	20	215.27	42.24	272.5
21—25	19	368.64	61.71	380.16
26—30	8	803.36	41.59	570.97
31—60	19	137.52	47.80	273.35
61—90	4	180.02	23.93	259.94
91—120	5	58.71	17.12	101.03
121—365	4	20.91	6.36	33.63

Nijedan bolesnički serum nije dao viši titar sa pročišćenim rikacijama mooseri nego je, naprotiv, titar postignuti antigenom spravlje-

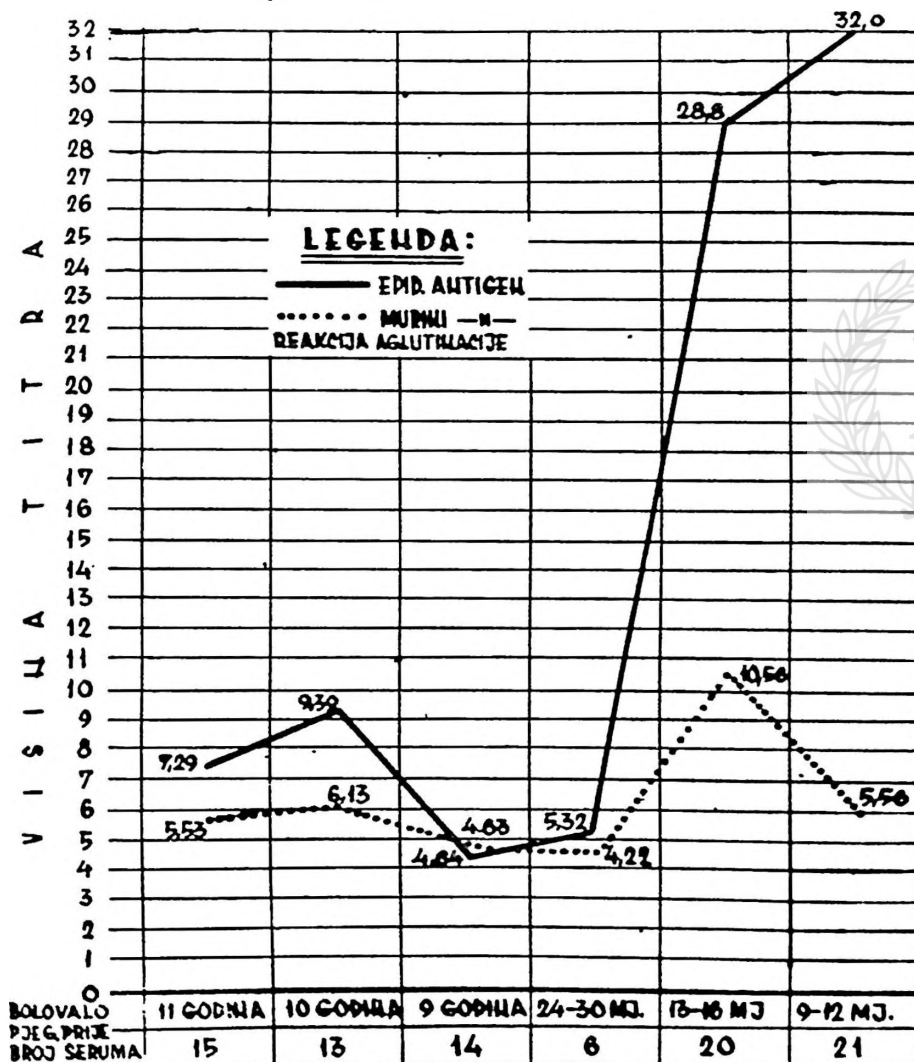


Grafikon 2.

nim iz r. prowazeki («Rogatica») uvijek bio najmanje dva puta, a u preko 85% slučajeva u četvostrukom titru viši. Iznijeti rezultati po dobnim grupama u tabeli broj 2 pokazuju da su viši titrovi (geometrijska sredina) u reakciji aglutinacije poslije deset dana bolesti, većinom do 4 puta i više, sa r. prowazeki nego sa r. mooseri.

I pregledi seruma zdravih lica iz okoline bolesnika dali su više titrove za epidemični nego za murini antigen.

ANTITJELA PROTIV PJEĀAVCA KOD ZDRAVIH LICA KOJA SU NEKADA PRELEĀALA PJEĀAVAC (GEOMETRIJSKA SREDINA)

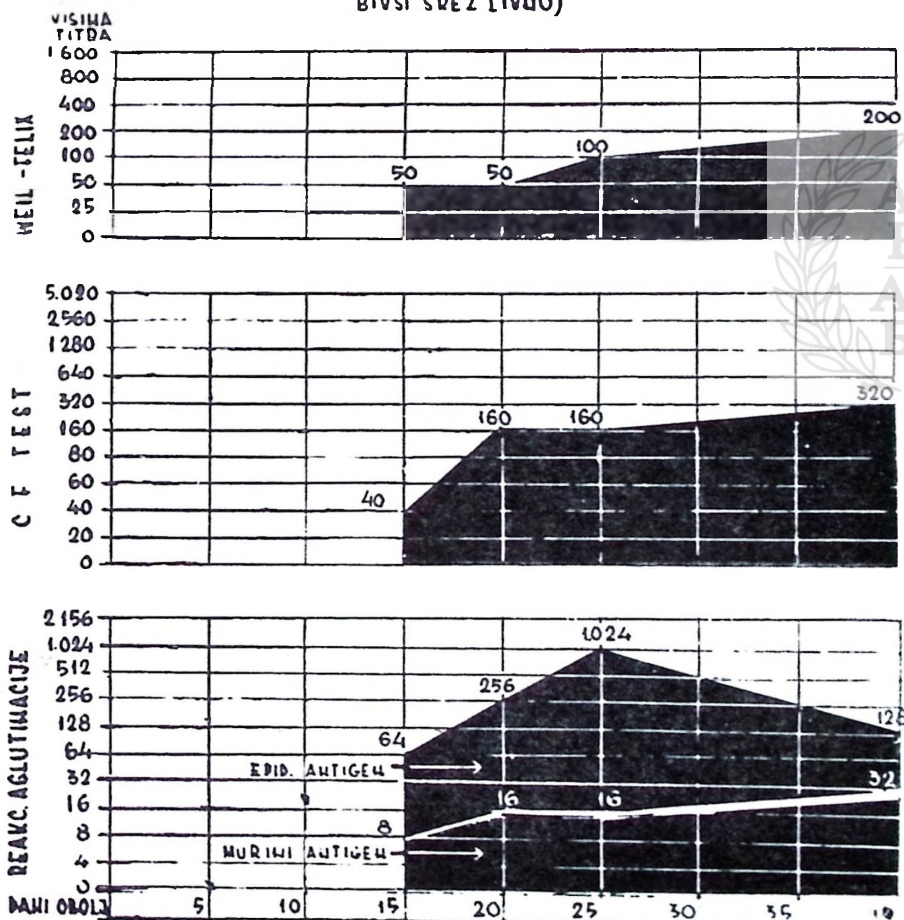


Grafikon 2a.

Da je epidemični antigen spravljen u našoj laboratoriji tip specifičan i da reaguje nižim titrovima kada se radi o infekciji pomoću r. mooseri, vidi se iz tabele br. 3, koja pokazuje titrove kod tri lica koja su se slučajno inficirala u našoj laboratoriji dok se radilo na intranazalnoj infekciji miševa suspenzijom r. mooseri. Viši titrovi postignuti pomoću r. prowazeki vide se iz graf. br. 3, koji pokazuje kretanje epidemičnog i murinog titra u krvi Alije Bulića, starog 70 godina, koji je obolio od pjegavog tifusa 22. V 1953. i kod koga su petog dana bolesti izolovane iz krvi rikecije prowazeki.

STOLOŠKI ODCOVOR BOLESNIKA KOD KOJEG JE IZ KRVI IZOLOVANA R. PROWAZEKI

(BULIĆ ALIJA, 70 G. STAD. OBOLIO 22. V. 1953. U SELU PODUM, BIVŠI SREZ LIVNO)



Grafikon 3.

Tabela 3.

VISINA ANTITIJELA KOD LICA INFICIRANIH U LABORATORIJI
RIKECIJAMA MOOSERI

Broj bolesnika	Dani oboljenja	Aglutinacijama		
		epidemičnim antigenom	murinim antigenom	solubilnim antigenom
1. G. M.	27	32	256	160
	160	64	512	160
	185	32	4	40
2. I. N.	6	32	32	4
	8	32	128	40
	21	8	128	640
3. V. P.	4	4	4	16
	10	8	32	32
	26	8	64	320

Gornji rezultati govore da u SRBiH do sada nije utvrđeno postojanje murinog pjegavca. Jedino je u Jugoslaviji do sada Urlič utvrdio murini pjegavac među ljudima na nekim dalmatinskim ostrvima (8). U 4 upućena uzorka krvi tih bolesnika od strane dr Urlića u našoj laboratoriji je serološki utvrđena infekcija murinog tipa.

b) Pitanje postojanja inaparentnih i supkliničkih infekcija klasičnog pjegavca kod nas i njihova epidemiološka uloga u prenošenju ove bolesti

Ch. Nicolle naglašava postojanje inaparentnih infekcija kod zamoraca, a Tokarević, Zdrodovski i Combiescu govore o postojanju inaparentnih i supkliničkih oblika pjegavca, za koje Gromaševski kategorički tvrdi da ne postoje, nego da klasični pjegavac pokazuje samo manifestne znake oboljenja (Zdrodovski 1965).

METODE I TEHNIKA RADA

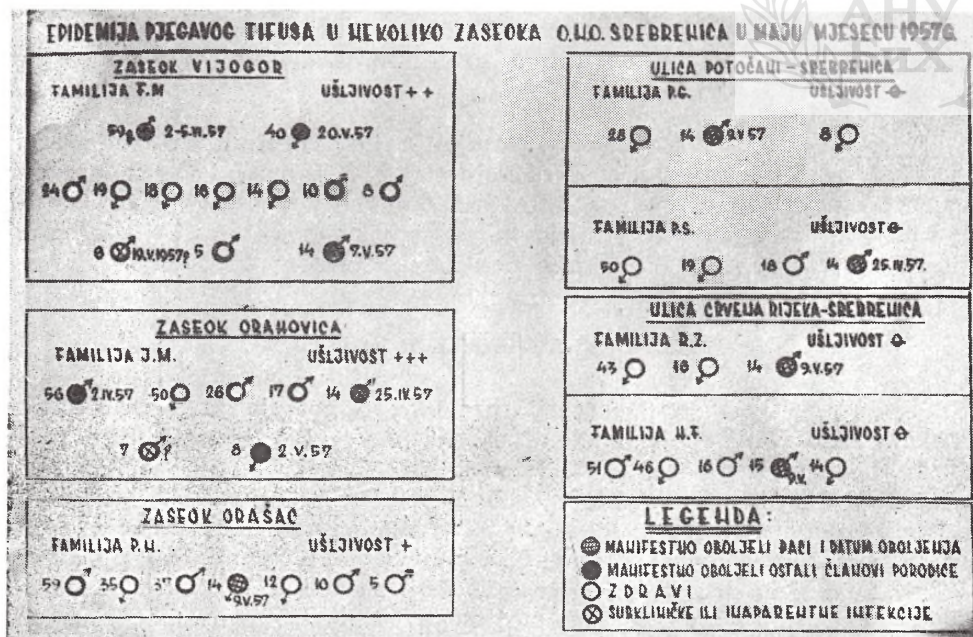
Da bismo kod nas provjerili hipotezu o postojanju inaparentnih i supkliničkih oblika pjegavog tifusa, u toku 4 seoske epidemije pjegavca, koje su vladale u SRBiH između 1957. i 1960. godine (Srebrenica 1957, Tomina — Prijedor 1958, Pirići — Bugojno 1960. godine i Srebrenik — Tuzla 1960), vršena je svakodnevno termometrija svih lica u pojedinim domaćinstvima u kojima je otkriven slučaj pjegavca i zdravih ljudi iz drugih domaćinstava koji su bili u kontaktu sa bolesnikom. Od njih su uzete krvi najranije 14 dana nakon kontakta sa bolesnikom i ponovno 14 dana poslije toga. Najmanje su od svakog lica uzeta 2 uzorka krvi. Krvi su pregledane pomoću Weil-Felixove

reakcije, CF-testa, a u posljednjoj epidemiji i pomoću reakcije hema-glutinacije po metodi Changa (9, 10). Na svim zdravim kontaktima iz okoline bolesnika hranjene su 3—4 dana uši (laboratorijski soj »Hamburg«) u cilju izolacije rikecija.

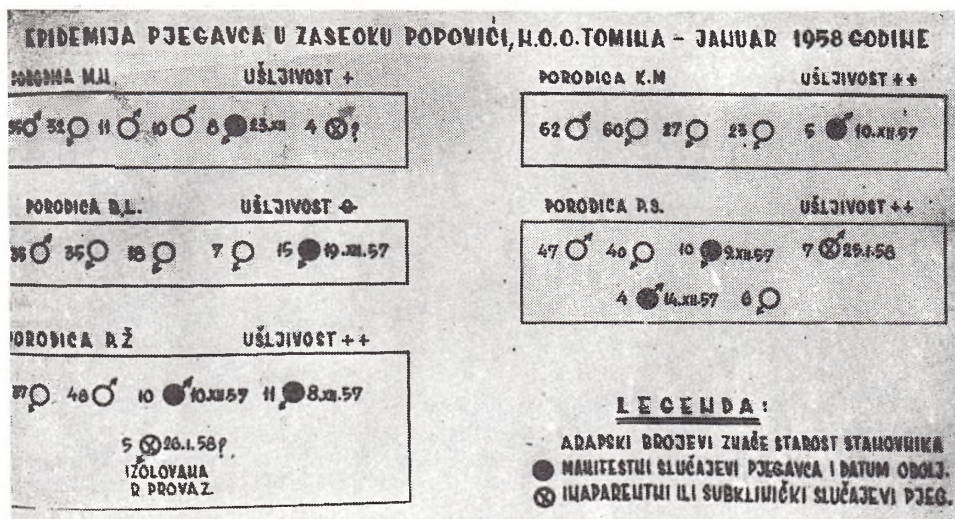
Pošto je bolesnik iz kuće gdje je pronađen upućen u bolnicu i pošto je izvršena potpuna depedikulacija tog domaćinstva i lica iz ostalih domaćinstava u istom selu, obavljeno je temeljito epidemiološko praćenje lica za koje je ustanovljeno da boluju od inaparentnih ili supkliničkih oblika pjegavog tifusa. Ova epidemiološka studija obuhvatila je samo takva lica koja su noćila ili su boravila u nekom ušljivom domaćinstvu okolnih sela, čije stanovništvo nije imalo nikakve epidemiološke veze sa stanovnicima koji stanuju u selu u kojem je utvrđeno ognjište pjegavca.

REZULTATI

Putem termometrije lica, kliničkog pregleda i naknadnog serološkog ispitivanja utvrđeno je u Srebrenici u maju 1957. godine u 6 familija, sa ukupno 38 stanovnika, 11 manifestnih kliničkih oblika pjegavca, jedan inaparentni i 1 supklinički oblik. U selu Tomini (opština Prijedor) u februaru 1958. godine utvrđeno je u pet familija, sa ukupno 27 stanovnika, 7 manifestnih kliničkih oblika pjegavca, jedan inaparentni i dva supklinička oblika. Na isti je način otkriveno u decembru 1960. godine u selu Pirići (opština Bugojno) u 4 familije, sa 25 članova, 7 manifestnih slučajeva pjegavca, jedan supklinički i jedan inaparentni



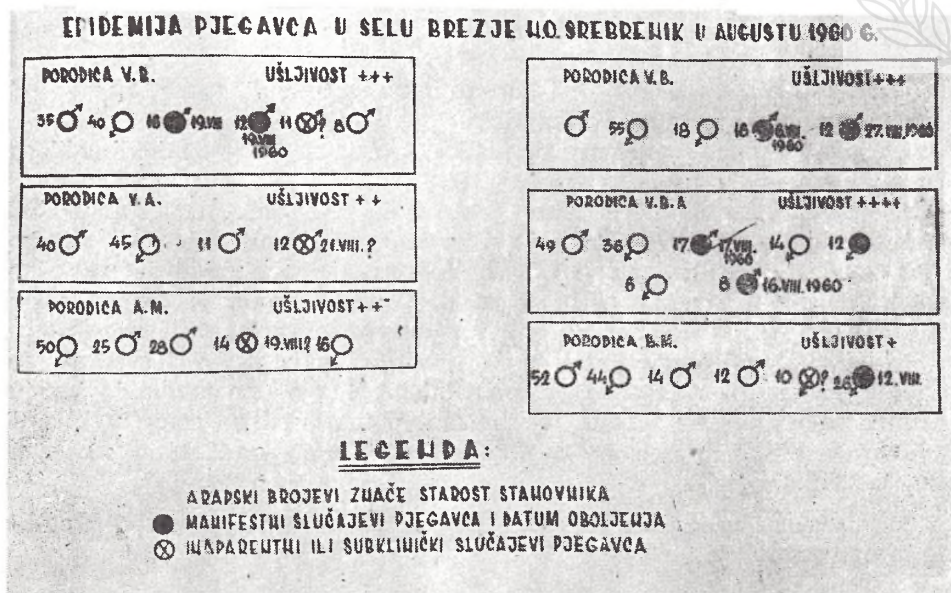
Skica 1.



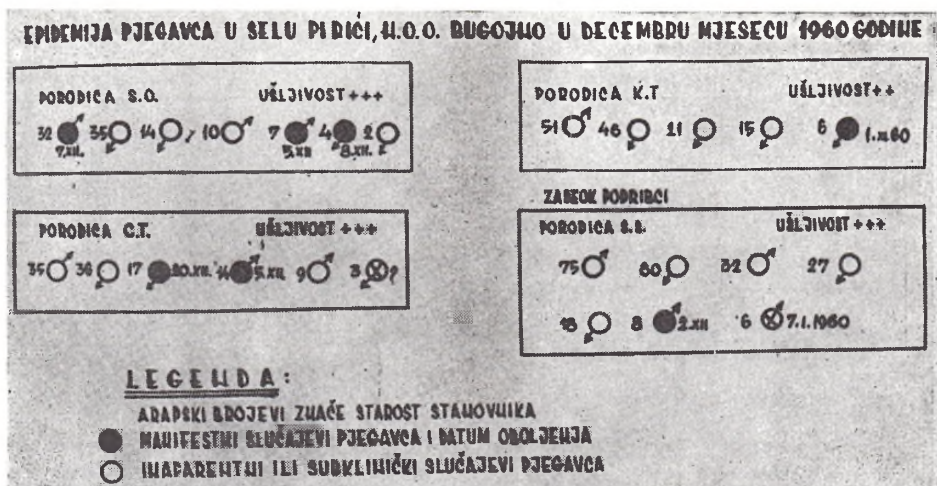
Skica 2.

oblik, a u selu Srebrenik (opština Tuzla) u augustu 1960. godine u 6 familija, sa ukupno 33 člana, 8 kliničkih manifestnih oblika pjegavca, 2 supklinička i 2 inaparentna oblika.

Epidemiološki su praćeni u epidemiji u Tomini jedan supklinički slučaj, u epidemiji u Pirićima 1 supklinički i 1 inaparentni i u epidemiji u Srebreniku 1 supklinički slučaj oboljenja. Sva ova lica su



Skica 3.



Skica 4.

najmanje boravila jednu noć u ušljivoj sredini, ali u tim porodicama nije došlo do sekundarnih slučajeva pjegavca.

Interesantno je da su supkliničke i inaparentne oblike pokazivala, uglavnom, djeca ispod 10 godina starosti. Samo dvoje djece bilo je staro 12, odnosno 14 godina.

Kod jednog supkliničkog slučaja pjegavca iz epidemije u selu Tomina, i to kod djevojčice stare pet godina izolirane su rikecije tipa prowazeki. Izolacija je izvršena hranjenjem na njenoj koži laboratorijskog soja ušiju »Hamburg«. Rikecije su izolovane samo u 3,5% ušiju. Ova je djevojčica samo tri dana imala temperaturu 39° C sa glavoboljom, bez drugih subjektivnih znakova bolesti.

Kod ostalih inaparentnih i supkliničkih oblika pjegavca, kao i kod zdravih lica nisu izolovane rikecije.

Serološki nalazi ovih utvrđenih inaparentnih i supkliničkih oblika pjegavca vide se u tabeli broj 4.

Naprijed navedeni rezultati govore da inaparentni i supklinički oblici klasičnog pjegavca nemaju izraženu rikecemiju, jer se rijetko mogu izolirati rikecije iz krvi takvih bolesnika; i ako dođe do uspješne izolacije, broj inficiranih ušiju je mali. O tome govori i činjenica da naši inaparentni i supklinički oblici pjegavca nisu izazvali nova oboljenja, iako su najmanje jednu noć boravili u vrlo ušljivoj sredini. To govori u prilog shvatanju da ovakvi oblici pjegavca ne mogu da igraju značajnu ulogu u prenošenju ove bolesti. Oni se nalaze samo u blizini manifestnih oblika pjegavca, a nikada kao nisu pronađeni u zdravim domaćinstvima.

c) Moguća uloga inficiranog fecesa ušiju u održavanju klasičnog pjegavca

Poljski autori Starzyk i Fejgin smatraju da se rikecije mogu duže održati u osušenom fecesu ušiju. Po Fejginu, na sobnoj temperaturi i

Tabela 4.

LABORATORIJSKI I OSNOVNI KLINIČKI NALAZI KOD INAPARENTNIH I SUPKLINIČKIH OBLIKA KLASIČNOG PJEGAVCA

Starost, pol	Klinički oblik pjegavca	Znaci bolesti				Laboratorijski nalazi*)		
		T° i trajanje	glavobolja	ospa	druge znaci	WF	CF	R. hemaglutinacije
6, muško	supklin.	2 dana do 39°C	∅	∅	∅	1/50 do 1/200	1/20 do 1/320	—
7, muško	"	3 dana do 38°C	+	∅	∅	1/50 do 1/200	1/100 do 1/1600	—
5, žensko	"	3 dana do 39°C	∅	∅	∅	1/50 do 1/200	1/40 do 1/640	—
6, muško	"	3 dana do 39°C	∅	∅	∅	1/50 do 1/400	1/20 do 1/320	
12, muško	"	2 dana do 38°C	+	∅	∅	1/50 do 1/200	1/20 do 1/160	1/200 do 1/3200
14, muško	"	1 dan do 38°C	∅	∅	∅	1/100 do 1/400	1/20 do 1/160	1/180 do 1/3200
7, muško	inaparentni	∅	∅	∅	∅	1/50 do 1/200	1/40 do 1/640	—
4, muško	"	∅	∅	∅	∅	1/50 do 1/200	1/50 do 1/80	—
11, muško	"	∅	∅	∅	∅	1/80 do 1/200	1/10 do 1/80	1/400 do 1/800
14, muško	"	∅	∅	∅	∅	1/50 do 1/400	1/10 do 1/640	1/50 do 1/800

*) Označeni su najniži i najviši titrovi.

uz relativnu vlagu od 30 do 70% život rikecija u spolnoj sredini može trajati do 90 dana. Ovi autori su postavili hipotezu da se rikecije u interepidemijskom intervalu mogu održati u ostavljenim odijelima, krznu i na rublju više mjeseci (11, 12).

Eksperimenti Chaoa i Weyera su potvrdili da je moguće održavanje rikecija u fecesu ušiju u trajanju od nekoliko nedjelja i mjeseci, sve ovisno o visini temperature i stepenu relativne vlage (13, 14).

Osnovna zamjerka autorima koji su eksperimentalno ispitivali otpornost rikecija u spolnoj sredini sastoji se u tome što su oni ta ispitivanja vršili u osušenom fecesu u većim količinama. To je omogućilo konzervaciju rikecija u unutrašnjosti felakne mase, a time su zanemareni uslovi pod kojima se rikecije održavaju u fecesu koji uši ostavljaju na rublju i na odijelu.

METODE I TEHNIKA RADA

Na komadićima platna (5×5 cm) napravljen je tanak razmaz fecesa vrlo bogatog rikecijama prowazeki. Ovako premazane tkanine izlagane su u spoljnoj sredini raznim temperaturama i raznim uslovima relativne vlage, i to uvijek sa 12,5 i 25,0 mgr fecesa na jedan komadić tkanine. U raznim vremenskim intervalima bujonska suspenzija fecesa ubrizgana je intrarektalno ušima. Poslije 6 dana uši su otvarane i razmaz njihovih stomaka, obojen po Giemzi, služio je za mikroskopsko traženje rikecija.

Iz tabele broj 5 vidi se da su rikecije izložene sobnoj temperaturi između 18 i 26°C i relativnoj vlazi između 35 i 70% živjele do 25 dana — kada je koncentracija rikecija u fecesu bila veća, a do 14 dana kada je koncentracija bila niža, tj. 12,5 mgr inficiranog fecesa na jedan komadić platna.

Na nižoj temperaturi — između 4 i 6°C i na relativnoj vlazi između 45 i 65% rikecije su u većoj koncentraciji u fecesu živjele do 16 dana, a u manjoj koncentraciji do 11 dana.

Kada su rikecije u fecesu izlagane napolju, van prostorija, živjele su 5 do 8 dana ako je temperatura bila između 10 i 20°C , a relativna vlaga između 35 i 95%. Njihov život je trajao 11 dana kada je pod istim uslovima relativne vlage vladala temperatura između -2°C i $+16^{\circ}\text{C}$.

Ovi rezultati naših eksperimenata govore da rikecije u fecesu žive kratko vrijeme, najduže između 8 i 16 dana. Ako je razmak između dva slučaja pjegavca duži od nekoliko nedjelja ili nekoliko mjeseci, ne može se feces optužiti kao rezervoar u kojem se održavaju rikecije u interpedemijskom periodu. Ni rezultati više stotina anketa sprovedenih u slučajevima otkrivenih bolesnika od klasičnog pjegavca nisu mogli dokazati ulogu fecesa u ostavljenom odijelu ili rublju u prenošenju ove bolesti u BiH.

d) Moguća uloga domaćih životinja kao rezervoara rikecije prowazeki

Od 1957. godine javljaju se publikacije koje govore da bi domaće životinje mogle biti rezervoar infekcije za klasični pjegavac. U Etiopiji su iz krvi domaćih životinja i iz njihovih krpelja izolovane rikecije tipa prowazeki (15, 16), a u UAR-u su utvrđeni pozitivni seroreaktori među domaćom stokom (Imam i sarad. 1963). Takvi nalazi nisu mogli biti potvrđeni pri serološkim pregledima krvi domaćih životinja u nekim južnoameričkim zemljama u kojima se javlja klasični pjegavac (17). $\Rightarrow 0,1$). Vidi tab. br. 7.

Iako u Bosni i Hercegovini nema nikakve epidemiološke sumnje da bi životinje mogle biti kod nas rezervoar pjegavca, ipak, s obzirom na veliku važnost rješenja mogućeg rezervoara klasičnog pjegavca, pokušano je testiranje u vezi s ovom hipotezom.

Tabela 5.
ISPITIVANJE OTPORNOSTI RIKECIJA U FECESU INFICIRANIH
UŠIJU R. PROVAZEKI

Visina temperature i mjesto izlaganja fecesa	Količina inficiranog fecesa	Broj dana izlaganja fecesa	Nalaz rikecija u fecesu ušiju	Procent zaraženih ušiju
1. Sobna temperatura između 18 i 20°C, relativna vlaga između 35 i 70°C	25,0 mgr	7	+	82%
		14	+	85%
		25	+	20%
		30	∅	∅
		40	∅	∅
		60	∅	∅
"	12,5 mgr	7	+	20%
		14	+	20%
		25	∅	∅
		30	∅	∅
		40	∅	∅
		60	∅	∅
2. Temperatura frižidera od +4 do +6°C uz relativnu vlagu od 45 do 65%	25,0 mgr	5	+	44%
		11	+	36%
		16	+	12%
		21	∅	∅
		30	∅	∅
		35	∅	∅
"	12,5 mgr	5	+	30%
		11	+	15%
		21	∅	∅
		30	∅	∅
		35	∅	∅
3. Izlaganje van prostorija na temp. između 10 i 22°C uz relativnu vlagu između 30 i 95%	25,0 mgr	5	+	60%
		8	+	20%
		14	∅	∅
		17	∅	∅
		20	∅	∅
"	25,0 mgr	5	+	20%
		8	∅	∅
		14	∅	∅
		17	∅	∅
		20	∅	∅
4. Izlaganje van prostorija na temp. između -2°C i 16°C uz relativnu vlagu između 30 i 80%	25,0 mgr	5	+	30%
		8	+	32%
		15	+	16%
		20	∅	∅
		25	∅	∅
"	12,5 mgr	5	+	22%
		8	+	18%
		15	+	15%
		20	∅	∅
		25	∅	∅



METODE I TEHNIKA RADA

Između 1964. i 1967. godine prikupljeno je sa područjâ SRBiH u kojima se javlja klasični pjegavac 283 seruma ovaca i 126 seruma krava, a sa područjâ u kojima 5 godina nije bilo pjegavca 398 seruma ovaca i 329 seruma krava.

Pored toga, iz dvije epidemije pjegavca: u Visokom 1966. godine i u Velikoj Kladaši 1967. godine pregledan je 21 serum ovaca i 10 seruma krava iz dvorišta domaćinstava u kojima je otkriven pjegavac, i 16 seruma ovaca i 9 seruma krava iz zdravih domaćinstava. Pregled je vršen pomoću CF-testa i pomoću WF-reakcije.

Sa ovaca i krava prikupljeno je 8 krpelja (5 muških i 3 ženska) koji su identificirani kao *dermacentor marginatus* i 10 krpelja identificiranih kao *ixodes ricinus*. Smrvljena suspenzija krpelja u fiziološkom rastvoru uz dodatak 1000 jedinica penicilina i 500 jedinica streptomicina na 2,0 cc suspenzije ubrizgana je intrapenitonealno u dva muška zamorca, a po 6 kapi ukapano je intranazalno u 6 bijelih miševa.

Tabela 6.
PROCENT POZITIVNIH REAKTORA MEĐU OVCAMA I KRAVAMA
(ispitano 1964. do 1966. godine)

Vrsta životinja	Zaraženo ili nezaraženo područje	CF-test		WF-test	
		Testirano ukupno	Od toga pozitivno	Testirano ukupno	Od toga pozitivno
OVCA	Endemsko područje pjegavca	333	6 (2,4%)	278	1 (0,3%)
	Područje bez pjegavca	398	6 (1,5%)	398	8 (2,0%)
KRAVA	Endemsko područje pjegavca	126	2 (1,5%)	126	4 (3,1%)
	Područje bez pjegavca	329	6 (1,8%)	329	32 (0,7%)

REZULTATI

Iz tabele broj 6 vidi se da je 12 seruma ovaca i 8 seruma krava bilo pozitivno u CF-testu u titru iznad 1:4. Ovi serumi su pregledani ponovno pomoću CF-testa u Rocky Mountain Laboratory (Hamilton, Montana, USA) sa dodatkom CO₂ u suhom stanju. Ti pregledi su pokazali da je pozitivnost ovih reakcija bila nespecifična.

Između pozitivnih reaktora koji su utvrđeni kod ovaca i krava iz dvorišta kuća u kojima je utvrđen i u kojima nije utvrđen slučaj klasičnog pjegavca nije bilo nikakve statističke signifikantne razlike ($P = > 0,1$) (vidi tab. 7).

Tabela 7.
ANTIGENSKA REAKCIJA OVACA I KRAVA IZ POLJOPRIVREDNIH
DOMAĆINSTAVA U KOJIMA JE OTKRIVEN ILI NIJE OTKRIVEN
PJEGAVI TIFUS

Bivši srez		Vrsta životinja	Antigen i radne jedinice. Odnos između pozitivnih reaktora i broja testiranih životinja			
			CF solubilni antigen »Breinl« 1:16	CF-test sa opranom rikecijalnom suspenzijom		Weil-Felix-test O ₁₉
				Epidemični pjegavac 1:32	Murini pjegavac 1:16	
VISOKO, 1966.	Zaražena domaćinstva pjegavcem	ovca	2/14 2 = 1:4	2/14 2 = 1:4	0/4	0/6
		krava	0/6	0/6	0/6	0/6
	Nezaražena domaćinstva pjegavcem	ovca	1/16 1 = 1:4	1/16 1 = 1:4	0/16	1/6; 1:50
		krava	0/9	0/9	0/9	0/9
VEL. KLA-DUŠA, 1967.	Zaražena domaćinstva pjegavcem	ovca	0/7	0/7	0/7	0/7
		krava	1/4	0/4	0/4	1/4; 1:50

Svi pokušaji izolacije r. prowazeki iz krpelja ostali su negativni.

Rezultati ispitivanja antitijela među ovcama i kravama u SRBiH zasad ne govore u prilog hipotezi da bi domaća stoka mogla igrati kod nas ulogu u interepidemijskom održavanju r. prowazeki.

DISKUSIJA

Od 1964. godine u SRBiH stalno se povećava broj recidiva, tako da od tada otpada na recidive pjegavca 60% oboljelih u totalnoj masi registrovanih oboljenja od pjegavca. Dosadašnja iskustva iz naknadne laboratorijske analize krvi tih bolesnika pomoću baterije testova za diferencijaciju primarnog od klasičnog pjegavca govore da je posljednjih godina na taj način dijagnosticiran među registrovanim slučajevima klasičnog pjegavca veći broj Brill-Zinsserove bolesti (18). Značaj Brill-Zinsserove bolesti kao rezervoara pjegavca dobro je već poznat (19).

Od 1964. godine stalno se povećava broj recidiva, tako da od tada otpada na recidive pjegavca 60% oboljelih u totalnoj masi registrovanih oboljenja od pjegavca. Dosadašnja iskustva iz naknadne laboratorijske analize krvi tih bolesnika pomoću baterije testova za diferencijaciju primarnog od klasičnog pjegavca govore da je posljednjih godina na taj način dijagnosticiran među registrovanim slučajevima klasičnog pjegavca veći broj Brill-Zinsserove bolesti (18). Značaj Brill-Zinsserove bolesti kao rezervoara pjegavca dobro je već poznat (19).

Na terenu naše Republike je ustanovljeno da recidiv pjegavca u vrlo ušljivoj sredini izazivaju epidemije pravog klasičnog pjegavca (Gaon i saradnici 1966).

Dosadašnje ispitivanje epidemiološke uloge drugih rezervoara klasičnog pjegavca, osim primarnog oboljenja ove bolesti i njegovih recidiva (Brill-Zinsserove bolesti), pokazuju da oni u Bosni i Hercegovini ili ne postoje (murini pjegavac), ili su bez ikakvog značaja za održavanje i širenje klasičnog pjegavca (inaparentni i supklinički oblici pjegavca i održavanje rikecija putem fecesa inficiranih ušiju). U Bosni i Hercegovini nisu do sada otkriveni rezervoari pjegavca među domaćim životinjama, niti su izolovane rikecije prouzročeni iz 18 krpelja koji su prikupljeni sa ovaca i krava. Ova su ispitivanja u toku.

Iz navedenih činjenica autor preporučuje usmjeravanje strategije borbe protiv klasičnog pjegavca u Bosni i Hercegovini u dva pravca:

a) u pravcu blagovremenog otkrivanja slučajeva primarnog pjegavca koji se još uvijek održava u zabačenim planinskim selima, odnosno u pravcu ranog preduzimanja poznatih protivepidemijskih mjera — i

b) u pravcu istovremene organizacije sistematske borbe protiv ušljivosti.

Sada je poznato da će samo eradikacijom ušljivosti biti moguće učiniti bezopasnim bolesnike od recidiva pjegavca koji će se još više godina kod nas stalno pojavljivati.

ZAKLJUČAK

1) U Bosni i Hercegovini još uvijek se javlja primarni klasični pjegavac u vidu rijetkih, sporadičnih slučajeva, i to, uglavnom, u zabačenim planinskim selima. Najveći broj registrovanih oboljenja pjegavca kod nas pripada Brill-Zinsserovoj bolesti.

2) Pomoću CF-testa i reakcijom aglutinacije pročišćenim suspenzijama r. prouzročeni i r. mooseri pregledana su u toku posljednjih 10 godina 352 seruma, i nikada nije u Bosni i Hercegovini utvrđen murini tip pjegavca. Ni pokušaji izolacije r. mooseri iz krvi bolesnika nikada nisu uspjeli. Naprotiv, iz Dalmacije, gdje nema klasičnog pjegavca, kod tri stanovnika nekih ostrva utvrđena su serološki u našoj laboratoriji tri slučaja murinog pjegavca.

3) U 4 epidemije koje su vladale u nekim selima BiH između 1957. i 1961. godine otkrivena su 33 manifestna oblika pjegavca, 6 supkli-

ničkih i 4 inaparentna. Supklinički i inaparentni oblici javili su se među malom djecom i bilo ih je moguće otkriti samo serološkim metodama (CF i WF-test i reakcija hemaglutinacije).

Na licima kod kojih je utvrđen supklinički i inaparentni oblik klasičnog pjegavca hranjene su uši u trajanju od nekoliko dana (laboratorijski soj »Hamburg«). Samo u jednom slučaju supkliničkog oblika pjegavca (djevojčica, 5 godina stara) uspjelo je da se dokažu rikecije u stomacima 3,5% hranjenih ušiju. Pažljivim praćenjem ovih supkliničkih i inaparentnih slučajeva nije se mogla dokazati njihova uloga u širenju pjegavca, iako su boravili najmanje jedan, a češće i više dana u vrlo ušljivoj sredini drugih porodica.

4) Uloga fecesa u inficiranim ušima u prenošenju pjegavca nije mogla biti dokazana. U nizu eksperimenata pri raznim temperaturama i pri raznim uslovima relativne vlage rikecije su u inficiranom fecesu ostale žive najduže 25 dana.

5) Ispitivanje antitijela za pjegavac (CF-test i WF-test) među ovcama i kravama u područjima gdje je ova bolest endemična i u područjima gdje se ova bolest nije javljala preko 5 godina, kao i u domaćinstvima gdje je otkriven pjegavac i gdje nije otkriven — dala su samo 2% pozitivnog reaktora. Kasnijom primjenom nove tehnike: dodavanjem suhog CO₂ serumu pomoću CF-testa dokazano je da se radi o lažnim pozitivnim reakcijama.

6) Autor zaključuje da su BiH rezervoari još uvijek postojećih, iako rijetkih, slučajeva primarnog pjegavca i mnogih oboljenja od Brill-Zinsserove bolesti. Zato preporučuje da se strategija borbe protiv pjegavca vodi u dva pravca:

a) u pravcu aktivnog traženja bolesnika koji boluju od primarnog pjegavca i u hitnom preduzimanju poznatih protivepidemijskih mjera u ognjištu i u okolini — i

b) u pravcu istovremene organizacije sistematske borbe u cilju eradicacije ušljivosti.

Jedino na taj način biće onemogućeno da potencijalni rezervoari pjegavca u vidu Brill-Zinsserove bolesti izazivaju nove slučajeve pjegavca, pa čak i epidemije.

JAKOB A. GAON

THE ROLE OF POSSIBLE RESERVOIRS OF CLASSICAL TYPHUS FEVER IMPORTANT FOR THE ERADICATION OF THIS DISEASE IN SR BOSNIA AND HERZEGOVINA

SUMMARY

The author presents the results of field and laboratory study of testing various hypothesis about the reservoir of typhus fever in SR Bosnia and Herzegovina.

During ten years 352 human sera from patients in Bosnia and Herzegovina suspect to suffer from murine typhus fever have been examined. This disease could be proved neither by isolation of r. pro-

wazeki nor by C. F. test, when used suspension of washed r. prowazeki and r. mooseri.

However sera from 4 patients living in Dalmatia (Adriatic coast) gave positive rising titers for murine typhus fever in agglutination test as well in C. F. test.

In 4 epidemics of typhus fever 6 subclinical and 4 inaparent cases of epidemic typhus fever among small children have been detected. Although in a very lousy environment those cases didn't cause any new infections of typhus fever among susceptible persons.

Using a detailed epidemiologic inquiry form for every of above 500 serologically proved cases of epidemic typhus fever, infected louse fœces couldn't be considered as reservoir in which rickettsiae persisted in time period between two cases of this disease.

The positive typhus fever reactors were not found among sheep and cattle in Bosnia and Herzegovina. This studies have been performed in endemic foci of epidemic typhus fever as well in typhus-free areas.

The author concludes that in Bosnia and Herzegovina as the reservoir of epidemic typhus fever can be considered only the primary cases of still existing typhus fever as well its recrudescence (Brill-Zinsser disease).

LITERATURA

1. Gaon, A. J.: Bull. Wrlld. Hlth. 35, 133—141, 1966.
2. Murray, E. S., Sneyder, J. C.: Atti VI. Congr. Intern. di Microbiologia, Roma 4, 31—44, 1953.
3. Gaon J. A.: Med. arhiv 9, 21—34, Sarajevo 1955.
4. Kostrzewski, J.: Przegl. Epidemiol. Warszawa, 10, 1—15, 1956.
5. Combiesco, D., Burdugan, I., Binzar, V. (cit. Zdrodovskii, P. F.): Vestnik Med. Nauk. SSSR 7, 1958.
6. Zdrodovskii, P. F.: Žur. Mikr. Epid. Imun., Moskva, 9, 138—143, 1962.
7. Zdrodovskii, P. F.: Izdatelstvo »Medicina«, Moskva 1965.
8. Urlić, M.: Higijena, Beograd, 3, 217—224, 1960.
9. Chang, R. S. M., Snyder, J. C., Murray, E. S.: Jour. Immun. 70, 215—221.
10. Chang, R. S. M.: Jour. Immun. 70, 212—214, 1953.
11. Fejgin, B.: Comp. Rend. Soc. Biol. 123, 37—39.
12. Starzyk, H.: Comp. Rend. Soc. Biol. 123, 1221—1225, 1935.
13. Chao, S. H. V.: Sweiz. Ztsch. Path. 12, 507—519, 1949.
14. Weyer, F.: Arch. Inst. Past. Tunis, 36, 411—428, 1959.
15. Reiss-Guttfreund, R. J.: Bull. Soc. Path. Exot. 54, 284—297, 1961.
16. Reiss-Guttfreund, R. J.: J. Trop. Med. 15, 943—949, 1966.
17. Philip, C. B., Lackman, D. B., Philip, R. N., Schenone, H., Coscaron, D.: Acta Medica et Biologica 15, Suppl. 53—60, 1967.
18. Gaon, A. J.: Radovi 12 — Odjeljenje med. nauka Akad. nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine, 75—81.
19. Murray, E. S., Snyder, J. C.: Amer. Journ. Hyg. 53, 22—32, 1951.

SEID HUKOVIĆ

MODEL-SISTEMI U EKSPERIMENTALNOJ FARMAKOLOGIJI*)

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 5. II 1969. g.)

UVOD

Poznato je da organi preživljavaju izvan organizma. Duljina preživljavanja ovisna je o uslovima u koje se organ stavlja nakon izolacije. Osnovno je spriječiti isušivanje, osigurati osmolaritet i odstraniti produkte razgradnje¹. Stepem životne sposobnosti kod organa sa mišićima ocjenjuje se njihovom pokretljivošću. Pokretljivost izoliranih organa koristi se također u ispitivanju djelovanja raznih supstanci. Mišićna aktivnost je spontana ili izazvana. Spontana aktivnost, kao npr. srca, može se mijenjati stimulacijom pripadajućih nerava. Stimulacija akceleransa izaziva ubrzanje i pojačanje, a vagus usporenje i oslabljenje spontane akcije izoliranih atrija ili srca u cjelini^{2, 3, 4, 5, 6}. Neki izolirani organi ne pokazuju spontanu aktivnost. Na duktus deferensu raznih eksperimentalnih životinja ne vidi se skoro nikada spontana aktivnost. Električna stimulacija hipogastričkog simpatičkog nerva, međutim, doводи do znatne mehaničke aktivnosti⁷.

Mehanička aktivnost organa veoma se lako registruje. Rezultat registracije se može mjeriti, broičano izraziti i upotrijebiti za otkrivanje prirodnih zakona. Otkrivši zakonitosti koje vladaju u pojedinim situacijama, pomenuti izolirani organi mogu se upotrijebiti za ispitivanje promjena funkcija pod uticajem raznih supstanci. Ispituje se farmakodinamsko svojstvo novosintetiziranih supstanci, lijekova i otrova. Jednostavna i lagana registracija mehaničkih funkcija pojedinih organa navela je veliki broj istraživača da se koriste rezultatima dobivenim mjerenjem pokreta.

Analitički pristup

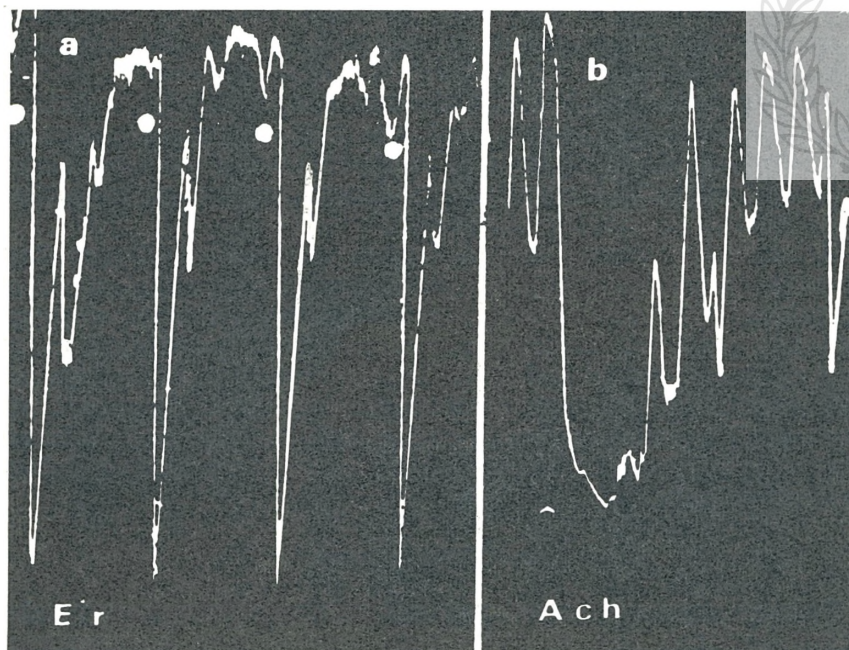
Vađenje organa iz organizma, raščlanjivanje organizma poseban je analitički postupak koji se danas često upotrebljava u eksperimental-

*) Pristupno predavanje dopisnog člana Akademije nauka i umjetnosti BiH prof. dr S. Hukovića, održano 21. I 1969. god. Izrada ovog rada je potpomognuta sredstvima Saveznog fonda za finansiranje naučnih djelatnosti SFRJ.

nim disciplinama medicinske nauke. Osnovno svojstvo eksperimenta uopšte, a medicinskih eksperimenata posebno, jeste variranje uslova po potrebi eksperimentatora. Varirati uslove u kompleksnom sistemu nije lako, jer postoji mogućnost zamjene jednog uslova drugim, odnosno jedne reakcije drugom. Mogućnost zamjene je mnogo manja ako je sistem manje složen, tj. ako se uzme jedan dio sistema i stavi u samo jedan dio potrebnih uslova za preživljavanje, kao što je to slučaj kod izoliranih organa.

Pojednostavljivanje objekta istraživanja i njegovo stavljanje u primitivne uslove povlači za sobom smanjenje sigurnosti u zaključke. Ovdje se javlja stari problem odnosa između cjeline i dijela. Prigovor načinu ispitivanja pomoću izoliranih organa sastoji se u tvrđenju da se mjeri nešto što se normalno ne događa u organizmu, te da ovi dijelovi organizma ne reprezentiraju tačno organizam kao cjelinu, pa čak ni cijeli sistem organa.

Prigovor koji je postavljen na ovaj način mora se uzeti u obzir, ali treba ipak znati da su mnoga fakta, zakonitosti i znanja stečena na osnovu analitičkog postupka. Mnoge činjenice, zakonitosti i teorije neće se moći steći ni u budućnosti bez analitičkog metoda u eksperimentalnoj medicini. Postoji tendenca sve dubljeg raščlanjivanja organizma. Dosada se pretpostavljalo da acetilholin izaziva relaksaciju nekih krvnih žila. Do ovog stava došlo se na osnovu intravenoznog injiciranja acetilholina. Relaksaciju krvnih žila nije bilo moguće vidjeti, tj. nije



Slika 1.

Relaksacije izoliranog korpus kavernoza kunića poslije stimulacije urigentalnog nerva (a) i nakon dodavanja acetilholina (b). Električni stimulus je svake 4 minute u trajanju od 15 sekundi.

bilo direktnog dokaza. Izolirani korpus kavernozum kunića relaksira se na stimulaciju parasimpatičkih nerava (sl. 1 a). Isti organ u posudi za izolirane organe relaksira se na dodati acetilholin (sl. 1 b). Radi se o prvoj strukturi na kojoj se vidi relaksacija na acetilholin.

Tabela 1.
NIVO INTEGRACIJE RAZNIH JEDINICA U STVARANJU PRIRODNIH SISTEMA

Nivo integracije	Jedinica proučavanja	Stručnjak koji eksperimentiše
0*)	Elektroni, protoni, pozitroni itd.	atomski fizičar
1.	Atomi	atomski fizičar
2.	Molekule	hemičari
3.	Molekularni sistemi	biohemičari
4.	Polimolekularni sistemi	enzimolozi
5.	Stanični sistemi	citolozi
6.	Polipolimolekularni sistemi	
7.	Tkivni sistemi policelularni	histolozi, patolozi
8.	Organi politkivni	fiziolozi (izolirani organi)
9.	ORGANSKI SISTEMI POLIORGANSKI	IZOLIRANI ORGANI SA NERVIMA
10.	Organizam polipoliorganski sistemi	kliničari
	Društvo	sociolozi

*) Na 0 nivou integracije je samo nekoliko jedinica; na 1. nivou 102; na 2. nivou preko 800.000 molekula; u 3. daleko više od 800.000 jedinica.

Upotreba izoliranih organa može nam dati direktne dokaze o djelovanju medikamenata; šta više njihova upotreba sa pripadajućim nervima daje nam objekte istraživanja na višem stepenu integracije prirodnih sistema, a u uslovima potrebnim za niži stepen integracije. Izolirani organi sa pripadajućim nervima su veći dijelovi cjeline, a eksperimenti na njima su jednostavni kao na običnim izoliranim organima.

Istraživanja na raznim nivoima integracije

Schueler (1960) u svojoj knjizi o hemobiodinamici iznosi nivoe organizacije i integracije prirodnih sistema. Na tab. 1 data je modificirana tabela Schuelera (1960) o nivoima integracije prirodnih sistema, počevši od osnovnih elemenata do najkompleksnijih struktura⁸. Broj pojedinih elemenata raste eksponencijalno kako raste nivo integracije. Istraživanje je kompleksnije kako raste nivo integracije. Za rješavanje mnogih pitanja eksperimentalni uslovi su jednostavniji na nižim nivoima integracije. Ovaj način istraživanja iskorištava se danas u ekspe-

rimentalnoj medicini za rješavanje mnogih pitanja i problema. Naročito se primjenjuje u ispitivanju mehanizma djelovanja gdje se prave uspoređenja i traže sličnosti sa mehaničkim modelima. Niži nivo integracije može da posluži kao model u objašnjenju mehanizma djelovanja višeg sistema. Mehanički model mora biti veoma jednostavan, pa se neposredni viši nivo integracije ukoliko se uzima kao model naziva model-sistem, jer je mnogo komplikovaniji od običnog modela.

Formulacija problema

Izolirani organi su predmet proučavanja na politkivnom organskom nivou, tj. nivou 7. tab. 1. Uslovi za eksperimente su jednostavni, a to je suspenzija, odnosno perfuzija u aparatu za izolirane organe. Pomenuti jednostavni uslovi trebalo bi da budu iskorišteni za ispitivanje više integracione jedinice. Problem je pripremiti jedinice istraživanja višeg nivoa za istraživanje u uslovima nižeg nivoa, tj. ispitivati izolirane organe sa dijelovima integracionog sistema nervnim sistemom. Ukratko: ostvariti nivo integracije 8. tab. 1, tj. poliorganski sistem, izoliranje organa sa pripadajućim nervima koji treba da služe kao model-sistemi organizma ili bar organskog sistema.

Cilj rada

Cilj ovoga rada je prikazati niz izoliranih organa sa pripadajućim nervima. Prikazati ih izolirane skupa sa intaktnom inervacijom, ili kao reprezentante organizma, ili reprezentante organskih sistema. Jedan od ciljeva ovog rada je prikazati rezultate istraživanja djelovanja pojedinih supstanci na model-sistemima, izoliranim inerviranim organima i nalaženje statističkih konstanti djelovanja medikamenata. Cilj je, također, ukazati na buduća istraživanja, prednosti i potrebu za ovom vrstom preparacija.

METODA

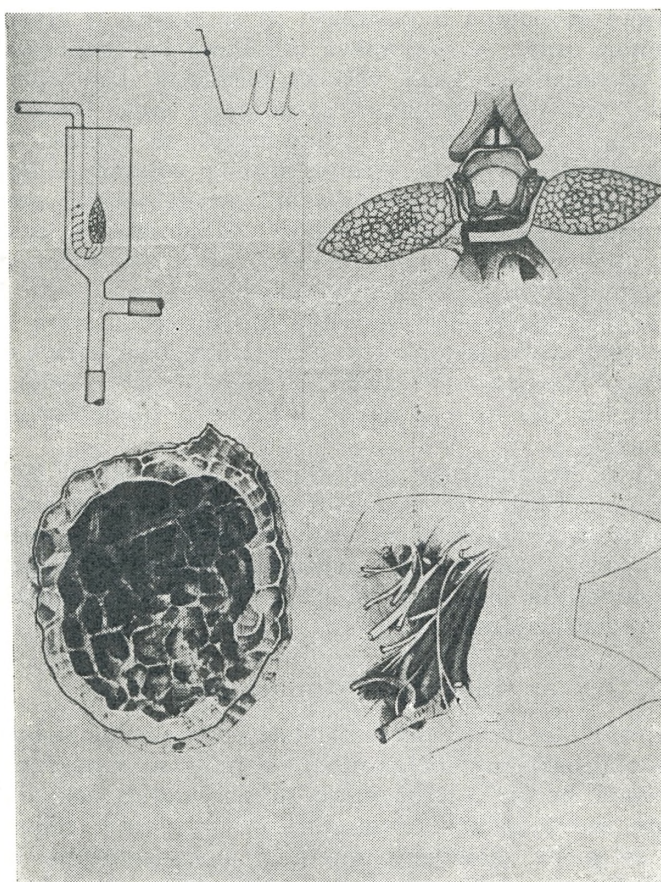
Životinje i preparacije organa

Organi su uzimani od životinja koje su prethodno onesviještene i dekapitirane. Najčešće su upotrebljavani kunići, zamorci, štakori, miševi, žabe i golubovi oba pola. U nekim eksperimentima su uzimani organi čovjeka, odnosno dijelovi pojedinih organa uzeti za vrijeme operacije ekstrakcijom dijelova pojedinih oboljelih organa.

Životinje su prilikom uzimanja organa prvo presječene po medijalnoj liniji. Identificiraju se organi i pripadajući nervi. Obično se uzimaju nervi vegetativnog nervnog sistema, a u slučaju preparacije ezofagusa nervom^{9, 10} uzima se kapitalni živac. Ukoliko je moguće, prepariraju se nervi parasimpatičkog i simpatičkog sistema na jednom organu odvojeno jedan od drugoga, kao npr. na atrijima srca kunića^{2, 3} ili čitavom srcu kunića^{11, 12}. Slično se prepariraju oba nerva na kolonu

kunića¹³. Kolon zamorca¹⁴, kolon štakora i miša¹⁵ obično se prepariraju samo sa holinergičnom inervacijom.

Kada se identificira nerv, onda se ispreparira u duljini od 1 cm, počevši od organa. Nerv se zaveže i presiječe, pazeći da se ne otkine ili ošteti na drugi način. Nije potrebno suviše čistiti vezivno tkivo, jer stimulacija nerva daje odgovarajući rezultat, mada je nerv inkorporiran u drugo tkivo. Na taj način se maksimalno štedi nježna veza nerv—organ. Nerv se nekada nalazi na čvrstim strukturama, kao npr. na mokraćnom mjehuru štakora i miša^{16, 17}, pa je tako moguća lakša manipulacija, jer se nerv i ganglije nalaze u adventiciji uretera. Ureter se zaveže, presiječe i kasnije uvlači u elektrodu. Posebno je jednostavna preparacija jednjaka sisara¹⁰ i traheje goluba¹⁸ — obje sa ograncima vagusnog nerva. Preparacija traheje sisara sa vagusnim nervom do sada uspijeva samo ponekada, međutim *ramii pulmonalis n. vagi* sa plućima žabe uspijeva mnogo češće¹⁹. Pluća žabe se mogu izvnuti kao prst na rukavici, pa se ova preparacija upotrebljava za ispitivanje dje-



Slika 2.

Preparacija pluća sa *ramii pulmonales n. vagi* žabe. Gore, lijevo — suspenzija pluća na koaksijalnu elektrodu, desno — preparacija pluća. Dolje — lijevo je unutrašnjost pluća sa trabekulama, desno — preparacija nerva.

lovanja raznih supstanci apliciranih na pleuralnu ili mukoznu stranu uz istovremenu stimulaciju nerva ili koaksijalnu stimulaciju²⁰.

Pogodna preparacija za ispitivanje efekta stimulacije adrenergičnih nerava je duktus deferens zamorca, kunića, štakora ili miša⁷. Hipogastrični nervi zamorca i kunića vide se u mezogastriju, pa se mogu slijediti do organa. Kod štakora i miša uzima se *plexus hipogastricus* sa dijelovima peritoneuma u neposrednoj blizini organa.

Za ispitivanje prolaza raznih supstanci kroz membrane upotrebljava se komadić ileuma kroz koji prolazi otopina određenog sastava sa mukozne na seroznu stranu²¹.

Vrste suspenzije

Organi se suspendiraju u vlažnoj komori uz istovremenu perfuziju, kao npr. srce kunića⁵, ili, što je češće, potapaju se u posudu za izolirane organe. Primjenjuje se suspenziona, perfuziona ili kombinirana tehnika. Suspenzija organa se vrši u posudi za izolirane organe. Suspendirani organ se potapa u posudu²², ili se fiksira u vlažnoj komori. U vlažnoj komori organ se prekapava otopinom tzv. superfuzija²³. Osim superfuzije i potapanja organa vrši se perfuzija, kao npr. srca kroz koronarne žile, tzv. Langendorfova preparacija srca. Osim organa bez vanjskih nerava, ovi postupci se primjenjuju za organe izolirane sa ekstrinzičkim nervima. Posuda je konstantnog volumena. Kroz otopinu se pušta kisik, zrak ili karbogen. Organi su potopljeni, prekapani ili perfundirani otopinama različitog sastava. Zajedničko je svim otopinama da imaju prilično sličan osmolaritet i približno sličan odnos iona K^+ i Ca^{++} . Osmolaritet se osigurava kuhinjskom solju (oko 130 mMol). Otopina obično ima pufer koji se ostvaruje bikarbonatima i fosfatima. Obično se upotrebljavaju za toplokrvne životinje Tyrođeova²⁴ (1904), Krebs-Henselleitova²⁵ (1933), Krebsova²⁶ (1950), McEve-nova²⁷ (1956), Lockeova za toplokrvne i hladnokrvne životinje i druge otopine²⁸.

Najpovoljniji rezultati se dobijaju pri temperaturi $32^{\circ}C \pm 0,5^{\circ}C$. Jedan kraj organa fiksira se u posudi za izolovane organe, odnosno u vlažnoj komorici, a drugi kraj se veže za pisaljku koja piše po zagaravljenom kimografu. Obično je povećanje na pisaljci 6 puta, a opterećenje koje savlađuje organ iznosi 0,5 g. Radi se o izotoničkim kontrakcijama i registracijama.

Električna stimulacija

Ispreparirani i zavezani nerv provlači se kroz bipolarnu elektrodu. Elektrode su platinski prstenčići među kojima se nalazi polietilenska cijev za ispiranje nerva²⁹. Kroz cijev se perfundira tekućina za ispiranje, ili, češće, sukcijom izvlači otopina iz posude za izolirane organe. Preko nerva se pušta električna energija u konstantnim intervalima, najbolje u toku svake dvije minute u toku dvije sekunde. Električna energija je kvadratičan impuls, submaksimalne jačine, trajanja 0,5—1 msek. Za stimulaciju holinergičnih nerava najpovoljnija frekvencija je 10—20 Hz, a adrenergičnih 20 Hz pa na više.

Transmuralna električna stimulacija je izazivanje mišićne reakcije stimulacijom intramuralnih nerava ili direktno muskulature³⁰. Na sl. 2 vide se preparacija pluća žabe sa nervima i fiksacije organa za transmuralnu stimulaciju²⁰. Električni stimulus je nešto jači nego za stimulaciju nerava za istu visinu reakcije. Ako se želi efekt stimulacije nerava, potrebno je izabrati što kraću duljinu impulsa (0,5—1,0 msek.). Dulji impulsi stimuliraju direktno mišić.

Evaluacija rezultata

Ukoliko je eksperiment sa organima koji imaju spontane pokrete, kao npr. inervirani atrij srca ili inervirano *Langendorfovo srce*, rezultat efekta stimulacije najčešće se prosuđuje mjereći brzinu rada srca. Obično se broje kontrakcije, ili, ukoliko stoji na raspolaganju kardiotahimetar, brzina kontrakcija se registruje automatski. Osim brzine rada srca u nekim eksperimentima mjeri se i evaluira jačina srčane kontrakcije. Osnovno je mjerenje hronotropnog efekta⁶.

U eksperimentima sa organima koji imaju longitudinalnu muskulaturu rezultati se većinom prosuđuju na osnovu kontrakcije longitudinalne muskulature. Mjeri se visina kontrakcija i promjena tonusa. Tonus je predstavljen bazalnom linijom. Promjena visine kontrakcije može biti apsolutna i relativna. Apsolutna visina kontrakcije je ovisna od razmaka između kontrolne bazalne linije i visine kontrakcija, a relativna visina kontrakcije je razmak između promijenjenog tonusa i vrha kontrakcije. Potrebno je izmjeriti maksimalnu moguću kontrakciju izazvanu električnom stimulacijom i izvana dodatim fiziološkim transmittorom. U nekim eksperimentima utvrđuje se potrebna koncentracija supstanci tako da dovede do 50% povećanja submaksimalnu kontrakciju i 50% smanjenja kontrolne visine kontrakcija. Negativan logaritam molarne koncentracije neke supstance koja dovodi do 50% smanjenja visine kontrolne kontrakcije naziva se pB50³¹. Obično je visina kontrolne kontrakcije pola do četvrt maksimalne kontrakcije.

Za određivanje nepoznate koncentracije aktivnih supstanci pomoću izoliranih organa, tj. za esej supstanci na izoliranim inerviranim organima osim pB50 primjenjuju se druge statističke procedure od kojih je najčešće sekvencijalna analiza po Brossu³² (1952). Sekvencijalna analiza omogućava da se još u toku eksperimenta ustanovi kada se može prestati sa daljnjim eksperimentisanjem, tj. kada je dostignuta granica određenog stepena vjerovatnosti.

Supstance

Prilikom upoznavanja svojstava inerviranih izoliranih organa, osim promjene parametara električne stimulacije, upotrebljavaju se razne supstance. Prvo se upotrebljavaju fiziološki transmittori acetilholin, odnosno noradrenalin. Pošto se dobije uvid u djelovanje transmittora, daju se njihovi antagonisti raznih nivoa, odnosno receptora. Tako se za glatku muskulaturu prvo upotrijebi antagonist acetilholina — atropin, za ganglije — heksametonijum, za poprečnoprugastu muskulaturu — tuboku-

rarin. Osim ovih antagonista holinergičnog efekta stimulacije, upotrebljavaju se antiparasimpatikotonici, kao hemiholinijum, sredstvo za sprečavanje stvaranja acetilholina, botulinus i tetradotoksin, kao sredstva za sprečavanje oslobađanja acetilholina. Za sprečavanje efekata fizioloških kateholamina i adrenergične nervne stimulacije upotrebljavaju se alfa i beta-blokatori, najčešće fenoksibenzamin i dihloroizoproterenol. Osim ovih antagonista adrenergičnog nervnog efekta, upotrebljavaju se anti-simpatikotonici, životinja se tretira reserpinom, 6-hidroksidopaminom. U analizi izoliranih inerviranih organa upotrebljava se za pojačanje efekta stimulacije holinergičnih nerava antiholinesteraze, a za pojačanje efekta stimulacije adrenergičnih nerava kokain. Osim pobrojanih osnovnih supstanci upotrebljava se niz drugih supstanci u analizi svojstava pojedinih nervnih efekata.

REZULTATI I DISKUSIJA

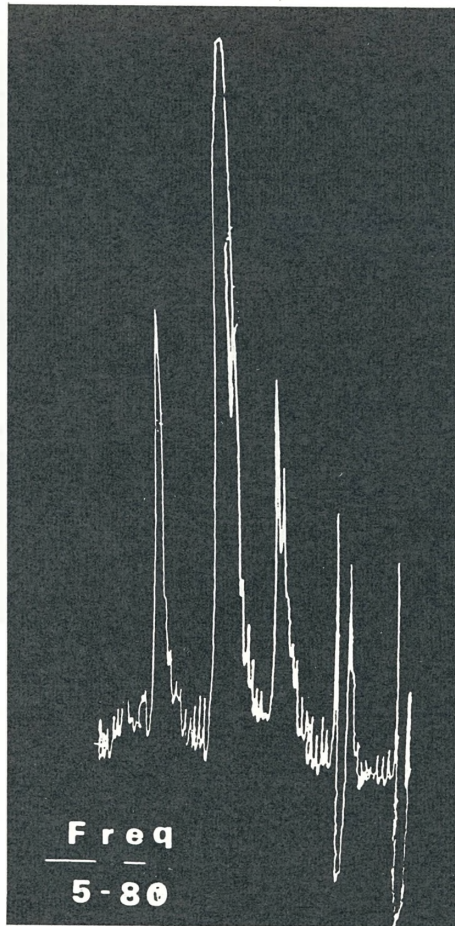
Organi sa pripadajućim nervima stavljeni u pogodne uslove preživljavaju nekoliko dana. Najpogodniji interval za ekstrakciju izoliranih inerviranih organa je neposredno nakon uginuća životinje. Glatko-mišićni organi iz genitourinarnog trakta mogu se vaditi 1—2 sata nakon dekapitacije. Efekt stimulacije nerava, mada slabo, može se izazvati 10—12 sati nakon izoliranja. Izuzetak su izolirana atrija i srce, gdje se efekt stimulacije najbolje može vidjeti neposredno nakon operacije. Prethodna perfuzija koronarnih žila dok je srce in situ osigurava mnogo bolje funkcionisanje izoliranog organa i njegovog nerva¹². Perfuzija drugih izoliranih organa kroz njihove krvne žile oksigeniziranom otopinom prije preparacije daje veoma upotrebljive izolirane inervirane organe.

EFEKTI ELEKTRIČNE STIMULACIJE NERAVA

Konstantna električna stimulacija nerava daje u određenom vremenskom intervalu nakon izolacije ravnomjerne reakcije organa. Obično je potrebno čekati period adaptacije organa prije eksperimenta, tj. 5—10 min. nakon suspenzije, i to stalno stimulirajući nerv organa. Ovisno je od eksperimenata, ali je neke organe u periodu adaptacije bolje stimulirati učestalije — svakih 15—30 sekundi. Takvi su organi ezofagus i duktus deferens. U toku i nakon perioda adaptacije posuda za izolirane organe se ispira nekoliko puta.

Postoji upravan odnos između pojedinih parametara električnog impulsa i jačine reakcije. Ovaj odnos je moguć do određene vrijednosti stimulusa. Na organima gdje se stimulira miješani nerv, kao npr. na rektumu štakora, vidi se da stimulacija nižim frekvencama dovodi do kontrakcije, dok stimulacija višim frekvencama dovodi do relaksacije (sl. 3). Na rektumu zamorca visoke frekvence do 80 Hz i više dovode samo do smanjenja visine izazvanih kontrakcija (sl. 4). Upotrebljavajući logaritam jačine, frekvence ili duljine električnih parametara u

određenom intervalu, može se naći linearan odnos između vrijednosti električnog impulsa i metamera jačine kontrakcije. Ova interpolirana linija se koristi za esej raznih supstanci i iznalaženje brojčanih vrijednosti.



Slika 3.

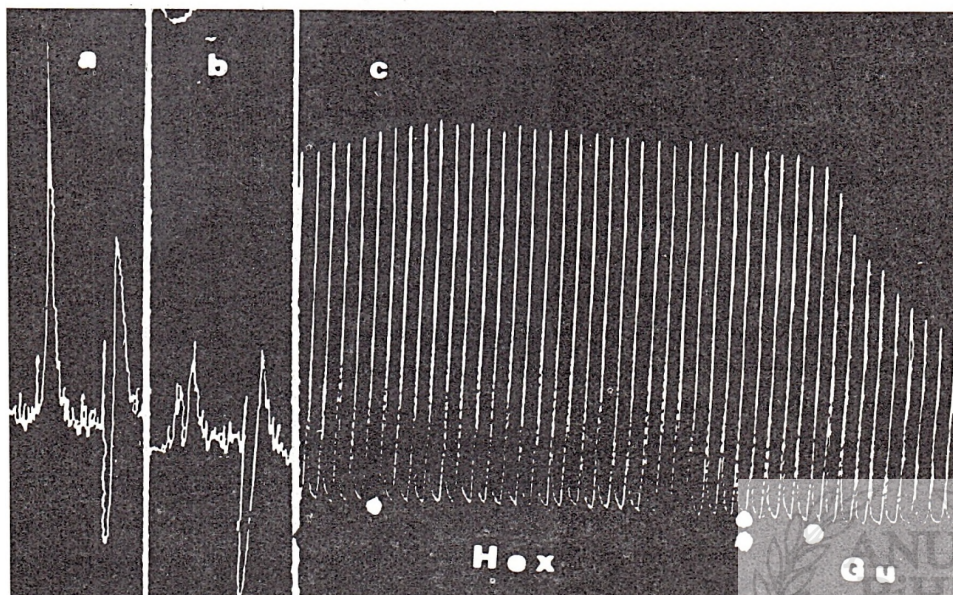
Kontrakcije izoliranog rektuma štakora izazvane raznim frekvencijama: 5, 10, 20, 40 i 80 Hz (10 V, 2 msec., svake 2 minute, u trajanju od 15 sekundi).

Učestala stimulacija se upotrebljava za ispitivanje brzine iscrpljivanja transmitora, kao npr. ezofagusa miša poslije trovanja botulinus toksinom⁹. Na ovoj preparaciji je pokazano da se nervi ezofagusa uzeti od otrovanih miševa brže iscrpljuju nego kontrolni nervi, pa je ova metoda preporučena za ispitivanje koncentracije botulinus toksina.

PREPARACIJE REPREZENTANTI ORGANSKIH SISTEMA

Do sada je autor uspio izolirati organe skoro svih organskih sistema koji u sebi imaju mišićnu komponentu. Izolirani su organi sa pripadajućim nervima iz digestivnog, urinarnog, reproduktivnog, kardiovaskularnog, respiratornog i lokomotornog sistema (tab. 2). Pojedine preparacije mogu poslužiti za ispitivanje sistema koji u sebi nemaju

mišićnu komponentu. Mišićna reakcija u tom slučaju služi samo kao indikator zbivanja u sistemu koji nema mišićnu komponentu. Npr., nervni sistem se može ispitivati pomoću izoliranih inerviranih organa; mišićni organi su indikator, a ispituju se zbivanja u dijelu perifernog



Slika 4.

Kontraksije rektuma (a i b) i duktus deferensa štakora (c) izazvane submaksimalnom stimulacijom pripadajućih vegetativnih nerava.

- a) Kontrolne kontrakcije 10 Hz i 40 Hz.
 b) Hexametonium 50 γ /ml. Smanjena je kontrakcija, a ne relaksacija.
 c) Kod Hex hexametonium 1 mg/ml, kod Gu guanetidin 40 γ /ml. Dvotačka je ispiranje.

nervnog sistema. Preparacija za ispitivanje permeabiliteta³³ služi za ispitivanje prolaza supstanci kroz crijevo sa mukozne na seroznu stranu. U istoj posudi se nalazi indikator — organ na kojeg djeluje aktivna supstanca koja prolazi transmuralno. Organ za ispitivanje prolaza i organ indikator su često izolirani sa pripadajućim nervom. Ovakvi organi indikatori su mnogo osjetljiviji na male količine aktivnih supstanci nego organi izolirani bez nerava. Tako, npr., duktus deferens sa hipogastričkim nervom reagira mnogo jače na dodati adrenalin, nego bez istovremene stimulacije nerva³⁴. U tab. 2 je navedena jedna preparacija dva puta u raznim sistemima. To znači da ona može poslužiti za analizu drugog sistema. Ezofagus, npr., je naveden u mišićnom sistemu i može poslužiti kao odličan model-sistem za reakcije poprečno-prugaste muskulature¹⁰.

Tabela 2.

IZOLIRANI ORGANI SA NERVIMA KAO SREDSTVO ZA ISPITIVANJE
PRIPADAJUĆEG ORGANSKOG SISTEMA

Sistem	Organ	Nerv	Vrsta nerva	Životinja
Digestivni	ezofagus	vagus	čisti holinergični	sve laborat.
	ileum	periarter.	miješani vegetat.	zamorac
	kolon	periarter.	pretežno adrenergični	zamorac, kunić
	rektum	pelvički	pretežno holinergični	zamorac, kunić štakor, miš
Urinarni	mokr. mje- hur	pelvički	čisti holinergični	štakor, miš
Respira- torni	trahea	vagus	čisti holinergični	golub
	pluća	vagus	pretežno holinergični	žaba
Genitalni	dukt. defer.	hipogastr.	čisti adrenergični	sve laborat.
	korp. kaver.	erigens	pretežno holinergični	kunić
	korp. kaver.	hipogastr.	pretežno adrenergični	kunić, zamorac štakor
Kardio- vaskul.	atrij	akcelerans	čisti adrenergični	kunić
	atrij	vagus	pretežno holinergični	zamorac
	srce	akcelerans	čisti adrenergični	kunić
	srce	vagus	pretežno holinergični	zamorac
Mišićni — poprečno prug.	ezofagus	vagus	čisti holinergični	sve laborat.
Membrane	ileum	periarter.	miješani vegetat.	sve laborat.

UTICAJ SUPSTANCI NA EFEKTE STIMULACIJE NERAVA

1. Efekt prethodnog tretiranja antisimpatikotonicima i antiparasimpatikotonicima

Davanje reserpina (3 dana 1—2 mg/kg) smanjuje efekt stimulacije adrenergičnih nerava na srcu kunića², duktus deferensa zamorca⁷ i drugih adrenergičnih nerava. Prethodno tretiranje 6-hidroksidopaminom (30 mg/kg i. v.) smanjuje adrenergičnu komponentu efekta stimulacije periarterielnih nerava kolona miša³⁵.

Davanje hemiholinijuma (50—300 ug/ml) na mokraćnom mjehuru štakora smanjuje efekt stimulacije u roku od 3 sata¹⁷. Prethodno tretiranje miša sa $4 \times LD_{50}$ botulinus toksina dovodi do veoma brzog iscrpljivanja efekta stimulacije vagusa na ezofagusu⁹.

2. Aktivitet simpatikolitika i parasimpatikolitika

Neki simpatikolitici povećavaju, a drugi smanjuju efekte stimulacije holinergičnih, odnosno adrenergičnih nerava. Alfa-simpatikolitik, fenoksibenzamin povećava efekt stimulacije akceleransa na izoliranim atrijima kunića² i efekta stimulacije hipogastrikusa na duktus deferensu zamorca i kunića⁷. Beta-simpatikolitici dihaloroizoproterenol i propranolol smanjuju efekte stimulacije adrenergičnih nerava. Guanetidin smanjuje efekt stimulacije obje vrste vegetativnih nerava.

Atropin smanjuje efekt stimulacije holinergičnih i adrenergičnih nerava. Djeluje mnogo jače na neke holinergične nego na adrenergične nerve. Djelovanje atropina na holinergične nerve je mnogo slabije nego se očekuje s obzirom na jak antagonistički efekt prema acetilholinu dodatom izvana³⁶. Na izoliranom rektumu kunića i zamorca sa pripadajućim holinergičnim pelvičkim nervom atropin može dovesti do blokade efekta stimulacije nerva. Na ostalim preparacijama se vidi djelomična, a nekad potpuna rezistencija prema atropinu, ma da se radi o stimulaciji holinergičnih nerava, kao npr. na mokraćnom mjehuru, plućima, traheji, rektumu štakora i miša, korpus kavernoza, ezofagusu itd. Rezistencija prema atropinu je nađena kod psa, mačke i kunića^{37, 38, 39, 40, 41, 42}. Ovo opažanje u vezi sa atropinom navelo je mnoge da smatraju nerve parasimpatikusa neholinergičnim. Eksperimenti sa antiholinesterazama i drugim antiholinergičnim supstancama su često relevantniji u karakterizaciji nerva nego osjetljivost na atropin³⁶.

Upotrebljavajući pB, novu statističku konstantu³¹, bilo je moguće uporediti efekte specifičnih antiholinergičnih spojeva na kontrolnim organima i organima prethodno tretiranim antiholinesterazama. Pretpostavljalo se da tretiranje antiholinesterazama mijenja osjetljivost izoliranih organa prema atropinu. Nije uspjelo, međutim, u eksperimentu pokazati znatnu promjenu osjetljivosti prema atropinu⁴³. Osjetljivost prema atropinu mijenja se nešto samo u prvih nekoliko minuta, i to na organima sa glatkim mišićima. Na poprečnoprugastoj muskulaturi ezofagusa poslije antiholinesteraza atropin povećava efekt stimulacije nerava.

Kurare i sukcinilholin smanjuju efekt stimulacije holinergičnih nerava na ezofagusu kunića, zamorca, štakora i miša. Mnogo je djelotvorniji tubokurarin od sukcinilholina. Pomenute preparacije mogu poslužiti za analizu kurariformnih supstanci⁴⁰.

3. Efekt parasimpatikomimetika i simpatikomimetika

Parasimpatikomimetici povećavaju efekt stimulacije obje vrste nerava, dok simpatikomimetici povećavaju efekt stimulacije pretežno adrenergičnih nerava, a, po pravilu, smanjuju efekte holinergične stimulacije. Uticaj antiholinesteraza na efekte stimulacije nerava, i to

nižom frekvencom stimulusa je, po pravilu, povećanje reakcije na obje vrste nerava. Efekti nervne stimulacije višom frekvencom (30 Hz i više) mogu biti smanjenje reakcije, kao npr. na ezofagusu prethodno tretiranom antiholinesterazama. Efekt stimulacije adrenergičnih nerava povećava se pod uticajem antiholinesteraze. Ovaj pojačavajući efekt antiholinesteraze, naročito u prisustvu atropina, inverzan efekt stimulacije simpatičkih vlakana nakon resorpina, te neke holinergične strukture u simpatičkom sistemu naveli su Burna da postavi hipotezu da acetilholin igra ulogu u oslobađanju noradrenalina iz simpatičkih postganglionarnih vlakana. Slično djelovanje holinergičnih vlakana imamo u nadbubrežnoj žlijezdi^{4, 5}.

Glavni efekt antiholinesteraza na tetaničke kontrakcije poprečno-prugastih mišića je depresija, bilo zbog depolarizacionog bloka uzrokovanog akumulacijom acetilholina⁴⁵, bilo zbog većeg broja i veličine oslobođenih kvanta acetilholina i mogućnosti acetilholina u toj situaciji da aktivira »inhibitorne centre«⁴⁶. Simpatikotonici, kao kokain, dovode do povećanja efekta stimulacije adrenergičnih nerava ukoliko ne prevlada u posudi za izolirane organe lokalneestetski efekt kokaina. Prilikom karakterizacije izoliranih organa sa adrenergičnim nervima veoma često se upotrebljava kokain. Kokain povećava efekt stimulacije adrenergičnih nerava.

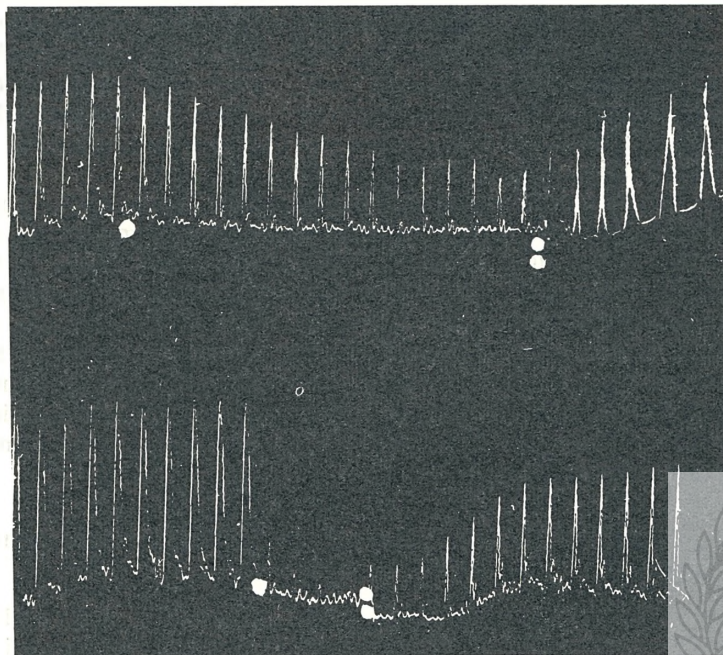
4. Ganglionstimulatori i blokatori na izoliranim inerviranim organima

Ganglionstimulatori povećavaju efekt stimulacije holinergičnih⁴⁷ i adrenergičnih nerava. Efekti stimulacije su prilično rezistentni prema ganglionblokatorima, posebno efekti stimulacije adrenergičnih nerava (sl. 4 c). Izuzetak je rektum štakora, miša i zamorca čija je holinergička komponenta osjetljiva prema heksametonijumu. Adrenergička komponenta, stimulacija, periarterijalnih nerava nije reagovala na heksametonijum, kako se to vidi na sl. 4 a i 4 b. U većim koncentracijama ganglionblokatori dovode do bloka efekta stimulacije, ali se tu radi o nespecifičnom efektu heksametonijuma. Na sl. 5. se vidi efekt infundiranog heksametoniuma 0,5 gama/ml na rektumu miša. Vidi se da je preparacija osjetljiva na heksametonijum i da brzo dolazi do bloka efekta stimulacije raznih stepeni. Nikotin redovito dovodi prvo do povećanja, a zatim smanjenja efekta stimulacije obje vrste nerava. Ovisno je od koncentracije i vremena djelovanja to koja komponenta će se bolje vidjeti.

5. Uticaj iona, autakoida, hormona, antivitaminata, hemoterapeutika, toksina i dr. supstanci

Ioni kalija dovode do jake kontrakcije mišića i bloka efekta stimulacije. Smanjivanjem koncentracije K^+ veoma se brzo vraća efekt stimulacije nerava na kontrolne vrijednosti. Kalcijum također dovodi do povećanja tonusa, ali za razliku od K^+ ujedno i povećava efekt stimulacije. Ioni kalcija ne dovode do bloka nerava⁴⁷. Ca^{++} na izoliranim plućima prvo dovode do povećanja tonusa, a iza toga do relaksa-

cije. Relaksacija uslijedi nakon stimulacije nerva, pa se pretpostavlja da je pod uticajem povećane količine Ca^{++} posebno povećan efekt adrenergične komponente nervne stimulacije⁴⁸.

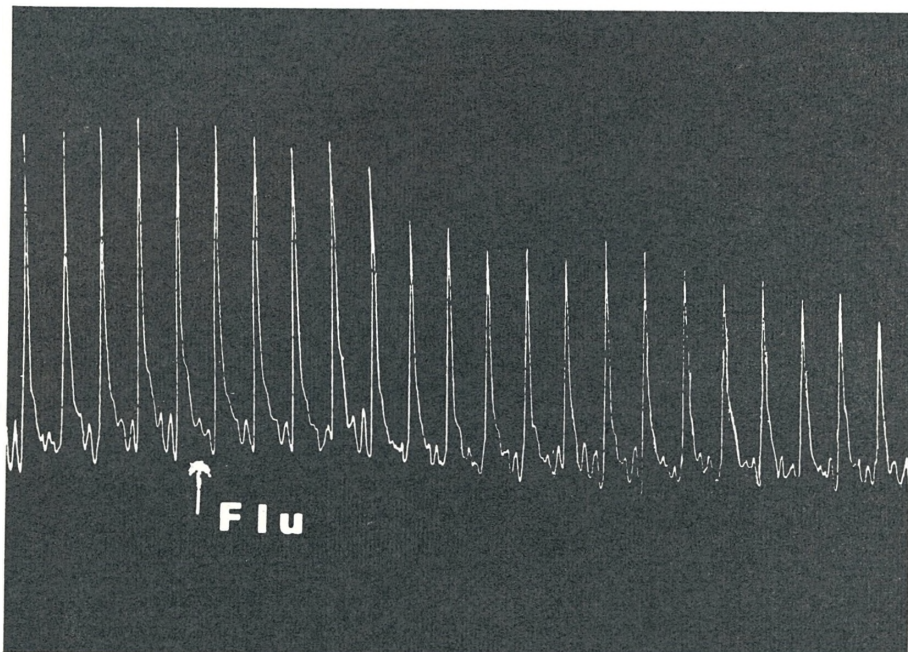


Slika 5.

Kontraksije izolovanog rektuma miša izazvane submaksimalnom električnom stimulacijom nerava (20 Hz, 1 msec. svake minute, 1 sek.). Gore — infuzija heksametonijuma 0,5 γ /min/ml. Dolje — 50 γ /ml. heksametonijum.

Na mnogim organima ispitivan je aktivitet bradikina, 5-hidroksitriptamina i histamina. Efekti su različiti. Bradikinin obično dovodi do povećanja efekta stimulacije obje vrste nerava. 5-HT djeluje izuzetno na plućima kao jaki relaksans²⁰, inače povećava efekt stimulacije obje vrste nerava. Histamin u mnogim slučajevima djeluje kao agonist acetilholina, ali na rektumu štakora i miša dovodi do relaksacije, efekta sličnog stimulaciji adrenergičnih nerava, odnosno dovodi do kontrakcije korpus kavernoza slično noradrenalinu i stimulaciji adrenergičnih nerava¹².

Hormoni topivi u vodi djeluju na efekt stimulacije holinergičnih i adrenergičnih nerava na različit način, ali pretežno smanjuju efekt stimulacije nerava i djeluju spazmolitički. Pretežno djeluju spazmolitički hormoni kore nadbubrežne žlijezde⁴⁹. Na sl. 6 se vidi depresorni uticaj 9-alfa-hidroksizona na efekt stimulacije pelvičkog nerva na mokraćnom mjehuru. Organi reagiraju na holinergičnu inervaciju veoma slično kontrolnim organima ukoliko su uzeti od životinja prethodno tretiranih antivitaminima⁵⁰.



Slika 6.

Mikcione kontrakcije štakora izazvane submaksimalnom električnom stimulacijom nerva (20 Hz, 1 msec. svake minute, 2 sek.). Kod flu dodan je 9 α -fluorohidrokorizon 100 γ /ml.

Uticao streptomicina, paraaminosalicilne kiseline i izoniacida ispitivan je na izoliranim inerviranim plućima. Ustanovljeno je da pomenuti tuberkulostatici smanjuju efekte stimulacije i dovode do relaksacije alveolarne muskulature⁵¹.

Uticao etanola je na neke organe spastički, a na druge spazmolitički. Na mokraćnom mjehuru, plućima i krvnim žilama etanol djeluje spastički i povećava efekt stimulacije⁵². Spasmolitički etanol djeluje na ileum, duktus deferens i ezofagus⁵³ (Huković et al., 1967), odnosno smanjuje efekt stimulacije nerava. Od ostalih otrova treba spomenuti depresorni uticaj baritne prašine na plućnu reakciju⁵⁴, spastički i spazmolitički efekt raznih derivata fenola, toluola, nitrotoluola itd.⁵⁵.

Posebno se izolirani organi sa pripadajućim nervima upotrebljavaju u ispitivanju potencijalnih bojnih otrova. Organi otrovani bojnim otrovima reaguju u početku pojačano na nervnu stimulaciju, a kasnije dolazi do depresornog efekta i smanjenja funkcija. Na ovako otrovanim organima ispituju se supstance da se ustanovi njihova reaktivatorna sposobnost.

6. Efekti alergične reakcije na izolirane inervirane organe

Alergična reakcija pojačava efekt stimulacije holinergičnih i adrenergičnih nerava na glatkoj muskulaturi. Efekt nervne stimulacije na poprečnoprugastoj muskulaturi je smanjen u toku reakcije antigen—

antitijelo. Spomenuti efekti mogu se protumačiti povećanim oslobađanjem histamina i kombiniranim djelovanjem histamina sa transmittorima vegetativnog nervnog sistema⁵⁶.

Numeričke vrijednosti

Uticaj raznih supstanci na efekt stimulacije nerava najčešće se izražava kvalitativno, tj. tvrdi se samo da dolazi do povećanja ili smanjenja reakcije. Postoji potreba da se uticaj određene koncentracije modifikatora nervne transmisije izrazi kvantitativno. U tom cilju izrađena je statistička konstanta pB_x^{31} . pB_{50} je negativni logaritam molarne koncentracije supstance koja dovodi do 50% smanjenja visine kontrakcije. Ova vrijednost je farmakološka karakteristika svake supstance, kao što su njene fizikalno-hemijske karakteristike, npr., topivost, apsorpcioni spektar itd. Neki primjeri pB_{50} mogu se vidjeti na tab. 3.

Tabela 3.

PROMJENA EFEKTA STIMULACIJE PRIPADAJUĆIH NERAVA POD UTICAJEM SPECIFIČNIH I NESPECIFIČNIH BLOKATORA NERVOG SISTEMA i NJENA NUMERIČKA VRIJEDNOST pB_{50} *)

Supstanca	ORGAN IZOLIRAN SA PRIPADAJUĆIM NERVOM				
	Ezofagus	Trahea	Rektum	Mok. mjeh.	Duk. def.
Atropin	3,87 ± 0,5	4,00 ± 0,4	9,11 ± 0,3	3,79 ± 0,1	—
Heksametonium	3,86 ± 0,1	6,87 ± 0,5	7,05 ± 0,1	—	—
Sukcinilholin	6,19 ± 0,1	5,94 ± 0,1	3,52 ± 0,4	3,93 ± 0,3	—
Prokain	4,23 ± 0,3	5,28 ± 0,1	4,59 ± 0,4	4,16 ± 0,4	—
Toksogonin	2,77 ± 0,1	—	—	2,80 ± 0,1	3,63 ± 0,1
TMB-4	3,46 ± 0,1	—	—	2,11 ± 0,1	3,07 ± 0,2
Pralidoksim	2,51 ± 0,3	—	—	1,76 ± 0,3	1,21 ± 0,2

*) pB_{50} negativni logaritam molarne koncentracije blokatora, koji za 50% smanjuje izazvanu kontrolnu kontrakciju.

Svakoj supstanci u farmakološkoj analizi treba odrediti pB . Ova vrijednost može da bude mjera sporednog djelovanja lijekova. Predstoji veliki posao u evaluaciji medikamenata, jer treba naći numeričke vrijednosti, farmakološke konstante iz kojih će se moći uočiti farmakodinamska, odnosno toksična, sporedna svojstva.

Budući zadaci

Upotreba izoliranih inerviranih organa olakšava istraživanja u farmakologiji i ostalim eksperimentalnim medicinskim disciplinama. Jedan od glavnih zadataka u farmakologiji je analiza nosintetiziranih supstanci. Danas se supstance mnogo brže sintetiziraju nego farmakološki ispituju. Prema tome, farmakološka analiza mora biti ubrzana

i unaprijedena. Posebno je važno naći mogućnost da se ocijeni sporedni efekt medikamenata. Za ovu ocjenu postoji urgentna potreba u farmakologiji. Tehnika koja se danas upotrebljava je spora i relativno skupa. Najopasnije je to što postoji mogućnost da promakne važna supstanca, tj. da se neka supstanca u početnom dijelu analize neopravdano proglasi neinteresantnom i nevažnom.

Mislimo da će daljnjim usavršavanjem izoliranih organa sa pripadajućim nervima biti stvorena mogućnost za brže, sigurnije i jeftinije analize, a posebno u kritičnoj fazi akceptiranja ili odbacivanja novosintetiziranih supstanci. Pomenute preparacije će omogućiti također da se nađu numeričke vrijednosti farmakodinaskog, odnosno toksikološkog efekta pojedinih supstanci. Pronalaženje numeričkih vrijednosti svake supstance, kao i njihova sistematizacija po farmakodinamskom djelovanju omogućiće u farmakologiji novu orijentaciju u istraživanju novih lijekova.

ZAKLJUČAK

Izolirani su organi sa pripadajućim egstrinzičkim nervima iz 5 organskih sistema iz digestivnog, reproduktivnog, kardiovaskularnog, respiratornog i urinarnog sistema. Organi in vitro regularno reaguju na konstantne električne stimuluse nerava.

Zaključci izvedeni iz rezultata dobivenih na organima izoliranim sa pripadajućim nervima su relevantniji za organizam kao cjelinu nego oni na organima bez nerava. Organi izolirani sa nervima su veći dijelovi cjeline na kojima se vrše ispitivanja u jednostavnim uslovima.

Farmakološke konstante supstanci, kao što je koncentracija za 50% smanjenja ili povećanja efekta stimulacije, potrebne su za evaluaciju rezultata o djelovanju neke supstance na izolirane inervirane organe. Ove konstante treba unositi u kataloge skupa sa drugim fizikalno hemijskim konstantama.

U analizi svojstava izoliranih inerviranih organa upotrebljava se nekoliko desetina supstanci, među koje spadaju grupe supstanci kao što su antiadrenergici i antiholinergici, stimulatori adrenergičnog i holinergičnog sistema, simpato i parasimpatikomimetici i litici. Nakon što se utvrde svojstva preparacije, ispituju se novosintetizirane supstance.

Na ovim organima do sada je ispitivano približno 100 raznih supstanci. Rezultati većine radova su ukratko uneseni i objašnjeni. Veći broj rezultata odnosi se na potencirajući uticaj antiholinesteraza na obje vrste nerava, atropinsku rezistenciju, te uticaj antiparasimpatikotonika i antisimpatikotonika.

Na seriji izoliranih organa sa vanjskim nervima moći će se ubrzati analiza novosintetiziranih supstanci. Moći će se isto tako steći brži uvid u prirodne zakone i poboljšati tehnika u eksperimentalnoj medicini.

SEID HUKOVIĆ

DIE MODELL-SYSTEMEN IN DER EXPERIMENTALLER PHARMAKOLOGIE

ZUSAMMENFASSUNG

Es werden Organe mit zugehörigen egstrinsischen Nerven aus 5 Organsystemen: dem digestiven, reproduktiven, kardiovaskulären, respiratoren und urinären System, isoliert. Die Organe reagieren regulär in vitro auf konstante elektrische Stimuluse der Nerven. Organe mit isolierten Nerven sind grössere Teile eines Ganzen, an denen man unter einfachen Bedingungen, Forschungen durchführt. Nach dem man die Präparationen feststellt, werden an ihnen neusynthetisierte Substanzen untersucht. An diesen Organen sind bis jetzt schon annähernd 100 verschiedene Substanzen untersucht worden. Man wird an einer Serie isolierter Organe mit äusseren Nerven, die Analyse neusynthetisierter Substanzen beschleunigen können, sowie auch eine schnellere Einsicht in die Gesetze der Natur gewinnen und die Technik in der experimentellen Medizin verbessern.

LITERATURA

1. Ther L.: »Grundlagen der experimentellen Arzneimittelforschung«, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1965).
2. Huković S.: Brit. J. Pharmacol. 14, 372 (1959).
3. Huković S.: Brit. J. Pharmacol. 15, 117 (1960).
4. Huković S., Muscholl E.: Naunyn-Schmiedebergs' Arch. exp. Path. Pharmak. 244, 81 (1962).
5. Burn J. H. u. Huković S.: J. Physiol. 186, 33P (1966).
6. Huković S.: Brit. J. Pharmacol. 28, 273 (1966).
7. Huković S.: Brit. J. Pharmacol. 16, 188 (1961).
8. Schueler F. W.: »Chemobiodynamics and drug design«, McGraw-Hill Book Com., New York (1960).
9. Huković S. u. Stern P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 254, 401 (1966).
10. Huković S.: Societas Pharmacologica Hungarica IV, Conferentia Hungarica pro therapia et investigatione in pharmacologia 503 (1967).
11. Huković S. u. Muscholl E.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 243, 348 (1962).
12. Huković S. et Bubić I.: Path. Biol. 15, 153 (1967).
13. Gillespie J. S. and Mackenna B. R.: J. Physiol. (Lond.) 147, 31P (1959).
14. Boyd H., Burnstock G., Campbell G., Jowett A., O'Shea J. a. Wood M.: Brit. J. Pharmacol. 20, 418 (1963).
15. Huković S. a. Smomogyi Gy.: Pharm. Research Comm. (u štampi, 1969).
16. Huković S. i Bubić I.: Naučno društvo SRBiH, »Radovi« 21, Odjelj. med. nauka, knj. 9, 127 (1963).
17. Huković S., Rand M. J. and Vanov S.: Brit. J. Pharmacol. 24, 178 (1965).
18. Huković S., Brankov K. and Igić R.: Jugoslav. physiol. pharmacol. acta 4, 129 (1968).
19. Huković S., Igić R. and Brkić S.: Jugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta 2—3, 119 (1965).

20. Huković S. und Stern P.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. exp. Path. 259, 210 (1968).
21. Malik K. U. i Huković S.: Medicinski vjesnik 3—4, 51 (1966).
22. Magnus cit. Ther L.: »Grundlagen der experimentellen Arzneimittelforschung«, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1965).
23. Gaddum J. H.: Brit. J. Pharmacol. 8, 321 (1953).
24. Tyrode M. V.: Arch. Inter. Pharmacodyn. 20, 205 (1910).
25. Krebs H. A. und Henseleit K.: Hoppe-Seylers Z. 210, 33 (1932).
26. Krebs H. A.: Biochim. Biophys. Acta 4, 249 (1950).
26. Krebs H. A.: Biochem. Biophys. Acta 4, 249 (1950).
27. McEwen I. M.: J. Physiol. (Lond.) 131, 678 (1956).
28. Locke cit. Ther L.: »Grundlagen der experimentellen Arzneimittelforschung«, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1965).
29. Burn J. H. a. Rand M. J.: J. Physiol. (Lond.) 150, 295 (1960).
30. Paton W. D. M.: Brit. J. Pharmacol. 11, 119 (1957).
31. Huković S.: Akademija nauka i umjetnosti BiH, »Radovi« 31, odjelj. med. nauka, knj. 12, 83 (1966).
32. Bross J.: Biometrics 8, 188 (1952).
33. Malik K. U. a. Huković S.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. exp. Path. 257, 42 (1967).
34. Huković S. a. Malik K. U.: Iugoslavica Physiologica et Pharmacologica Acta 1, 157 (1965).
35. Stern P. u. Huković S.: u pripremi za štampu.
36. Ambache N.: Pharmacol. Rev. 7, 467 (1955).
37. Langley J. N. a. Anderson H. K.: J. Physiol. (Lond.) 19, 71 (1895).
38. Henderson V. E. a. Roepke M. H.: J. Pharmacol. exp. Ther. 54, 408 (1935).
39. Edge N. D.: J. Physiol. (Lond.) 127, 54 (1955).
40. Ursillo R. C. a. Clark B. B.: J. Pharmacol. exp. Ther. 118, 338 (1956).
41. Ursillo R. C.: J. Pharmacol. exp. Ther. 131, 231 (1961).
42. Burnstock G. a. Campbell G.: J. exp. Biol. 40, 421 (1963).
43. Huković S., Brankov K., Miletić S.: Iugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta, 4, 73 (1968).
44. Burn J. H. a. Rand M. J.: Nature 184, 163 (1959).
45. Blaber L. C. and Bowman W. C.: Brit. J. Pharmacol. 20, 326 (1963).
46. Huković S., Igić R., Miletić S.: Iugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta 3, 295 (1967).
46. Huković S. i Bubić I.: Acta Medica Iugoslavica 17, 279 (1963).
48. Huković S. and Jordanov T.: Iugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta 3, 299 (1967).
49. Huković S. i Sarajlić E.: Folia Medica Facultatis Medicine Universitatis Saraeviensis 3, 203 (1968).
50. Huković S., Igić R. and Bašagić E.: Folia Medica Facultatis Medicinae Universitatis Saraeviensis 3, 257 (1968).
51. Serdarević H. and Huković S.: Folia Medica Facultatis medicinae Universitatis Saraeviensis 2, 65 (1967).
52. Huković S. i Rustembegović F.: Medicinski zbornik 5, 21 (1967).
53. Huković S., Malik K. U., Smajkić A.: Alcoholism 3, 1 (1967).
54. Huković S., Mikšić J.: Medicinski vjesnik 1—2, 55 (1967).
55. Huković S. and Stanković D.: Folia Medica Facultatis medicinae Universitatis Saraeviensis, 1969 (u štampi).
56. Huković S. and Stern P.: Folia Medica Facultatis medicinae Universitatis Saraeviensis 2, 73 (1967).

DŽEMAL REZAKOVIĆ, ALEKSANDAR NIKULIN, PAVLE
PLAMENAC, EDITA GMAZ-NIKULIN I BRANKO PIKULA

**DJELOVANJE HEPARINA NA RAZVOJ HISTAMINSKOG ŠOKA
I NA OBNAVLJANJE FAKTORA KOAGULACIJE: FIBRINOGEN,
PROTROMBINA (F II), AKCELERINA (F V), KOMPLEKSA
KONVERTIN-STUART (F VII—X) I TROMBOCITA ZA VRIJEME
OPORAVKA NAKON ŠOKA*)**

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 5. II 1969. g.)

Novija istraživanja patogeneze histaminskog šoka pokazala su da se u akutnom šoku u raznim organima, od kojih neki determiniraju sliku i simptomatologiju šoka (npr. jetra, pluća, bubrezi, miokard itd.), javljaju mnogobrojne nakupine aglomeriranih trombocita koji zapuše njihovu kapilarnu mrežu (Nikulin, Nikulin i Lapp) (1, 2). Naša dalja istraživanja ponašanja trombocita »in vivo« i »in vitro« pokazala su da se tu ne radi o lokalnom aglomeriranju trombocita, nego o dinamičnom stvaranju aglomerata u krvi, praćenom njihovim emboliziranjem u kapilare dotičnih organa (Nikulin, Rezaković, Plamenac) (3). Slično ponašanje trombocita i pojava mikroembolija zapaženi su i u hemoragičnom šoku (Crowell i Read, Robb, Hardaway) (4, 5, 6, 7, 8), traumatskom šoku (Bergentz, Hardaway) (9, 6), kao i u anafilaktičnom, te septičnom šoku (Hardaway) (6).

Pojava patološko-anatomskih ekvivalenata šoka je, prema tome, usko vezana sa ovim zbivanjima (Sandritter i Lasch) (10), a istovremeno se promjene u šoku reflektiraju i na procese hemostaze, u kojima imaju svoju ulogu i trombociti (Nikulin, Rezaković, Plamenac i Pikula) (11).

Kako su naša ispitivanja globalne hemostaze u akutnom histaminskom šoku i u petodnevnom periodu oporavka pokazala da se najintenzivnije promjene odigravaju u onom stadiju hemostaze gdje presudnu ulogu igraju faktori iz protrombinskog kompleksa, prvenstveni zadatak ovog rada bi bila analitička studija faktora koji pripadaju protrombinskom kompleksu (FF II, V, VII—X), a zatim i fibrinogena, te trombocita. Šok se može, prema Hardawayu (6), definirati kao stanje neadekvatne kapilarne perfuzije i predstavlja jednu neposrednu i primarnu manifestaciju diseminirane intravaskularne koagulacije (SDIC).

*) Rad je finansiran sredstvima Republičkog fonda za naučni rad SRBiH.

U vezi s eksperimentalnim tretiranjem šoka već se nekoliko godina diskutira o mogućnosti upotrebe antikoagulantnih materija, napose heparina, kako bi se spriječile pogubne posljedice intravaskularne koagulacije i posljedične kaogulopatije potrošnje, jer upravo one vode šok u njegovu ireverzibilnu fazu. Tako je *Hardaway* u nizu publikacija (6, 7, 8) pokazao da heparin djeluje protektivno i da sprečava smrt, odnosno sprečava nastanak SDIC-a u endotoksinskom i hemoragičnom šoku. *Goodman* i saradnici (12) su nakon preventivne medikacije pokusnih životinja heparinom našli da kapilarna lumina nakon izazvanog »regionalnog« (postishemičnog) šoka ostaje prazna i otvorena, dok je bez heparinizacije bila obturirana mikroembolima. Izvjesne ohrabrujuće eksperimentalne i kliničke uspjehe heparinizacije u tretiranju traumatskog šoka spominje i *Mathes* (13).

Kako u svim ovim radovima pitanje histaminskog šoka nije uopće bilo tretirano, smatrali smo neobično važnim ispitati i djelovanje heparina u uslovima akutnog histaminskog šoka i u periodu oporavka, i to kako njegovu direktnu terapijsku ulogu, tako i njegovo djelovanje na dinamiku konzumacije pojedinih faktora koagulacije u toku histaminskog šoka i njegovog obnavljanja u periodu oporavka nakon preživljenog šoka.

MATERIJAL I METODIKA

Za eksperimenat su upotrijebljena 72 kunića oba spola, prosječne težine 2,5 kg. Prije početka eksperimenta sve životinje su u trajanju od najmanje 7 dana stavljene pod iste životne uslove i na istovrsnu ishranu.

Histaminski šok je izazivan intravenskim ubrizgavanjem (u ušku) histamin-liberatora Polymyxin-B-sulfata u empirijskoj dozi od 0,8 mg/kg tjelesne težine. Pri brzom ubrizgavanju navedene supstance dolazi do ireverzibilnog histaminskog šoka i letalnog završetka. (Detaljniji opis doziranja i metodike izazivanja šoka dao je *Nikuljin* 1964.)

Pokusne životinje su podijeljene u slijedeće grupe:

Kontrolna grupa (6 ♂ 6 ♀). Životinje u ovoj grupi su tretirane samo fiziološkom otopinom NaCl, koja je bila injicirana i.v. u količini od 1 ccm/kg tjelesne težine. Injiciranje se vršilo u centralnu venu uške.

Pokusne grupe:

a) (7 ♂ 5 ♀) Životinje u ovoj grupi su tretirane sa Polymyxin-B-sulfatom*), injiciranim u centralnu venu uške, i to veoma brzo, za dobijanje ireverzibilnog šoka sa smrtnim završetkom.

b) (7 ♂ 5 ♀) Životinje u ovoj grupi su tretirane također sa Polymyxin-B-sulfatom, injiciranim u centralnu venu uške, ali sasvim polagano, da bi životinje preživjele šok.

c) (11 ♂ 13 ♀) Postupak kao u pokusnoj grupi »a«. Polymyxin je brzo injiciran intravenskim putem. Kada su se počeli razvijati prvi

znaci šoka, injiciran je također intravenskim putem heparin*) u dozi od 2000 I. J./kg tjelesne težine.

Životinjama iz kontrolne grupe, kao i životinjama, koje su preživjele šok, uzimana je krv na analizu u vremenskim razmacima i to: 15 minuta nakon aplicirane supstance, zatim 60 minuta, 3 sata i 6 sati nakon aplikacije supstanci, i vršena analiza sljedećih faktora koagulacije:

- a) fibrinogen — biuretska metoda (14),
- b) faktor II — Stago reaktiv: AC (15),
- c) faktor V — Stago reaktiv: PC (15),
- d) kompleks-faktor VII—X — Stago reaktiv: AP (15),
- e) broj trombocita (15).

U posebnoj grupi od 12 životinja (6 ♂, 6 ♀) koje nisu primale nikakve supstancije ispitivani su navedeni faktori pod normalnim uslovima.

Nakon uzimanja krvi životinje su žrtvovane i secirane. Isječki bubrega, jetre, pluća i srčanog mišića su fiksirani u 10%-tnom neutralnom formalinu i uklopljeni u parafin. Tkivni rezovi su bojeni hematoksilinom i eozinom, te metodama po Weigertu i Malloryju za prikazivanje fibrina.

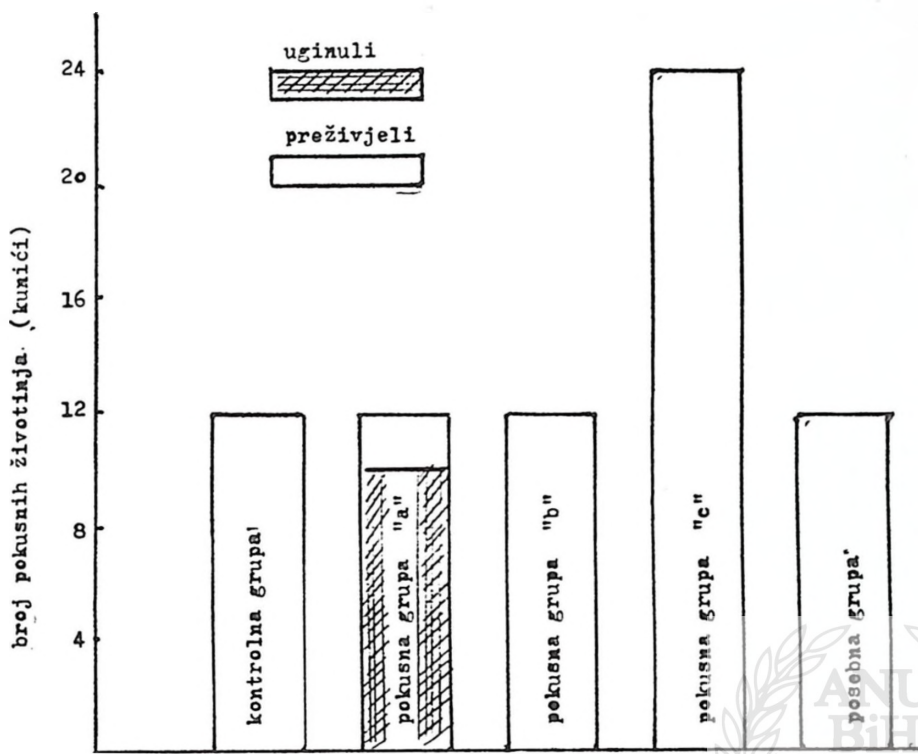
NALAZI

Kod životinja iz kontrolne grupe, kod kojih je aplicirana samo fiziološka otopina, vidljivih promjena u ponašanju nije bilo. Životinje iz pokusne grupe »a«, koje su dobile brzu injekciju Polymyxina, u 91,7% slučajeva padale su u ireverzibilan šok, koji je bio obilježen sljedećim simptomima: tahipneja, tahikardija, obilna salivacija, grčevi tjelesne muskulature, protruzija očnih bulbusa, potpuna apnoa i smrt. Kod životinja iz eksperimentalne grupe »c« također su se počeli javljati prvi znaci šoka u vidu tahipneje, grčeva muskulature i pada u duboku prostraciju. Nakon brzog injiciranja heparina u venu dolazilo bi do naglog oporavljanja. Životinje bi se dizale iz ležećeg stava, grčevi muskulature bi prestali. Nakon desetak minuta životinje su se vraćale u stanje u kojem se nisu bitno razlikovale od kontrolnih normalnih kunića. Sve životinje iz ove grupe su preživjele šok (grafikon 1).

Kretanje posmatranih faktora koagulacije kod grupe životinja kojima je injicirana samo fiziološka otopina bilo je za cijelo vrijeme pokusa uglavnom ili potpuno u granicama normalnog.

U grupi »b« životinja kod kojih je apliciran samo Polymyxin, i to polagano, dolazilo je do izrazitih promjena u količini faktora koagulacije. Smanjenje je bilo naročito izraženo kod fibrinogena, i to sniženje je trajalo i duže od 6 sati nakon pojave šoka. Broj trombocita kao i fibrinogen naglo padaju već prvih 15 minuta poslije injiciranja Polymyxina, samo što se normalizacija broja trombocita završava nešto

*) Polymyxin je za eksperimente ljubazno stavila na raspolaganje F-ma »Pfizer« — Karlsruhe, a heparin F-ma »Choay« — Paris, na čemu im se autori zahvaljuju.



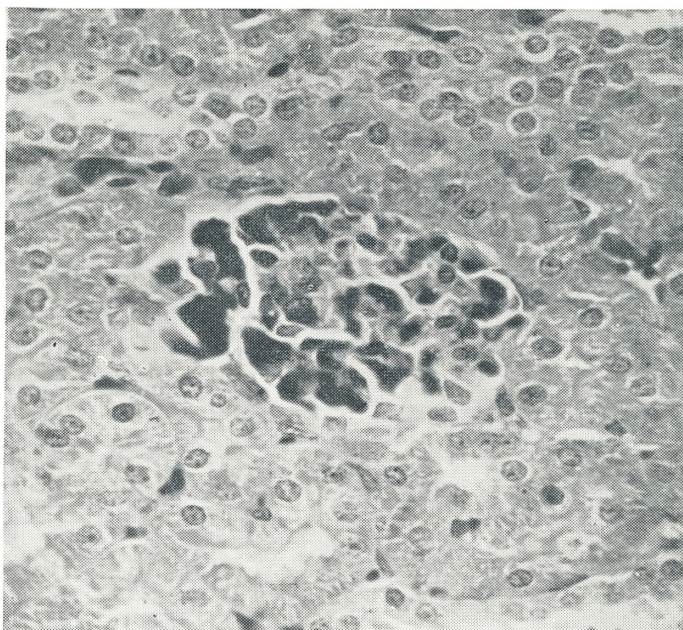
Grafikon 1.

Broj pokusnih životinja (kunići) na kojima je vršeno ispitivanje. U pokusnoj grupi »a« bilo je 91,7 procenata uginulih životinja.

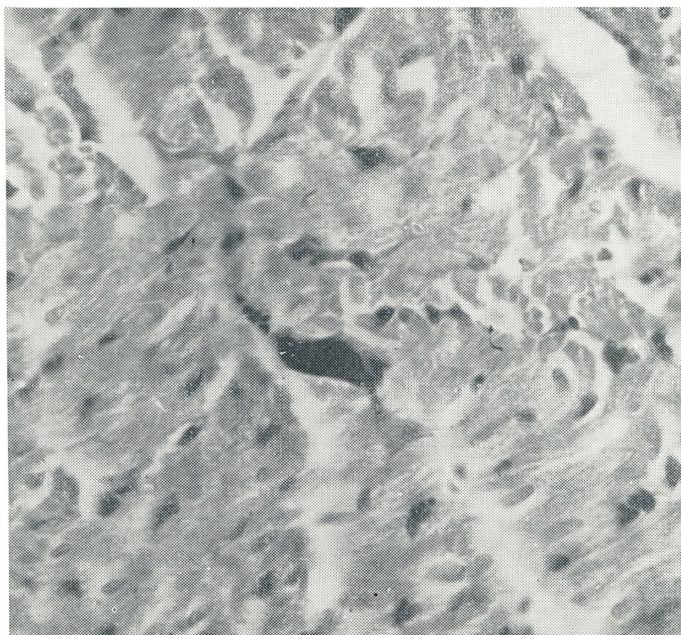
ranije. Smanjenje faktora II, faktora V i kompleksa VII—X je izraženo u prvih 15 minuta, a normalizacija nastupa već krajem prvih 60 minuta nakon aplikacije Polymyxina.

Kod grupe kunića koji su tretirani Polymyxinom i heparinom primijećena su sasvim lagana pomjeranja u količini faktora koagulacije, nešto izrazitije kod fibrinogena, te umjerenog pada broja trombocita. Sva ova kretanja se vide na slikama 1—5.

U mikroskopskim preparatima miokarda, jetre, pluća i bubrega kod kunića koji su primali samo Polymyxin nađeni su u kapilarima mikrotrombi kakve je opisao Nikulin (1964) nakon akutnog histaminskog šoka, također u raznim organima. Nakon bojenja po Weigertu i Malloryju dokazano je u njima prisustvo fibrina, a sami trombi se lako zapažaju u velikim količinama, jer su obojeni tamnoljubičasto (slike 6—8). Mikrotrombi su bili osobito brojni u toku prvog sata nakon šoka. Kod životinja koje su primile Polymyxin i heparin ovakvi mikrotrombi nalaženi su samo kod nekih pokusnih životinja, i to vrlo rijetko, čak i u toku prvog sata nakon šoka, kada su u prvoj pokusnoj grupi bili najbrojniji. Kod većeg broja pokusnih životinja ove grupe (Polymyxin + heparin) mikrotrombi nisu uopće primijećeni u navedenim organima.

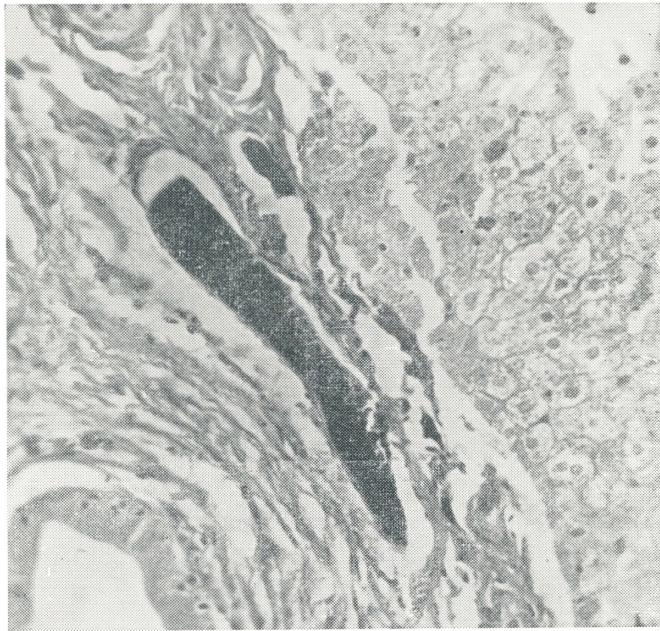


Slika 1.
Brojni mikro-trombi u kapilarima glomerula 15 min. nakon akutnog histaminskog šoka. Weigert, poveć. 300 puta.

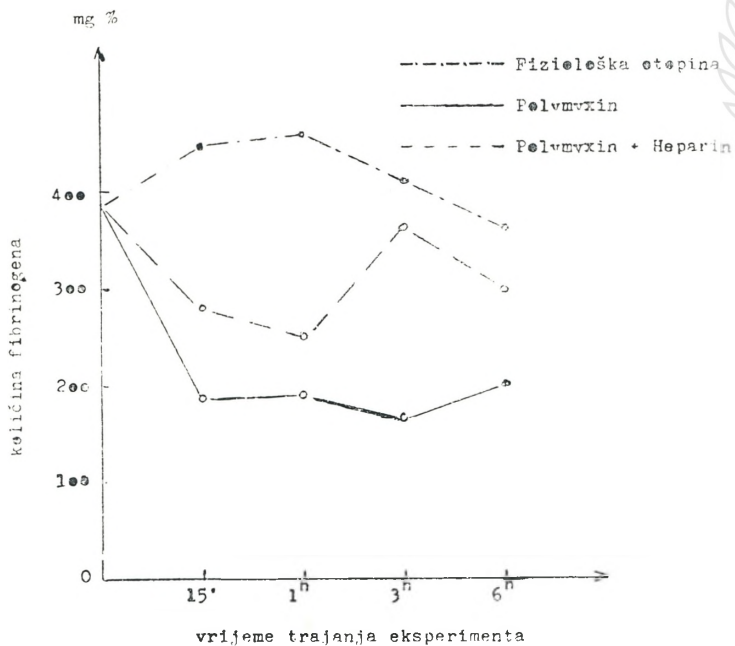


Slika 2.
Kapilarni tromb u miokardu u akutnom histaminskom šoku. Weigert, poveć. 300 puta.



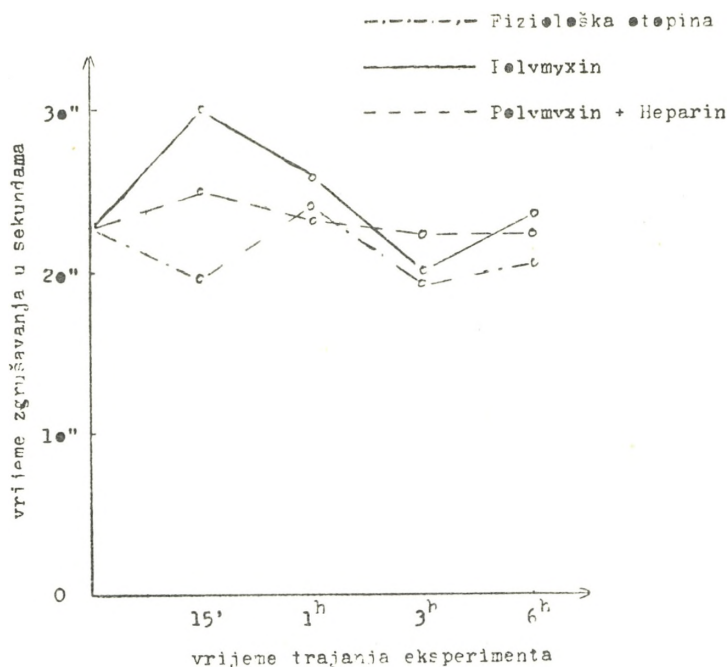


Slika 3.
Tromb u venuli jetre 15 minuta nakon akutnog histaminskog šoka.
Weigert, poveć. 300 puta.

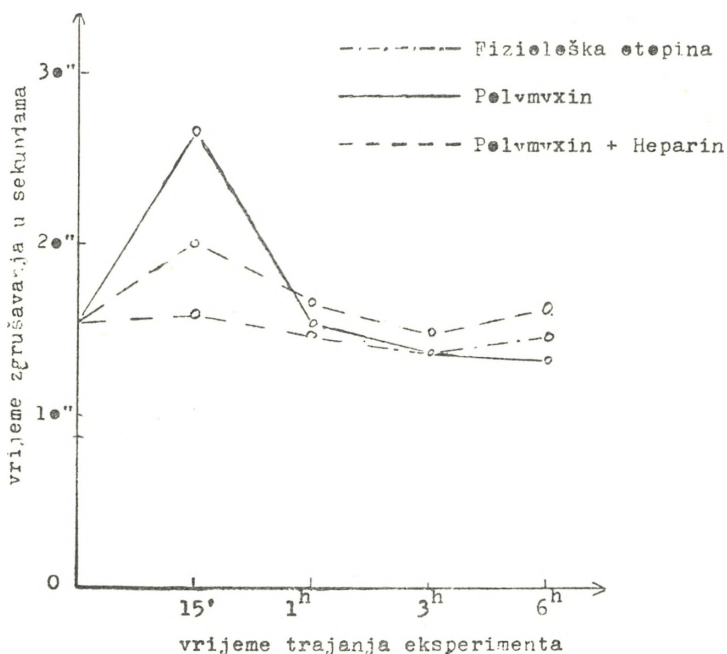


Slika 4.
Kretanje količine fibrinogena (srednje vrijednosti) kod pokusnih životinja,
nakon tretiranja sa fiziološkom otopinom, Polymyxin-om i Polymyxin-om
plus Heparin.

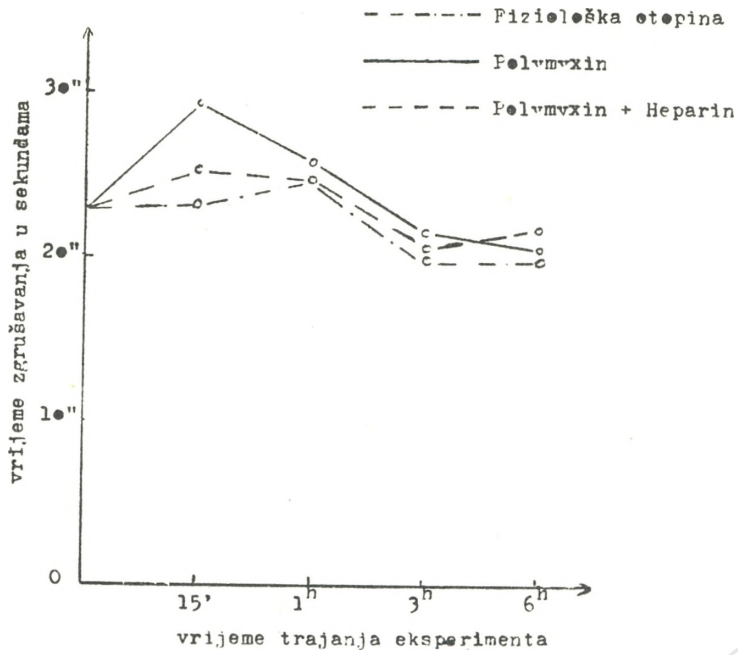




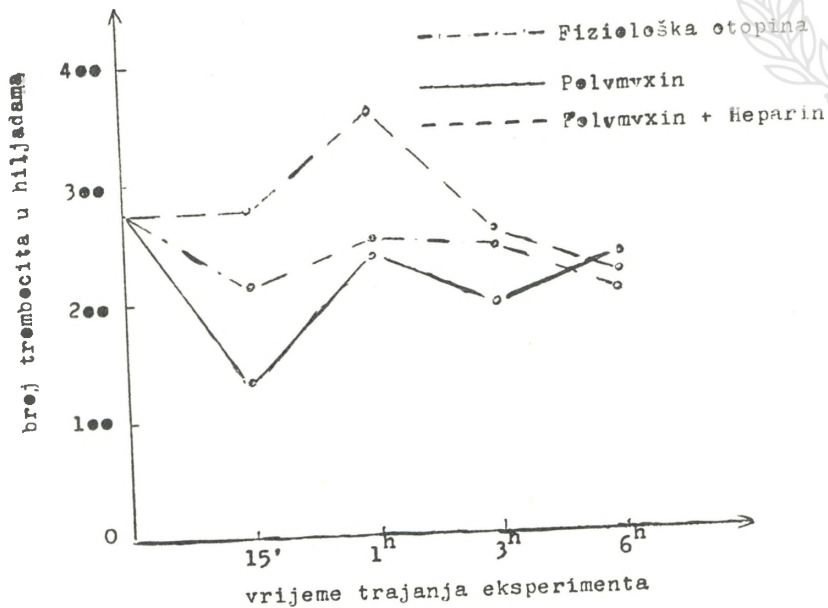
Slika 5.
Dozaža faktora II (protrombin) (srednje vrijednosti) kod pokusnih životinja nakon tretiranja sa fiziološkom otopinom, Polymyxin-om i Polymyxin-om plus Heparin.



Slika 6.
Dozaža faktora V (proakcelarina) (srednje vrijednosti) kod pokusnih životinja nakon tretiranja sa fiziološkom otopinom, Polymyxin-om i Polymyxin-om plus Heparin.



Slika 7.
Dozaža kompleksa faktora VII—X (prokonvertin-Stuart) (srednje vrijednosti)
kod pokusnih životinja nakon tretiranja sa fiziološkom otopinom,
Polymyxin-om i Polymyxin-om plus Heparin.



Slika 8.
Kretanje broja trombocita (srednje vrijednosti) kod pokusnih životinja nakon
tretiranja sa fiziološkom otopinom, Polymyxin-om i Polymyxin-om
plus Heparin.

DISKUSIJA

Trošenje faktora koagulacije i trombocita u krvi i njihovo permanentno ponovno stvaranje u jetri i koštanoj srži je teško uočljivo pod normalnim uslovima, i dinamika hemostaze je tada takva da ju je teško analizirati pomoću stacionirane koncentracije faktora koagulacije. Da bi se otkrila razmjena unutar sistema hemostaze, potrebno je izazvati promjene u ravnoteži između faktora plazme, funkcije krvnih ćelija i funkcije stijenke krvnog suda. Za izučavanje problema poremećaja te ravnoteže sindrom diseminirane intravaskularne koagulacije sa posljedičnom koagulopatijom predstavlja uzorak pomoću koga se mogu upoznati patofiziološke okolnosti i proučavati dinamika intravaskularnih koagulacionih promjena. U procesima akutnog generaliziranog zgrušavanja u perifernim sudovima trošenje faktora koagulacije i trombocita ne može se odmah nadoknaditi iz generativnih centara, i tako dolazi do sloma fiziološke hemostaze jer se remeti dinamična ravnoteža koja vlada u cirkulirajućoj krvi i stijenci krvnog suda.

Morfološki ekvivalent intravaskularnog diseminiranog zgrušavanja su, pored mikrotromba, i prateće nekroze ćelija, odnosno tkivâ, te krvarenja. Iako izgleda da su koagulacija i krvarenje kontradiktorni simptomi u sklopu jednog kliničkog sindroma, ipak su ovdje oboje uvjetovani zajedničkim patogenetskim faktorima. Eksperimentalno izazivanje sindroma diseminirane intravaskularne koagulacije može se izvesti na razne načine, jer u razvoju bilo kojeg šoka koagulopatija nije uzgredna pojava, nego djeluje kao odlučujući patogenetski faktor koji je tim intenzivniji što degradirani proizvodi intravaskularne koagulacije brže blokiraju RES, naročito u jetri (16).

U našem eksperimentu pomoću histamin-liberatora Polymyxin-B izazivali smo šok i pratili šta se dešava sa fibrinogenom, trombocitima, a naročito sa faktorima koagulacije iz protrombinskog kompleksa, čiji je generativni centar jetra. U odnosu na kontrolnu grupu bez davanja ikakvih supstanci i grupu koja je primala fiziološku otopinu, kod životinja koje su primale Polymyxin u šokovnoj dozi zapazili smo najizrazitije promjene kod fibrinogena, čiji nivo naglo pada i koji se i preko 6 sati nakon aplikacije Polymyxina drži na vrijednostima ispod 200 mg⁰%. Broj trombocita je bio također smanjen, ali se vraćao na normalu ranije od fibrinogena. Od faktora iz protrombinskog kompleksa najizrazitiji pad smo uočili kod protrombina (F II) i prokacelerina (F V), dok je smanjenje bilo znatno manje kod kompleksa prokonvertin-Stuart (F VII—X). Pad navedenih faktora je bio najizrazitiji u toku prvih 15 minuta, a normalizacija je, za razliku od fibrinogena i trombocita, nastupila koncem prvog sata nakon izazvanog šoka.

Kod grupe životinja koja je primala Polymyxin plus heparin trombociti i faktori iz protrombinskog kompleksa nisu pokazali skoro nikakva odstupanja od vrijednosti zapaženih nakon davanja fiziološke otopine, dok je vrijednost fibrinogena ipak padala ispod 300 mg⁰% i u nepotpunoj mjeri se korigovala tek u toku 3 do 6 sati nakon šoka. U grupi tretiranoj fiziološkom otopinom vrijednost fibrinogena se kretala redovno iznad 350 mg procenata.

Nakon aplikacije i heparina ne samo da se nije razvio u potpunosti SDIC, nego se ima utisak da je heparin u potpunosti zakočio razvoj šoka. Ipak, i poslije aplikacije heparina dolazi do laganog pada količine fibrinogena, ali je normalizacija brža, mada ne potpuna.

Pokušaji upotrebe antikoagulantnih materija heparinskog tipa, kao i fibrinolitičkih supstanci u prevenciji i terapiji stanja sa intravaskularnim koagulopatijama doveli su do novih saznanja u ovom području. Iako heparin po mnogim autorima ne sprečava aglomeraciju trombocita ni »in vivo« ni »in vitro«, a ne može korigovati stanje već razvijene tromboze, heparin, izgleda, ipak može efektivno djelovati u terapiji izvjesnih vidova šoka u kojima je manifestan SDIC.

Zanimljiva su neka dijametralna razmimoilaženja shvatanja u odnosu na ovaj problem.

Tako *Matthes* (13) smatra da kod slučajeva šoka sa pojavom reakcije slične tipu *Sanarelli-Schwarzmann* treba uprkos sklonosti ka krvarenjima davati heparin da bi se onemogućila intravaskularna koagulopatija. *Matthes* opisuje vlastite slučajeve kod kojih je nakon heparinske terapije došlo do navodnog brzog izlječenja, mada su ti bolesnici bili u teškom stanju. *Lillehei* i saradnici (17) pak iznose svoje pokuse u kojima čak i 30 mg/kg heparina nije mijenjalo tok ireverzibilnog hemoragičnog i endotoksinskog šoka, gdje se pretpostavlja da postoje također reakcije slične *Sanarelli-Schwarzmannovoj*. Autori na osnovu nalaza da heparin ni na koji način ne mijenja tok ireverzibilnog stadija šoka u njihovim pokusima smatraju da to čak ukazuje kako opsežna tromboza malih sudova u toku *Sanarelli-Schwarzmannovog* fenomena očigledno ne predstavlja bitan faktor u nastanku ireverzibilnog šoka.

Veliki broj eksperimenata na ovom području je izvršio *Hardaway* (1966). On je kontrolisao djelovanje heparina u hemoragičnom, anafilaktičnom i endotoksinskom šoku nakon inkopatibilne transfuzije krvi, injekcije trombina itd., i došao do nepobitnih zaključaka da heparin štiti pokusne životinje od ireverzibilne faze ispitivanih vrsta šoka i SDIC-a. Po *Hardawayu* heparin prevenira pad fibrinogena, ali ne i aglutinaciju pločica.

Naši pokusi sa heparinom u histaminskom šoku u potpunosti se podudaraju sa nalazima *Matthesa* i *Hardaway*a, i pokazuju da u uslovima akutnog djelovanja histamina nakon histamin-liberacije heparin sprečava razvoj svih onih poremećaja sistema hemostaze koji inače vode u ireverzibilnu fazu šoka, a koje smo već opisali u našim naprijed citiranim radovima. Možemo pretpostaviti da u šoku uslijed acidoze, hipoksidoze, dilatacije krvnih sudova i usporene cirkulacije krvi nastaju prokoagulantni uslovi, dolazi do generacije tromboplastina u kojoj učestvuju u manjim količinama faktori V i VII—X, zatim da se troše veće količine protrombina (F II) za formaciju trombina, da dolazi do polimerizacije fibrinogena u fibrin i da uz sudjelovanje trombocita nastaju mikrotrombi. Ovakva hipoteza bi donekle revidirala naše gledište izraženo u spomenutim radovima iz 1967. i 1969. godine, gdje smo smatrali da aglutinacija trombocita prethodi svim ostalim fenomenima SDIC-a. Ovome bi doprinomio i podatak iz radova drugih autora da heparin ne sprečava agregiranje pločica, ali prevenira nastanak ko-

agulopatije. Naši elektronsko-mikroskopski nalazi u radovima iz 1964. i 1965. godine, međutim, ne registruju nikakvih tragova fibrina između aglomeriranih trombocita u početku šoka kada su kapilare praktično već obturirane. Očigledno je da su brojna pitanja na ovom području još nejasna i da se istinska patogeneza mikrotromboze u SDIC-u i Sanarelli-Schwarzmannovom fenomenu još mora istraživati. U našem eksperimentu raste intenzitet potrošnje faktora koagulacije i angažiranje trombocita prema završnoj fazi koagulacije, kada dolazi do skoro eksplozivne potrošnje fibrinogena i njegove veoma spore obnove. Može se također pretpostaviti da u sklopu cijelog tog zbivanja dolazi do izvjesnog oštećenja one funkcije hepatocita koja je odgovorna za obnovu fibrinogena, a također i do poremećenog angažiranja RES-a u metabolizmu fibrinogena u stanju šoka i SDIC-a.

ZAKLJUČAK

U eksperimentima sa akutnim histaminskim šokom izazvanim histamin-liberatorom Polymyxin-B autori su proučavali ponašanje pojedinih važnih faktora koagulacije (fibrinogen, trombociti, F II, V, VII—X) u šoku i višečasovnom periodu oporavka nakon preživljenog šoka. Povećana i intenzivna potrošnja fibrinogena, nešto umjerenija potrošnja protrombina i proakcelerina, a djelimice i kopleksa prokonvertin-Stuart, te smanjenje broja trombocita u toku prvih 15 minuta od početka šoka — sve to, dakle, navodi na pretpostavku da u kombinaciji više patogenetskih činioca dolazi do stvaranja prokoagulantnih uslova u krvi, što bi dovelo nakon angažiranja trombocita do stvaranja mikrotromba. Heparin signifikantno sprečava razvoj simptoma šoka i štiti od ireverzibilne faze sve životinje koje su ga primile. Još uvijek ostaje nedovoljno razjašnjena pojava skoro trenutne aglomeracije trombocita u početku šoka kada se ni elektronsko-mikroskopski između njih ne vidi fibrin, i uloge te aglomeracije kada se zna da heparin ne sprečava aglutinaciju pločica, iako koči razvoj šoka i potrošnje skoro svih faktora koagulacije, naročito protrombinskog kompleksa. Ovim pitanjima, kao i pretpostavci da i oštećenja hepatocita doprinose formiranju dinamike obnove faktora koagulacije nakon šoka treba, prema mišljenju autora, posvetiti dalja istraživanja.

DŽEMAL REZAKOVIĆ, ALEKSANDAR NIKULIN, PAVLE
PLAMENAC, EDITA GMAZ-NIKULIN I BRANKO PIKULA

THE EFFECT OF THE HEPARIN ON THE DEVELOPMENT OF THE HISTAMIN SHOCK AND ON REGENERATION OF THE CLOTTING FACTORS: FIBRINOGEN, PROTHROMBIN (F II), ACCELERIN (F V), KONVERTIN-STUART COMPLEX (F VII—X) AND PLATELET DURING THE RECOVERY AFTER SHOCK

SUMMARY

While experimenting with the acute histamin shock caused by the histamin liberator Polymyxin-B, the authors studied the behaviour of some important clotting factors (fibrinogen, platelet, F II, V, VII—X)

during the shock and a few hours period after shock. Increased and intensive consummation of fibrinogen, a slightly more moderate consummation of prothrombin and proaccelerin and partly of the complex konvertin-Stuart, and the decrease in platelet number during the first 15 minutes from the beginning of shock, suggests that the combination of various pathonegetic factors leads to the formation of the procoagulant conditions in blood, which would lead to the formation of microthrombi after the mobilization of the platelets. Heparin significantly prevents the development of the symptoms of shock and protects from the irreversible phase all animals to which it has been administrated. The appearance of the platelet the almost immediate platelet agglomeration in the beginning of the shock, when the fibrin cannot be observed among them even by electron-microscopy is still insufficiently clear. The role of that agglomeration, provided we know that heparin is not the protector of platelet agglutination although it checks the development of the shock and the consummation of all clotting factors, especially the prothrombin complex, neither is sufficiently clear. The authors thinks that these questions as well as the supposition that hepatocytes lesions contribute to the formation of the dynamics of the regeneration of clotting factors after shock, should be further investigated.

LITERATURA

1. Nikulin A.: Disertacija, Sarajevo (1964).
2. Nikulin A. und Lapp H.: Farnkf. Z. Pathol. 74, s. 381 (1965).
3. Nikulin A., Rezaković Dž. und Plamenac P.: Frankf. Z. Pathol. 76, s. 411 (1967).
4. Crowell J. and Read W.: Amer. J. Physiol. 183, s. 565 (1955).
5. Robb J.: Ann. Surg. 158, s. 685 (1963).
6. Hardaway R.: Syndromes of disseminated intravascular coagulation, Ch. Thomas Publ. Springfield, Illin. (1966).
7. Hardaway R.: Ann. Surg. 155/3, s. 325 (1962).
8. Hardaway R.: AMA Arch. Surg. 83, s. 842 (1961).
9. Bergentz S.: Genese und Therapie des hamorrhagischen Schoens. Ed. O. Just, G. Thieme Verl. Stuttgart, s. 68 (1966).
10. Sandritter W. and Lasch H. G.: Meth. Archiev. exp. Path., vol. III, s. 86 (1967).
11. Nikulin A., Rezaković Dž., Plamenac P. und Pikula B.: u štampi BLUT (1969).
12. Goodman J., Lám Jr., Blaisdell F., Hulland A. and Thomas A.: Amer. J. Pathol. 52/2, s. 391 (1968).
13. Matthes K.: »Schock«, Edit. K. Bock, s. 283, Springer Verl. Berlin (1962).
14. Ware A. G., Guest M. M. and Saegers W. H., Arch. Biochem. 13 (1947), p. 231.
15. Raby C.: Biologie des Hemorragies et des Thromboses Ed. Masson et Cie-Paris (1966).
16. Lasch H. G., Roka L. and Heene D.: Pathogenesis and Treatment of Thrombolic Diseases, s. 533, Edit. F. Koller, Schattauer Verl. Stuttgart (1966).
17. Lillehei R., Langerbeam J. und Rosenberg J.: »Schock«, Edit. K. Bock, Springer Verl. (Berlin) s. 118 (1962).