

### L'action du 2786 RP. (néoantergan) sur l'anaphylaxie passive cutanée locale du cobaye lors du transport passif

Dans des travaux précédents, il a été démontré qu'on peut provoquer une anaphylaxie passive cutanée locale chez le cobaye et que cette forme d'anaphylaxie peut être entravée par l'administration de néoantergan 30 minutes avant l'injection déclenchante<sup>1</sup>.

L'anaphylaxie passive cutanée locale du cobaye a été rendue possible en faisant agir l'histamine libérée — même dans cette forme d'anaphylaxie — sur l'endothélium vasculaire. Deux effets de l'histamine sur les cellules endothéliales des petits vaisseaux ont été utilisés: l'action granulopexique et l'action vasoperméabilisante. Le fait que l'histamine provoque la granulopexie des cellules endothéliales a été découvert par JANCOS<sup>2</sup> et confirmé ensuite par nous<sup>3</sup>. Quant à l'action vasoperméabilisante, bien connue depuis longtemps, citons seulement les travaux de ROCHA et SILVA<sup>4</sup>, de CULLUMBINE<sup>5</sup>, qui ont utilisé comme nous-même la technique dont s'est largement servi MENKIN<sup>6</sup>.

Parmi les antihistaminiques de synthèse, nous avons choisi le 2786 RP. (néoantergan), qui, selon l'opinion d'une autorité telle que GADDUM<sup>7</sup>, est le plus spécifique.

L'action du néoantergan contre tous les effets de l'histamine a été résumée dans l'étude récente de BOVET<sup>8</sup>; nous insistons seulement sur un point important: la durée d'action qui, comme nous le verrons, présente un grand intérêt.

L'action antianaphylactique des antihistaminiques de synthèse est bien connue, citons pour mémoire les travaux de BOVET<sup>9</sup> et ceux de HALPERN<sup>10</sup> qui traitent cette question.

Dans le présent travail, nous ne voulons pas étudier l'action du néoantergan lors de l'injection déclenchante, mais son action lors du transport passif, c'est-à-dire lors de l'injection préparante.

Nous insistons encore sur un point important: l'anaphylaxie passive doit être seule envisagée pour cette étude. En effet, la sensibilisation active est tout à fait différente, l'agent sensibilisant, l'antigène, est déterminable plusieurs jours après son injection. Les études de MEIER et BUCHER<sup>11</sup> et de LEYA<sup>12</sup> ont montré que lors de la sensibilisation active chez le lapin l'antihistaminique de synthèse n'empêche nullement la sensibilisation, tout au contraire. Mais comme lors de la sensibilisation passive c'est l'anticorps qui est injecté, il y a des différences fondamentales.

Dans le présent travail, nous étudierons l'action de l'antihistaminique de synthèse lors du transport passif, c'est-à-dire lors de l'injection préparante.

Nous avons expérimenté sur des cobayes de 250 à 400 g.

Des cobayes ont été sensibilisés par injection intrapéritonéale de 0,20 cm<sup>3</sup> de blanc d'œuf dilué de moitié avec de la solution physiologique. 30 jours après, ils ont été saignés par ponction cardiaque, puis on s'est assuré qu'ils ont été rendus anaphylactiques. Le sérum de cinq de ces animaux sensibilisés servait pour les expériences.

Les animaux à expérimenter ont été divisés en trois groupes de 15 animaux; divisés en cinq sous-groupes de 3 animaux. Chacun de ces 3 animaux du même sous-groupe recevaient le sérum provenant du même sujet.

Le 1<sup>er</sup> groupe servait de témoin et ces animaux n'ont pas reçu de néoantergan.

Le 2<sup>e</sup> groupe a reçu deux injections intrapéritonéales de néoantergan à 3 heures d'intervalle.

Le 3<sup>e</sup> groupe a reçu trois injections intrapéritonéales de néoantergan, à raison d'une injection toutes les 3 heures.

Chaque injection de néoantergan a été de 50 mg/kg. En effet, par des études préliminaires nous nous sommes assurés que le néoantergan en injection intrapéritonéale à la dose de 50 mg/kg chez le cobaye donne une protection absolue contre l'histamine dont la durée d'action est au moins de 3 heures<sup>1</sup>.

On peut employer des doses moins fortes de néoantergan, mais dans ces cas, il faut répéter les injections plus fréquemment, car la durée d'action est fonction, entre autres, de la dose. Pour cette raison, nous avons choisi la dose de 50 mg/kg, dose très forte, mais qui ne donne aucun phénomène toxique.

30 minutes après la première injection de néoantergan dans la peau fraîchement tondue du ventre, 0,10 cm<sup>3</sup> de sérum sensibilisé a été injecté d'un côté et 0,10 cm<sup>3</sup> de sérum normal de l'autre côté.

24 heures après l'injection de sérum homologue, les animaux ont été anesthésiés par l'injection intrapéritonéale de 1 mg pour 10 g de poids de Narconumal Roche (solution à 5 % dans de l'eau distillée), car il a été précédemment démontré que ce dernier ne change en rien les phénomènes que nous étudions<sup>3</sup>. La veine jugulaire a été isolée et on a injecté 0,20 cm<sup>3</sup> de blanc d'œuf dilué de moitié avec de la solution physiologique, puis immédiatement après, également le colorant dans la veine.

On a employé comme colorant: 0,025 cm<sup>3</sup> pour 10 g de poids de bleu de trypan Grüber à 1 % dans de l'eau distillée, soit 0,10 cm<sup>3</sup> par 10 g de poids d'une solution d'encre de Chine Pelikan à 10 % avec 2 % de gélatine dans de la solution physiologique.

Avec le bleu de trypan, on a pu mettre en évidence l'augmentation de la perméabilité vasculaire observable lors de l'anaphylaxie passive cutanée locale du cobaye<sup>3</sup>, avec l'encre de Chine, la granulopexie<sup>4</sup> décrites déjà dans des travaux précédents.

Les animaux qui ont reçu du bleu de trypan ont été sacrifiés 15 minutes après l'injection du colorant, ceux qui ont reçu de l'encre de Chine 30 minutes après.

Les résultats ont été lus sur la face interne de la peau. Nous tenons à faire remarquer qu'il n'y avait pas de

<sup>1</sup> G. BIOZZI, G. MENÈ et Z. OVARY, *Lo sperimentale*, Firenze 99, 352 (1949); *Rev. Immun. Paris* 12, 320 (1948). — Z. OVARY, *Soc. ital. Biol. sper.*, Sessione a Roma, marzo 31, 1950.

<sup>2</sup> M. JANCOS, *Orvosok Lapja*, Budapest 3, 1025 (1947).

<sup>3</sup> G. BIOZZI, G. MENÈ et Z. OVARY, *Rev. Immun. Paris* 12, 320 (1948); *Clinica Nuova*, Roma 6, 393 (1948).

<sup>4</sup> M. ROCHA, M. SILVA et O. BIER, *C. r. Soc. Biol. Paris* 129, 769, 773, 1138 (1938).

<sup>5</sup> H. CULLUMBINE, *Nature* 159, 841 (1947).

<sup>6</sup> V. MENKIN, *Dynamics of Inflammation* (McMillan & Co., New York, 1940).

<sup>7</sup> J. H. GADDUM, *Brit. Med. J.* 4557, 867 (1948).

<sup>8</sup> D. BOVET, *Minerva Medica*, Torino 41, 357 (1950).

<sup>9</sup> D. BOVET et F. BOVET-NITTI, *Médicaments du Système nerveux végétatif* (S. Karger, Bâle et New-York, 1948).

<sup>10</sup> B. N. HALPERN, *Arch. int. Pharmacodyn. et Thérap.* 68, 339 (1942).

<sup>11</sup> R. MEIER et K. BUCHER, *Exper.* 2, 140 (1946); *Fortschritte der Allergielehre* (S. Karger, Bâle et New-York, 1949), p. 290.

<sup>12</sup> A. LEYA, *C. r. Soc. Biol. Paris* 140, 194 (1946).

<sup>1</sup> Z. OVARY, *Soc. ital. Biol. sper.*, Sessione a Roma, marzo 31, 1950.

<sup>2</sup> Z. OVARY, 19<sup>a</sup> Riunione generale della Soc. ital. Biol. sper. a Napoli, aprile 12, 1950.

<sup>3</sup> Z. OVARY, *Soc. ital. Biol. sper.*, Sessione a Roma, marzo 31, 1950.

<sup>4</sup> G. BIOZZI, G. MENÈ et Z. OVARY, *Lo sperimentale*, Firenze 99, 352 (1949); *Rev. Immun. Paris* 12, 320 (1948).

différences appréciables entre les individus du même sous-groupe et même d'un sous-groupe à l'autre.

Nous avons pu constater que tous les animaux qui n'ont pas été traités par du néoantergan présentaient une immense tache de couleur bleue ou noire suivant le colorant injecté, mettant en évidence l'augmentation de la perméabilité avec le bleu de trypan et la granulopexie avec l'encre de Chine, là où le sérum sensibilisé a été injecté 24 heures auparavant. En revanche, là où le sérum normal a été injecté, aucune modification n'a été visible (fig. 1).

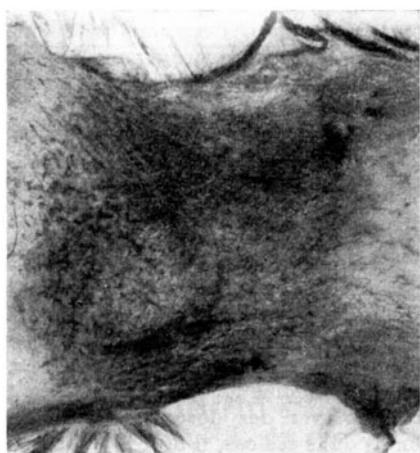


Fig. 1. Face interne de la peau à l'endroit où a été injecté la veille le sérum sensibilisé. Animal non traité par le néoantergan; injection intraveineuse d'encre de Chine.

Les animaux qui ont reçu la veille deux injections seulement de néoantergan, présentaient une tache dont l'étendue a été à peu près le 1/5 de celle des animaux témoins (fig. 2). Enfin ceux qui ont reçu trois injections de néoantergan ne présentaient aucune tache.

Ces derniers cependant n'étaient plus sous l'action du néoantergan. Nous nous sommes assurés au préalable que l'action protectrice contre l'histamine du néoantergan à la dose de 50 mg/kg en injection intrapéritonéale ne dure jamais longtemps<sup>1</sup>; or, dans le cas présent, plus de 16 heures s'étaient écoulées depuis la dernière injection de néoantergan. De plus, nous avons vu que l'injection de 0,025 mg d'histamine en 0,10 cm<sup>3</sup> de liquide dans le derme — bien entendu loin de l'endroit où les sérums ont été injectés la veille — est capable de produire une tache bleue ou noire suivant le colorant, tout à fait semblable à celle observable chez les cobayes neufs auxquels on n'aurait injecté que cette quantité d'histamine dans le derme et qui n'auraient jamais reçu de néoantergan.

Il fallait donc bien admettre que les animaux protégés par du néoantergan pendant le transport passif cutané local n'étaient pas sensibilisés.

Pour interpréter ces faits, nous rappelons que BENACERRAF et KABAT<sup>2</sup> ont montré lors de l'anaphylaxie passive générale du cobaye que la fixation de l'anticorps aux récepteurs cellulaires est la condition nécessaire pour provoquer le choc anaphylactique. Il nous semble justifié d'admettre que chez nos animaux traités par l'antihistaminique de synthèse, la fixation n'a pas eu lieu. Dans des études précédentes, il a été démontré que le sérum

homologue libère de l'histamine et provoque par cela même la granulopexie des cellules endothéliales des petits vaisseaux<sup>1</sup>. Cette libération dure tant que le sérum homologue n'est pas complètement absorbé. Nous avons fait des expériences complémentaires et nous avons vu que le sérum homologue en injection intradermique détermine une libération d'histamine variable en durée suivant les individus et qui, parfois, se prolonge pendant 5 ou 6 heures.

Comment l'antihistaminique de synthèse peut-il empêcher cette fixation aux cellules? C'est une question difficile à résoudre et nous n'avons pas de données pour répondre avec certitude. Dans ces conditions, nous nous bornons à envisager l'hypothèse suivante:

L'antihistaminique de synthèse est utilisé pour empêcher la granulopexie histaminique des cellules endothéliales des petits vaisseaux. On peut d'ailleurs empêcher cette granulopexie par d'autres moyens, en particulier par la procaine et l'adrénaline<sup>3</sup>. En employant ces substances, on obtient les mêmes résultats<sup>3</sup>.

Tout se passe comme si lors de l'injection de l'anticorps, celui-ci par sa nature protéique même, libérerait primitivement une petite quantité d'histamine. Cette histamine primitivement libérée stimulerait les cellules endothéliales des petits vaisseaux, qui manifesteraient leur activité phagocytaire et engloberaient l'anticorps. Si l'on empêche l'activité phagocytaire des cellules endothéliales, ce que nous avons réalisé par le néoantergan, dont la propriété de protection contre la granulopexie histaminique a été démontrée<sup>4</sup>, l'anticorps ne sera pas englobé par les cellules endothéliales et sera, finalement, éliminé ou détruit.

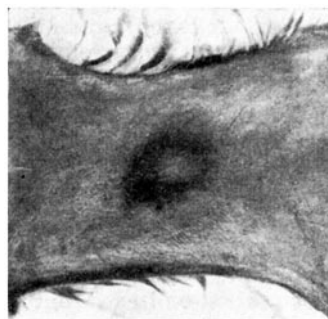


Fig. 2. Face interne de la peau à l'endroit où a été injecté la veille le sérum sensibilisé. Animal ayant reçu en même temps deux injections de néoantergan; injection intraveineuse d'encre de Chine.

**Conclusion.** Que l'anticorps se fixe aux cellules endothéliales des petits vaisseaux ou à d'autres cellules de l'endroit de l'injection, il est certain que l'administration d'un antihistaminique de synthèse pendant la sensibilisation passive cutanée locale chez le cobaye empêche les manifestations anaphylactiques, lesquelles auraient pu être mises en évidence lors de l'injection de l'antigène.

Z. OVARY, G. BIOZZI et G. MENÈ

Institut de la Clinique médicale et thérapeutique médicale de l'Université de Rome, le 20 mai 1950.

<sup>1</sup> G. BIOZZI, G. MENÈ et Z. OVARY, *Lo Sperimentale*, Firenze **99**, 342 (1949); *Il Policlinico*, Sezione Medica Roma **57**, 1 (1950).

<sup>2</sup> G. BIOZZI, G. MENÈ et Z. OVARY, *Ricerca sci.* Roma **19**, 1147 (1949).

<sup>3</sup> Z. OVARY, *Rev. Immun.* Paris **14**, 375 (1950).

<sup>4</sup> G. BIOZZI, G. MENÈ et Z. OVARY, *Rev. Immun.* Paris **12**, 320 (1948); *Clinica Nuova*, Roma **6**, 393 (1948).

<sup>1</sup> Z. OVARY, *Soc. ital. Biol. sper.*, Sessione a Roma, marzo 13, 1950.

<sup>2</sup> B. BENACERRAF et E. A. KABAT, *J. Immun.* **62**, 517 (1949).

### Summary

By study of endothelial granulopathy and of increased permeability in local, passive, cutaneous anaphylaxis of the guinea-pig it was demonstrated that in the animals kept under an antihistamine drug (2786 RP.: neo-antergan) for a sufficiently prolonged period at the time of the passive transport sensitization was not obtained. This fact is referred to the lack of fixation to the cells of the antibody injected into the skin.

### Zur Frage der Schwermetallwirkung am Froschventrikel

MENDEZ, MENDEZ und PERALTA<sup>1</sup> haben die pharmakologische Wirkung verschiedener Substanzen, welche die Sulfhydrylgruppen (SH) des Gewebes blockieren, auf die Kontraktilität des Froschherzens untersucht. Alle diese Substanzen bringen die Ventrikelkontraktionen zum Erlöschen. Bis zu einem gewissen Grad kann Glutathion vor einer solchen Wirkung schützen, dagegen kann nach einer einmal erfolgten Vergiftung durch Glutathion keine Reversibilität erzielt werden.

Im Verlauf eigener Untersuchungen, die auf eine andere Fragestellung hin durchgeführt wurden, hatten wir Gelegenheit, die Wirkung von Schwermetallen auf die Tätigkeit des Ventrikels zu studieren. Die vollkommene Hemmung der Kontraktion, so wie sie von MENDEZ und PERALTA gefunden wurde, konnten wir bestätigen. Darüber hinaus gelang es uns aber in den meisten Fällen, mit Cystein eine Reversibilität herbeizuführen.

Das  $p_H$  der Perfusionsflüssigkeit hat nicht nur, wie eine in Vorbereitung befindliche Veröffentlichung zeigt, einen Einfluß auf die Kontraktionshöhe des Froschherzens, sondern ist auch für den Dissoziationsgrad der Schwermetallsalze und damit für ihre quantitative Wirksamkeit von Bedeutung. Demgemäß wurden alle Versuche unter fortlaufender Kontrolle des  $p_H$ -Wertes durchgeführt, welcher gewöhnlich auf 7,4 gehalten wurde.

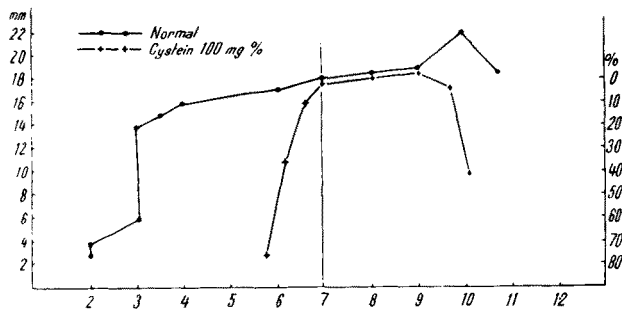


Abb. 1.

Um einen Irrtum in der Interpretation des Entgiftungseffektes mit Cystein auszuschließen, untersuchten wir zunächst den Einfluß einer 50–100 mg %igen Cysteinlösung bei verschiedenen  $p_H$ -Werten auf die Ventrikeltätigkeit. Bei einem mittleren  $p_H$ -Wert beeinflusst das Cystein die Ventrikeltätigkeit nicht, wurde jedoch die  $H^+$ -Konzentration geändert, so zeigte sich ein bedeutender Unterschied gegenüber der Relation:  $p_H$ -Kontraktilität in Normal-Ringer (siehe Abb. 1). Der  $p_H$ -Bereich, in welchem eine Aktivität noch möglich ist, hat sich allgemein eingengt, besonders im sauren Milieu. Eine

Deutung dieses Ergebnisses können wir vorerst nicht geben.

Mit Cadmium-, Silber-, Kupfer- und Quecksilbersalzen erhielten wir folgende Resultate:

1.  $NO_3Ag$  und  $Cl_2Cd$  in einer Konzentration von  $10^{-4}$  M bis  $5 \cdot 10^{-5}$  M in Ringerlösung ruft einen fast unmittelbaren Stillstand des Ventrikels hervor (Abb. 2 A und B). Mehrmaliges Durchspülen mit Normalringerlösung nach der Vergiftung bleibt ohne Effekt. Benutzten wir jedoch eine 100-mg %-Cysteinringerlösung, so kehrte die Tätigkeit des Ventrikels gewöhnlich in wenigen Sekunden zurück. Die Ventrikelkontraktionen sind nach Aufhebung der Vergiftung bis zu 33 % ausgiebiger als vor der Vergiftung, kehren jedoch nach einer gewissen Zeit zur Norm zurück. Das Ausmaß dieser «Überschußtätigkeit» – einem «rebound» nach einer «silent period» im Nervensystem vergleichbar – ist innerhalb bestimmter Grenzen von der Dauer der Schwermetallvergiftung abhängig.

2. Eine Lösung von Kupfersulfat ( $10^{-4}$  M) ruft einen sofortigen Stillstand des Ventrikels zwischen Systole und Diastole hervor (Abb. 2 C). Die Kupfervergiftung ist durch Cystein nur teilweise aufhebbar. Selbst bei fortlaufendem Waschen des Herzens mit einer 100-mg %-igen Cysteinlösung wird im Höchstfalle nur 75 % der anfänglichen Kontraktionshöhe erreicht. Die Vergiftung

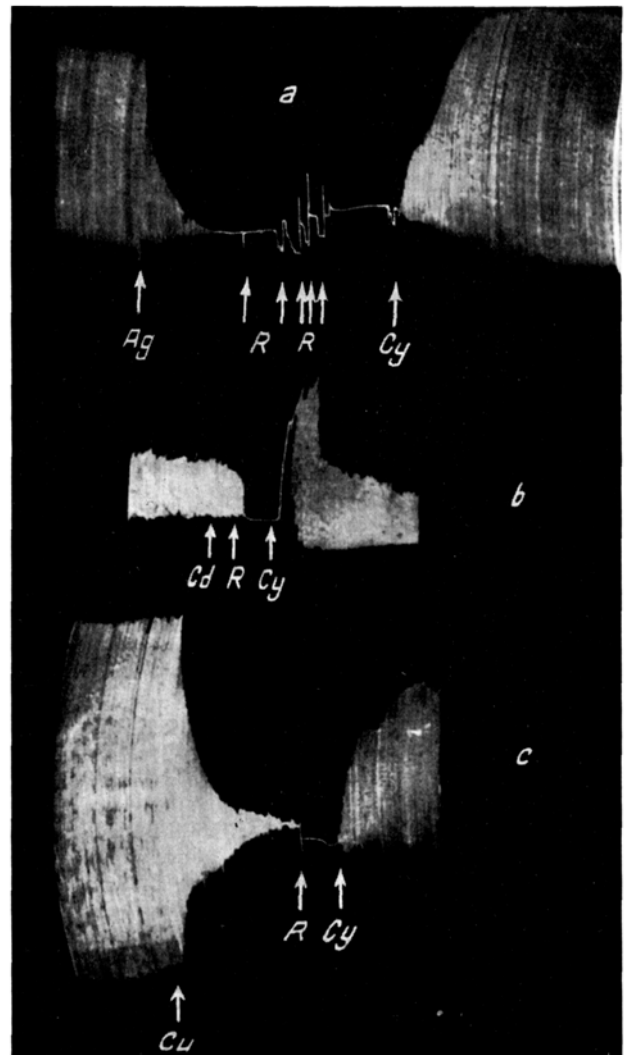


Abb. 2.

<sup>1</sup> R. MENDEZ, J. Pharm. exp. Ther. 81, 151 (1944); Science 104, 5 (1946). – R. MENDEZ und B. PERALTA, Arch. Inst. Card. Mex. 17, 235 (1947); J. Pharm. exp. Ther. 90, 128 (1947).