

# Untersuchungen über Entzündung.

## II. Zusätzliche Versuche über die Beziehungen von Menkischen Leukotaxin zum Histamin.

Von

M. Rocha e Silva und Otto Bier, Sao Paulo (Brasilien).

Mit 5 Abbildungen (= 6 Einzelbilder) im Text.

(Eingegangen am 22. Juli 1938.)

In einer vorausgehenden Arbeit<sup>1</sup> haben wir gezeigt, daß die primäre Ursache der Steigerung der Capillarpermeabilität, welche durch Entzündungsexsudate hervorgerufen wird, in Histamin oder in der Substanz H von *Lewis* zu erblicken ist.

Zusätzliche Versuche, über die wir in dieser Arbeit berichten wollen, sprechen im Sinne einer Identität zwischen dem Histamin und dem Leukotaxin von *Menkin*.

### Versuchsteil.

Zur Dosierung des Histamins wurde die gleiche Methode angewandt, die schon in einer vorausgehenden Arbeit beschrieben wurde<sup>1</sup>. Zur Herstellung der histaminfreien Präparate des Exsudates wandten wir das von *Barsoum* und *Gaddum*<sup>2</sup> angegebene Verfahren an: das Exsudat wird mit Trichloressigsäure behandelt, genau wie bei der Extraktion des Histamins, dann wird die Trichloressigsäure mit Äther entfernt und der Extrakt 15 Min. lang mit Natronlauge (1 ccm n/1 NaOH auf 5 ccm des Extraktes) gekocht und schließlich neutralisiert.

*I. Versuche mit einem menschlichen Pleuraexsudat.* In der vorausgehenden Arbeit<sup>1</sup> haben wir festgestellt, daß die Entzündungsexsudate, die man mittels einer Intrapleuraleinspritzung von Terpentinöl in Hunden erhalten kann, Hemmungsstoffe enthalten, welche sich der Histaminwirkung auf den isolierten Meerschweinchendarm entgegenstellen.

Im folgenden soll eine Reihe von Versuchen beschrieben werden, die mit dem Pleuraexsudat von einem Fall von Lungencarcinom angestellt wurden. Aus der Abb. 1a läßt sich ersehen, daß die Zufügung des nicht behandelten Exsudates in einer Verdünnung 1:10 zur *Ringer*-Lösung, in der sich die Darmmuskulatur befand, keinerlei deutliche Kontraktion dieser Muskulatur hervorrief. Vielmehr traten nur kleine und unregelmäßige Zuckungen auf, wobei sich der Tonus nicht merklich änderte. Dagegen rief ein Extrakt des gleichen Exsudates, welches nach der von *Barsoum* und *Gaddum* für die Extraktion von Histamin angegebenen Methode gewonnen war, eine starke Kontraktion des Muskels hervor, die durchaus vergleichbar ist mit der Reaktion welche eine reine Lösung von Histamin auslöst (Abb. 1a).

Das nicht behandelte, unverdünnte Exsudat wies ein Histaminäquivalent von 1:500000 auf (Abb. 2), während der Exsudatextrakt (Abb. 1b) durch ein Histaminäquivalent von ungefähr 1:50000 gekennzeichnet war.

Aus diesen Tatsachen ergibt sich mit aller Deutlichkeit, daß im

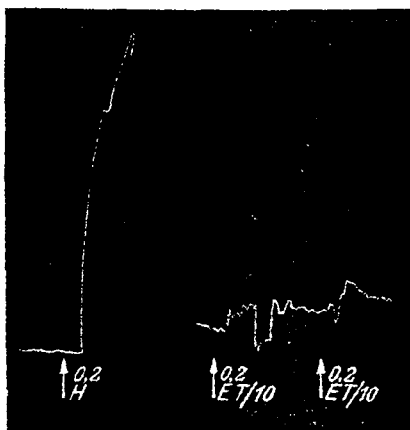


Abb. 1a. Wirkung des menschlichen Pleural-exsudates in Verdünnung 1:10 auf den isolierten Meerschweinchendarm. *H* Histamin in Verdünnung 1:500000. *ET/10* menschliches Exsudat in Verdünnung 1:10.

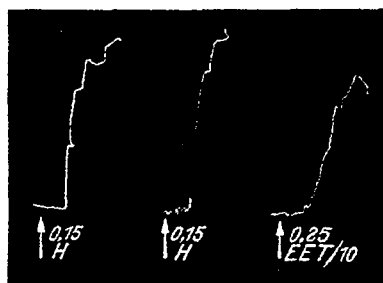


Abb. 1b. Wirkung des Extraktes nämlichen Exsudates, das nach der Methode von *Barsoum* und *Gaddum* gewonnen wurde. *H* Histamin in Verdünnung 1:250000. *EET/10* Extrakt des Exsudates in Verdünnung 1:10.

nicht behandelten Exsudat Hemmungssubstanzen vorhanden sind, welche die Wirkung des Histamins auf die glatte Muskulatur verschleiern.

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß 0,15 ccm Histamin in Verdünnung 1:250000 annähernd die gleiche Wirkung hervorrufen wie

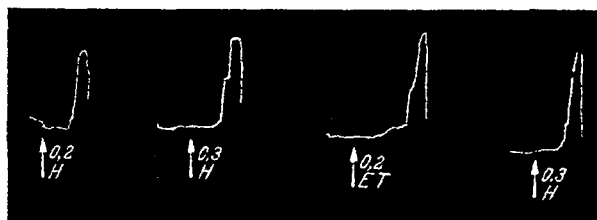


Abb. 2. Bestimmung des Histaminäquivalentes eines menschlichen Exsudates. *H* Histamin in Verdünnung 1:500000. *ET* unverdünntes menschliches Exsudat. Histaminäquivalent des Exsudates 1:500000.

0,3 ccm des Exsudates in Verdünnung 1:10. Demnach ist das Histaminäquivalent des Exsudates etwa gleich 1:50000.

Das gleiche menschliche Exsudat und der daraus hergestellte Extrakt wurden auf die Fähigkeit hin geprüft, nach dem von *Menkin* angewandten Test, die Anhäufung von Trypanblau in der Kaninchenhaut hervorzu-rufen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Anhäufung

von Farbstoff, die durch das nicht behandelte Exsudat hervorgerufen wurde, vollzog sich in der gleichen Weise, wie dies von *Menkin*<sup>2</sup> für Histamin beschrieben wurde. Es verdient hervorgehoben zu werden, daß aber der

Tabelle 1 (Protokoll des Versuches mit Kaninchen Nr. 1714). Wirksamkeit des menschlichen Exsudates T und reinen Histaminextraktes auf die Erhöhung der Capillarpermeabilität.

Hautbezirk behandelt mit 0,2 cem von	7 cem 1%iges Trypanblau in phys. Kochsalzlösung, intravenös	
	Mengen des Farbstoffes in dem behandelten Hautbezirk	
	nach 10 Min.	nach 20 Min.
1. Extrakt . . . . .	+++ (kleine farblose Zentralzone)	+++
2. Extrakt . . . . .	+++ (kleine farblose Zentralzone)	+++
3. Nicht behandeltes Exsudat	++ (große farblose Zentralzone)	++
4. Nicht behandeltes Exsudat	++ (große farblose Zentralzone)	++

Die Anzahl von + liefert ein Maß für die Dichte der Blaufärbung.

nach der Methode von *Barsoum* und *Gaddum* erhaltene Extrakt des Exsudates zwar ebenfalls eine Farbstoffanhäufung auslöst, die sich aber in etwas anderer Weise vollzieht als bei Verwendung des unbehandelten Exsudates. Dieses Exsudat nämlich löst eine Reaktion aus, die durch die Entfärbung einer ausgedehnten mittleren Zone, welche selbst wieder von einem blauen Hof umgeben wird, gekennzeichnet ist, während der nach der Methode von *Barsoum* und *Gaddum* erhaltene Extrakt nur zur Ausbildung einer kleinen hellen mittleren Zone führte, die aber von einem breiten Hof von Gewebe umrandet war, in dem sich der Farbstoff sehr gleichmäßig angehäuft hatte. Vielleicht läßt sich diese Tatsache durch die Annahme erklären, daß im Verlauf der Extraktion ein geringer Teil des Histamins verloren geht, so daß die schließlich dem Extrakt verbleibende Histaminkonzentration eine Form der Fleckenbildung auslöst, wie wir sie sonst durch höhere Verdünnung von Histamin hervorgerufen können (Tabelle 1).

II. Versuche mit einem Hundeexsudat, welches durch intrapleurale Einspritzung von Terpentin erhalten worden war. Aus diesem Exsudat wurde das Histamin mittels alkalischer Hydrolyse entfernt. Histaminfreie Extrakte eines Pleuraexsudates vom Hund (Exsudat Nr. 2) erhielten wir nach der Methode von *Barsoum* und *Gaddum*<sup>3</sup> mittels alkalischer Hydrolyse. Das Ausgangsexsudat hatte ein hohes Histaminäquivalent (Abb. 3), während ein Extrakt dieses Exsudates, welches der alkalischen Hydrolyse unterworfen worden war, keinerlei Wirkung mehr auf die isolierte Darmmuskulatur des Meerschweinchens ausübt (Abb. 4).

Mit diesem histaminfreien Extrakt führten wir die folgenden Versuche aus, um die Frage zu klären:

1. Ob der histaminfreie Extrakt des Exsudates tatsächlich die Wirkung des Histamins auf die isolierte Darmmuskulatur zu verschleiern vermag.

2. Ob dieser Extrakt eine Erhöhung der Capillarpermeabilität in der Kaninchenhaut hervorzurufen vermag.

Wie aus Abb. 5 hervorgeht, ruft die Zufügung gleicher Teile eines histaminfreien Extraktes zu einer Histaminlösung von bekannter Konzentration (1:250000), eine voll-

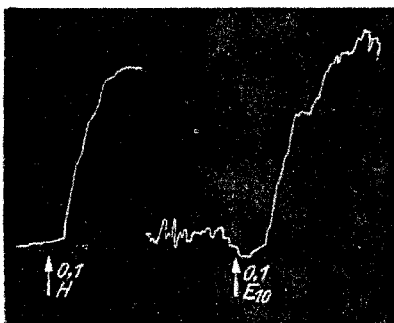


Abb. 3.

Abb. 3. Die Wirkung des Exsudates Nr. 2 auf dem isolierten Darm des Meersschweinchens. *H* Histamin in Verdünnung 1:500000. *E/10* Exsudat in Verdünnung 1:10.

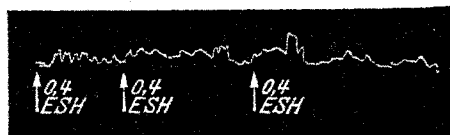


Abb. 4.

Abb. 4. Wirkungslosigkeit des histaminfreien Extraktes von Exsudat Nr. 2.

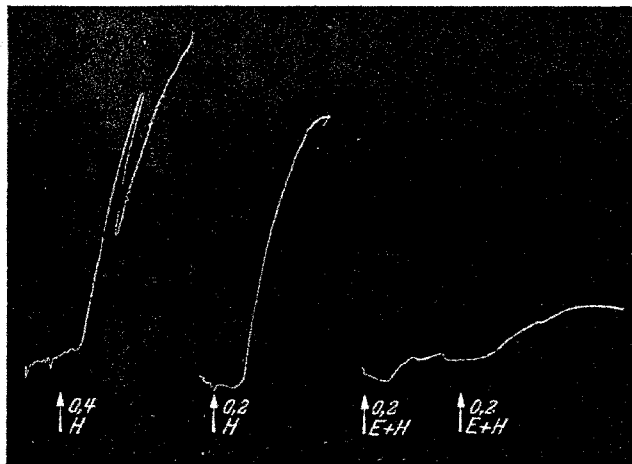


Abb. 5. Aufhebung der Wirkung des Histamins durch histaminfreien Extrakt des Exsudates Nr. 2. *H* Histamin in Verdünnung 1:500000. *E + H* Mischung aus gleichen Teilen von Histamin in Verdünnung 1:250000 und von histaminfreiem Extrakt des Exsudates, welches durch alkal. Hydrol. erhalten wurde.

kommene Neutralisierung der Wirkung hervor, die für Histamin kennzeichnend ist.

In Tabelle 2 stellen wir Ergebnisse von Versuchen zusammen, aus denen hervorgeht, daß histaminfreier Extrakt zu gleicher Zeit auch die

Fähigkeit einbüßt, im behandelten Hautbezirk die Anhäufung von im Blut zirkulierendem Trypanblau hervorzurufen.

Tabelle 2 (Protokoll der Versuche mit Kaninchen 1714). Wirkungslosigkeit des histaminfreien Extraktes (alkalische Hydrolyse von Exsudat Nr. 2).

Hautbezirk behandelt mit 0,2 ccm von	7 ccm 1%iges Trypanblau in phys. Koch- salzlösung, intravenös	
	Mengen des Farbstoffes in dem behandelten Hautbezirk nach 10 Min.	nach 20 Min.
1. Histaminfreier Extrakt, in Verdünnung 1:3 . . .	—	—
2. Histaminfreier Extrakt, in Verdünnung 1:3 . . .	—	—
3. Nicht behandeltes Exsudat in Verdünnung 1:3 .	+++	+++
4. Nicht behandeltes Exsudat in Verdünnung 1:3 .	+++	+++

### Besprechung.

Die Versuchsergebnisse, über welche in dieser und in der vorausgehenden Arbeit berichtet wurde, sprechen deutlich im Sinne der Annahme, daß jener Faktor der Exsudate, welcher für die Erhöhung der Capillarpermeabilität verantwortlich zu machen ist, dem Histamin gleichzusetzen ist. Tatsächlich läßt eine vergleichende Übersicht von einigen der wesentlichsten Eigenschaften des Leukotaxins von *Menkin* und des Histamins keinerlei wesentliche Unterschiede zwischen diesen beiden Substanzen erkennen. Dies geht aus Tabelle 3 hervor.

Tabelle 3. Vergleichende Übersicht von einigen kennzeichnenden Eigenschaften des Leukotaxins und des Histamins.

Leukotaxin	Histamin
Kochbeständig	Kochbeständig
Dialysierbar	Dialysierbar
Ausfällbar mit ein 1:2 gesättigter Ammoniumsulfatlösung	Ausfällbar mit ein 1:2 gesättigter Ammoniumsulfatlösung
Nicht ausfällbar mit Trichloressigsäure	Nicht ausfällbar mit Trichloressigsäure
Alkohollöslich	Alkohollöslich
Krystallisierbar als Pikrat	Krystallisierbar als Pikrat
Beständig gegen kochende konzentrierte Salzsäure	Beständig gegen kochende konzentrierte Salzsäure
Nicht beständig gegenüber alkalischer Hydrolyse	Nicht beständig gegenüber alkalischer Hydrolyse

Neuerdings hat *Menkin* für das Leukotaxin eine wichtige zusätzliche Eigenschaft angegeben, nämlich die Fähigkeit, Leukocytenwanderung hervorzurufen<sup>4</sup>. Über diesen chemotaktisch wirksamen Faktor soll in einer eigenen Arbeit eingehender berichtet werden.

### Zusammenfassung.

1. Entzündungsexsudate, denen auf dem Weg alkalischer Hydrolyse das Histamin entzogen wird, büßen gleichzeitig die Fähigkeit ein, nach Einspritzung in die Kaninchenhaut dort eine Erhebung der Capillardurchlässigkeit hervorzurufen.

2. Die Exsudate enthalten Hemmungsstoffe, welche die Wirkung des Histamins auf die isolierte Muskulatur des Meerschweinchendarmes vollkommen zu verschleiern vermögen. Eine bestimmte Menge von Histamin, der man die gleiche Menge eines histaminfreien Extraktes des Exsudates zufügt, büßt hierdurch vollkommen die Fähigkeit ein, die für Histamin kennzeichnende Kontraktion des Meerschweinchendarms hervorzurufen.

3. Ein Vergleich von einigen der wesentlichsten Eigenschaften jenes Faktors der Exsudate, welcher eine Steigerung der Capillarpermeabilität hervorruft (Leukotaxin von *Menkin*) und des Histamins, spricht deutlich im Sinne der Annahme, daß die beiden Substanzen identisch sind.

---

### Schrifttum.

- <sup>1</sup> *Bier, O. u. M. Rocha e Silva*: Virchows Arch. **303**, 325 (1939). — <sup>2</sup> *Barsonm, G. S. u. J. H. Gaddum*: J. of Physiol. **85**, 1. — <sup>3</sup> *Menkin, V.*: J. of exper. Med. **64**, 485. — <sup>4</sup> *Menkin, V.*: J. of exper. Med. **67**, 129. — <sup>5</sup> *Menkin, V.*: J. of exper. Med. **67**, 145. — <sup>6</sup> *Menkin, V.*: Arch. of Path. **24**, 65.
-