

Untersuchungen über Substanzen mit histaminaselibrierender Wirkung beim Meerschweinchen*

W. SCHMUTZLER, F. HAHN, O. GOLDSCHMIDT und G. SESEKE

Pharmakologisches Institut der Universität Freiburg/Br.
(Direktor: Prof. Dr. F. HAHN)

Eingegangen am 2. Juli 1966

Summary. Prosecuting our investigations on the histaminase-liberating action on the guinea pig liver of heparin and protamine we studied the effects of several other related compounds by injecting into the portal vein and estimating the histaminase activity in the hepatic vein plasma.

Besides heparin following polyanions are very effective histaminase-liberators: Pentosanpolysulphate, polyethylenesulphonate, degraded carrageenan, polyvinylsulphate and dextransulphate. There is no significant difference between the action of dextransulphate of low and high molecular weight. Agar which contains only few ester sulphate groups liberates clearly less histaminase. Non-sulphated dextrans, the non-polymerised dodecylsulphate and sodium sulphate are ineffective.

The histaminase-liberating action of the polycation clupein is comparable to salmin. It is more effective than agar, but less than the other polyanions. Spermine and l-arginine were ineffective.

A weak but significant release of histaminase was observed after intraportal injection of trypsin or EDTA and citrate, whereas calcium-EDTA was ineffective.

Das Meerschweinchen ist neuerdings für die Histaminaseforschung sehr interessant geworden, weil seine Leber beträchtliche Mengen Histaminase ins Blut abzugeben vermag. Das ist z. B. der Fall im aktiv und passiv anaphylaktischen Schock (SCHMUTZLER u. Mitarb., 1966b; SCHMUTZLER u. WEDER, 1965) oder nach i.v. Injektion von Heparin oder Protamin (HAHN u. Mitarb., 1966). Die Histaminase wird aus dem vorhandenen Depot in der Leber freigesetzt (SCHMUTZLER u. Mitarb., 1966a), wobei Heparin und Protamin einen mehr als zehnfach stärkeren Anstieg der Histaminaseaktivität im Plasma bewirken können als der anaphylaktische Schock. Der Freisetzungsmechanismus ist noch unklar, besonders weil Stoffe mit so gegensätzlichem elektrochemischen Charakter wie Heparin und Protamin den gleichen Effekt haben.

Zunächst aber ergibt sich die Frage, ob es noch weitere Substanzen mit histaminaselibrierender Wirkung gibt und von welchen strukturellen, physikalischen und biochemischen Eigenschaften ihre Wirkung

* Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

abhängt. Eine solche Substanz, die allerdings nur sehr schwach wirkt, ist das Anaphylatoxin (GIERTZ u. Mitarb., 1964). Als vermutlich basisches Peptid oder Proteid mit amino-endständigem Arginin (STEGEMANN u. Mitarb., 1964) könnte seine Wirkung auf einer chemischen Verwandtschaft mit Protamin beruhen. Wir haben nun die Wirkung weiterer polyanionischer und polykationischer Substanzen untersucht, worüber im folgenden berichtet werden soll.

Es handelt sich einmal um Sulfatester verschiedener Polysaccharide (nieder- und hochmolekulares Dextransulfat, Pentosanpolysulfat, degradiertes Carrageenan, Agar) und eines polymerisierten Alkohols (Polyvinylsulfat), ferner um einen polymeren sulfonierten Kohlenwasserstoff (Polyäthylensulfonat). Zum Vergleich dienten zwei nicht sulfatierte Dextrane, ein nicht polymerisierter Fettalkoholsulfatester (Dodecylsulfat) und Natriumsulfat. Die Wirkung dieser Stoffe wurde mit der Heparinwirkung verglichen, wozu wir die Ergebnisse unserer früheren Untersuchungen (HAHN u. Mitarb., 1966) unter Umrechnung der internationalen Heparineinheiten in Gewichtseinheiten heranzogen.

Weiterhin wurden zum Vergleich mit dem früher untersuchten Protaminsulfat „Novo“, das ein Salminsulfat darstellt, jetzt auch das Clupeinsulfat sowie das nicht polymerisierte Polyamin Spermin-4-HCl geprüft, ferner l-Arginin als Hauptbestandteil der Protamine und der basische Farbstoff Toluidinblau.

Da wir den Mechanismus der Histaminasefreisetzung an isolierten Leberzellen studieren wollten, prüften wir schließlich noch die Wirkung von Stoffen, die zu deren Gewinnung, d. h. zur Lyse der intercellulären Kittsubstanzen eingesetzt werden. Wir wählten hierzu Trypsin (YOUNGER, 1954) sowie Calcium-Chelatbildner wie Dinatrium-EDTA und Trinatriumcitrat (ANDERSON, 1953). Zur Kontrolle diente Dinatrium-Calcium-EDTA.

Methodik

Verwandt wurden Meerschweinchen beiderlei Geschlechts im Gewicht von 250–400 g. Alle Substanzen wurden an der Leber *in situ* getestet. Sie wurden hierzu in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und in einem Volumen von 1,0 ml/kg in die V. portae des narkotisierten Tieres (Pentobarbital-Na 30 mg/kg i.p.) injiziert. 2 min später wurde Blut aus der V. hepatica entnommen. Die Einzelheiten der Versuchstechnik und die Bestimmung des Histaminasegehaltes im Plasma sind ausführlich bei SCHMUTZLER u. Mitarb. (1966b) beschrieben. Wie dort wird die Aktivität der Plasmahistaminase in internationalen mE/ml Plasma angegeben. Dies entspricht dem Umsatz von 1 μ Mol Histamin/min.

Mit einigen Substanzen wurden auch i.v. Injektionen in die V. jugularis (unter Lokalanästhesie mit Novocain) und Histaminasebestimmungen im arteriellen Blutplasma vorgenommen. Wegen der bekannten Toxizität einiger der geprüften Stoffe (z. B. Dextransulfat 10 und Polyäthylensulfonat) war aber hier die Gewinnung ausreichender Blutmengen sehr schwierig, so daß wir unsere Aussagen im wesentlichen auf die Versuche mit intraportalen Injektionen stützen.

Eigenschaften und Herkunft der geprüften Substanzen:

1. Heparin-Na („Vetren“) kristallisiert mit 140 IE/mg (Promonta, Hamburg).
2. Pentosanpolysulfat-Na („SP 54“) Mw ca. 2000, Schwefelgehalt 14% (Bene-Chemie, München).
3. Dextransulfat-Na 10 (Schwefelgehalt 16%) und Dextransulfat-Na 500 (Schwefelgehalt 17%). Sie waren durch Sulfatierung hergestellt aus Dextran 10, Mw 9400 bzw. Dextran 500, Mw 500000 (Knoll AG, Ludwigshafen).
4. Dextran 10, die Muttersubstanz des Dextransulfates 10, Mw 9400 und Dextran 9-Oma-1, Mw 292000, das wir zu Anaphylatoxinbereitung verwenden (Knoll AG, Ludwigshafen).
5. Degradiertes Carrageenan. Gemisch verschiedener Polysaccharidschwefelsäureester aus *Eucheuma Spinosum*, Schwefelgehalt ca. 13% (wir verdanken es Herrn Dr. W. ANDERSON, Dept. of Pharmacy, University of Strathclyde, Glasgow).
6. Agar (DAB 6). Gemisch verschiedener Polysaccharide und Polysaccharidschwefelsäureester (endständig mit Schwefelsäure veresterte Galaktane, vgl. PLOETZ u. FREUDENBERG, 1951), Schwefelgehalt ca. 1%. Der Agar wurde heiß gelöst und körperwarm injiziert.
7. Polyvinylsulfat-K. Schwefelgehalt 20%. Mol.gew. unbekannt (nach DIALER u. KERBER, 1956, zwischen 4000 und 90000).
8. Polyäthylensulfonat-Na, Schwefelgehalt 24%, Mw ca. 8000 (Farbwerke Hoechst AG, Frankfurt/Main).
9. Dodecylsulfat-Na, Schwefelgehalt ca. 12%, Mw 257 (Serva, Heidelberg).
10. Natriumsulfat anhydr. (Merck, Darmstadt).
11. Clupeinsulfat, Mw ca. 4400 (Fluka, Schweiz).
12. Spermin-4-HCl, Mw 348 (Fluka, Schweiz).
13. l-Arginin, freie Base, Mw 174 (Schuchardt, München).
14. Tolidinblau O, Mw 306 (Merck, Darmstadt).
15. Trypsin krist. (Serva, Heidelberg).
16. Tri-Natrium-Citrat (Erg. B. 6, Merck, Darmstadt).
17. Di-Natrium-EDTA (Titriplex III, Merck, Darmstadt).
18. Di-Natrium-Calcium-EDTA (Calcium-Titriplex, Merck, Darmstadt).

Ergebnisse

Die Tab.1 zeigt im Vergleich zu Heparin (Vetren) die Substanzen, die sich bei intraportaler Injektion als wirksame Histaminaselibерatoren an der Meerschweinchenleber erwiesen haben. Bei den meisten Stoffen wurden verschiedene Dosen geprüft, wobei sich in allen Fällen eine Dosisabhängigkeit der Wirkung ergab. Mit Ausnahme des Clupeinsulfates handelt es sich um Makroanionen. Auf Gewichtseinheit bezogen, besitzen Pentosanpolysulfat und Polyäthylensulfonat eine dem Heparin vergleichbare Wirksamkeit. Schwächer wirksam sind Carrageenan, das allerdings nur in einer Dosis geprüft wurde und Polyvinylsulfat. Noch etwas schwächer scheinen, wenigstens in den niederen Dosen, Dextransulfat 10 und 500 zu sein. Bemerkenswert ist, daß sich die Dosis-Wirkungsbeziehungen dieser beiden Dextransulfate nicht wesentlich unterscheiden. Alle diese Stoffe zeigen bereits bei einer Dosis von 0,05 mg/kg einen deutlichen Effekt, wenn man vom Carrageenan absieht, das bei dieser Dosis nicht geprüft wurde (Normalwerte und Kontrollversuche

Tabelle 1. *Histaminaseaktivität (mE/ml Plasma) im Lebervenenplasma nach Injektion verschiedener Polyelektrolyte in die V. portae.*
Versuchszahl in Klammern

Testsubstanz	Dosis (mg/kg)									
	0,05	0,2	0,36	0,5	1,0	2,0	3,6	5,0	10,0	50,0
Heparin-Na (Vetren)	0,910 ± 0,039 (3)		16,380 ± 4,458 (5)				47,400 ± 13,489 (6)			
Pentosanpolysulfat-Na	0,783 ± 0,142 (3)	3,695 ± 1,144 (4)		18,480 ± 5,700 (4)	28,443 ± 3,030 (4)					
Carrageenan					13,883 ± 0,911 (3)					
Agar									2,340 ± 0,495 (4)	
Dextransulfat-Na 10	0,510 ± 0,168 (3)	0,276 ± 0,063 (4)		1,860 ± 0,516 (4)	6,696 ± 1,998 (4)				41,875 ± 5,888 (4)	
Dextransulfat-Na 500	0,567 ± 0,113 (3)	0,795 ± 0,201 (4)		1,970 ± 0,444 (3)	8,978 ± 0,745 (4)				18,238 ± 4,472 (4)	
Polyäthylensulfonat-Na	0,526 ± 0,054 (3)	4,810 ± 0,735 (4)		17,675 ± 2,412 (4)						25,625 ± 11,750 (2)
Polyvinylsulfat-K	0,429 ± 0,055 (3)	2,183 ± 0,525 (4)		6,020 ± 0,417 (4)	12,236 ± 1,259 (5)				23,738 ± 6,354 (4)	
Clupeinsulfat				0,003 ± 0,003 (3)	0,071 ± 0,037 (3)	1,060 ± 0,169 (4)		12,163 ± 1,350 (4)	22,838 ± 5,107 (4)	

mit NaCl-Injektion siehe Tab.2). Erst in weitem Abstand folgt der Agar, der in der einzigen geprüften Dosis von 10 mg/kg nur eine Wirkung aufwies, die andere Polyanionen schon bei 0,2—0,5 mg/kg erreichten oder überschritten.

Niedriger als beim Agar, aber deutlich höher als bei den übrigen Makroanionen ist die Schwellendosis (2 mg/kg) des Clupeinsulfates. Seine Wirkung entspricht weitgehend derjenigen des früher untersuchten Protaminsulfates „Novo“ (Salminsulfat, vgl. HAHN u. Mitarb., 1966).

Tabelle 2. *Histaminaseaktivität im Lebervenenplasma nach Injektion verschiedener Substanzen in die V. portae. Versuchszahl in Klammern*

Testsubstanz	Dosis (mg/kg)	Histaminase (mE/ml Plasma)	
Spermin-tetrahydrochlorid	10	0,007 ± 0,005 (3)	
Dodecylsulfat-Na	10	0,000 ± 0,000 (2)	
Dextran 10	10	0,067 ± 0,040 (4)	
Dextran 9-Oma-1	10	0,000 ± 0,000 (2)	
	10	0,032 ± 0,021 (4)	
Natriumsulfat	50	0,058 ± 0,030 (4)	
L-Arginin	10	0,047 ± 0,021 (3)	
Toluidinblau O	10	0,062 ± 0,012 (3)	
Tri-Na-Citrat	50	0,458 ± 0,084 (3)	
Di-Na-EDTA	50	1,734 ± 0,633 (5)	
Di-Na-Ca-EDTA	50	0,150 ± 0,080 (5)	
Trypsin	10	1,044 ± 0,255 (3)	
Kontrollen	keine Injektion	0,043 ± 0,037 (4)	
	0,9% NaCl	1,0 ml/kg	0,039 ± 0,020 (6)

In Tab.2 sind alle übrigen Stoffe aufgeführt. Unwirksam waren das kleinmolekulare Polykation Spermin, Dodecylsulfat, die beiden nicht sulfatierten Dextrane, Natriumsulfat, l-Arginin und Toluidinblau. Eine schwache, aber deutliche histaminaseliberierende Wirkung hatte Citrat und etwas stärker EDTA. Calcium-EDTA war dagegen unwirksam. Die Wirkung des Trypsins ist zwar deutlich, in Hinblick auf die hohe Dosis aber nur als sehr schwach anzusehen.

Pentosanpolysulfat, Carrageenan, Dextransulfat 10 und Polyäthylensulfonat erwiesen sich auch bei i.v. Injektion am intakten Meerschweinchen als Histaminaseliberatoren (Tab.3). Sie zeigen hier keine wesentlichen Wirkungsunterschiede, haben allerdings einen deutlich schwächeren Effekt als Heparin.

Besprechung der Ergebnisse

Die umfangreiche Gruppe von Stoffen, die aus der Meerschweinchenleber Histaminase freisetzen können, läßt sich am besten unter dem Begriff „Histaminase-Liberatoren“ zusammenfassen. Wie wir am Bei-

Tabelle 3. Histaminaseaktivität (mE/ml Plasma) im arteriellen Blutplasma nach i.v. Injektion verschiedener Polyelektrolyte.
Versuchszahl in Klammern

Testsubstanz	Dosis (mg/kg)								
	0,36	0,72	1	2	3,6	5	10	20	50
Heparin-Na (Vetren)	3,268 ± 0,143 (3)	10,938 ± 1,548 (4)			12,209 ± 3,125 (9)				
Pentosanpolysulfat-Na			1,720 ± 0,314 (3)	3,323 ± 0,585 (3)	5,943 ± 1,831 (3)	10,620 ± 2,857 (4)	13,316 ± 1,338 (3)	17,510 ± 0,660 (4)	
Carrageenan			1,642 ± 0,654 (3)			8,723 ± 2,065 (3)			
Dextransulfat-Na 10						10,850 ± 1,300 (2)			
Polyäthylensulfonat-Na					9,375 ± 6,220 (2)	13,350 ± 0,450 (2)		14,425 ± 0,375 (2)	
Kontrollen	keine Injektion				0,018 ± 0,008 (5)				
	0,9% NaCl 1,0 ml/kg				0,039 ± 0,020 (6)				

spiel des Heparins feststellen konnten, bewirken sie schon bei einmaliger, genügend hoher Dosierung innerhalb von 2 min eine vollständige Entspeicherung der Leber an histaminabbauendem Enzym, das auf Grund seiner Substrat- und Inhibitorspezifität zu den carbonylreagensempfindlichen Aminoxydasen gehört (SCHMUTZLER u. Mitarb., 1966a)¹.

Als wirksamste Histaminase-Liberatoren haben sich in unseren Versuchen die polyanionischen Stoffe erwiesen. Einzig der Agar fällt durch seine schwache Wirkung aus dem Rahmen. Da er nur einen geringen Gehalt an Schwefelsäureestern aufweist und die nicht sulfatierten Dextrane völlig wirkungslos sind, so scheint der Sulfatierungsgrad für die Histaminase-Liberation maßgebend zu sein. Er ist bei den wirksamen Stoffen ziemlich gleich.

Aus den Wirkungen von Polyäthylensulfonat und Polyvinylsulfat läßt sich schließen, daß beim Heparin sowohl die N- als auch die O-Sulfatgruppen, d. h. alle anionischen Schwefelsäurereste, zu seiner Wirkung beitragen können (vgl. Chemie des Heparins bei BRIMACOMBE u. WEBBER, 1964).

Wenn auch, wie aus der Unwirksamkeit von Dodecylsulfat hervorgeht, die Polymerstruktur erforderlich ist, spielt doch das Molekulargewicht in dem Bereich, in dem sich die wirksamen Stoffe bewegen (2000 bei Pentosanpolysulfat bis 500000 bei Dextransulfat 500), offenbar keine entscheidende Rolle. Beachtenswert ist besonders die nahezu gleichstarke Wirkung von Dextransulfat 10 und 500, deren Molekulargewichte um das ca. 50fache differieren.

Zwischen der Histaminase-Liberation und den gerinnungshemmenden Wirkungen der Makroanionen bestehen wahrscheinlich keine Beziehungen, da nach Pentosanpolysulfat und Carrageenan in den angewandten Dosen bei grober Prüfung keine Gerinnungsverzögerung des Blutes beobachtet wurde.

Die Wirkung des degradierten Carrageenans verdient deshalb Interesse, weil diese Substanz nach ANDERSON u. WATT (1959) und ANDERSON u. SOMAN (1963) günstige therapeutische Effekte beim Histaminulcus des Meerschweinchenmagens ausübt. Sie stehen mit der Histaminaseliberation in engem Zusammenhang, wie noch an anderer Stelle gezeigt wird (ANDERSON, SOMAN u. SCHMUTZLER, in Vorbereitung).

Für die (etwa gleichstarke) Wirkung der polykationischen Protamine Clupein und Salmin scheint die Polypeptidstruktur erforderlich zu sein, da sich ihr Hauptbaustein Arginin als unwirksam erwies. Dafür spricht auch die Unwirksamkeit des nicht polymeren Polykations Spermin. Untersuchungen mit Histonen verschiedenen Arginingehaltes mußten vorerst wegen ihrer ungenügenden Löslichkeit zurückgestellt werden.

¹ Das Enzym hat nach der Systematik der Commission on Enzymes of the International Union of Biochemistry die Nummer 1.4.3.6.

Zu beachten ist allerdings, daß für die Meerschweinchenleberhistaminase auch Spermin als Substrat in Frage kommt (SCHMUTZLER u. Mitarb., 1966a). Um auszuschließen, daß eine Histaminaseausschüttung durch Spermin eventuell dadurch maskiert wird, daß dieser Stoff den Histaminabbau *in vitro* kompetitiv hemmt, wurden in einigen Versuchen 10 mg Spermin/kg und 2 mg Clupein/kg gemischt intraportal injiziert. Dabei kam es aber wie nach Clupein allein zu einer nachweisbaren Histaminasevermehrung im Plasma. Die fehlende Wirkung von Toluidinblau kann dagegen nur mit Vorbehalt wiedergegeben werden, da dieser basische Farbstoff die Aktivität der Histaminase hemmt (ZELLER, 1963; eigene Versuche).

Die histaminaseliberierende Wirkung von Trypsin und Calcium-Chelatbildnern schließt von vornherein die Möglichkeit aus, mit den bisher entwickelten Methoden zur Gewinnung isolierter Leberzellen den Mechanismus der Histaminaseliberation an diesem Modell zu untersuchen. Ob darüber hinaus der Effekt dieser Stoffe zum Verständnis des Enzymliberationsmechanismus beitragen kann, müssen weitere Untersuchungen klären.

Die makromolekulare Struktur der wirksamsten Histaminaseliberatoren, die relative Unabhängigkeit ihrer Wirkung von der Molekülgröße, und die hohe Geschwindigkeit der Freisetzungsreaktion legen die Vermutung nahe, daß sie sich an der Oberfläche der cellulären Histaminasespeicher in der Leber abspielt, sofern diese Speicher nicht über besondere Mechanismen zur raschen Aufnahme makromolekularer Substanzen verfügen wie z. B. die Kupfferschen Sternzellen.

Die Tatsache, daß sowohl anionische als auch kationische Stoffe Histaminase freisetzen, könnte vermuten lassen, daß die Histaminase durch basische Gruppen an celluläre Strukturen geknüpft ist. Sie könnte dann sowohl durch Bildung von Polyanion-Enzym-Komplexen als auch durch Verdrängung mittels basischer Stoffe von den cellulären Haftstellen losgelöst werden. Andererseits ist aber zur Zeit eine enzymatische Abspaltung der Histaminase aus dem Gewebe durch proteolytische oder esterolytische Enzyme nicht auszuschließen. Die Wirkung des Trypsins, die Tatsache, daß Heparin und Protamin im Meerschweinchen-serum Fibrinolysin aktivieren (OLESEN, 1959, 1960) und daß auch im Meerschweinchenplasma nach Heparininjektion Clearing Factor Lipase auftritt (MYERS u. Mitarb., 1955), läßt diese Möglichkeit diskutabel erscheinen.

Heparin besitzt nach HANSSON u. Mitarb. (pers. Mitteilung) auch bei anderen Species — einschließlich Mensch — einen histaminase-(diaminoxidase-)liberierenden Effekt, der allerdings nach unseren neueren Versuchen wesentlich schwächer ist und außerdem langsamer einsetzt als beim Meerschweinchen. Ob dies auch für die anderen hier geprüften Stoffe zutrifft, ist noch nicht untersucht, aber als wahrscheinlich anzusehen.

Literatur

- ANDERSON, N. G.: The mass isolation of whole cells from rat liver. *Science* **117**, 627—628 (1953).
- ANDERSON, W., and P. D. SOMAN: Degraded carrageenan and experimental acute gastric ulceration in the guinea pig. *Nature (Lond.)* **199**, 389 (1963).
- , and J. WATT: The protective action of an algal polyanion against experimentally produced peptic ulceration in the guinea pig. *J. Physiol. (Lond.)* **147**, 52P—53P (1959).
- BRIMACOMBE, J. S., and J. M. WEBBER: Mucopolysaccharides. Chemical structure, distribution and isolation. B.B.A. Library, Vol. 6. Amsterdam, London, New York: Elsevier Publishing Comp. 1964.
- DIALER, K., u. R. KERBER: Zur Kenntnis der Polyäthylensulfonsäuren. *Makromolekulare Chem.* **17**, 56—61 (1956).
- GIERTZ, H., F. HAHN u. W. SCHMUTZLER: Über die Aktivität der Plasmahistaminase bei verschiedenen Schockformen des Meerschweinchens. *Int. Arch. Allergy* **25**, 343—359 (1964).
- HAHN, F., W. SCHMUTZLER, G. SESEKE, H. GIERTZ u. W. BERNAUER: Histaminase-freisetzung durch Heparin und Protamin beim Meerschweinchen. *Biochem. Pharmacol.* **15**, 155—160 (1966).
- MYERS, D. K., A. SCHOTTE, and B. MENDEL: Studies on ali-esterases and other lipid-hydrolysing enzymes. *Biochem. J.* **60**, 481—486 (1955).
- OLESEN, E. S.: Effect of acid polysaccharides on the fibrinolytic system in guinea pig serum. *Acta pharmacol. (Kbh.)* **15**, 307—318 (1959).
- Fibrinolytic activity induced in guinea pig serum by protamine and quaternary ammonium bases. *Acta pharmacol. (Kbh.)* **17**, 191—199 (1960).
- PLOETZ, TH., u. K. FREUDENBERG: Polysaccharide. In: FLASCHENTRÄGER, B., u. E. LEHNARTZ: *Physiologische Chemie*, S. 326—359. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1951.
- SCHMUTZLER, W., O. GOLDSCHMIDT, J. KNOP u. R. P. SCHAAFF: Untersuchungen über die Aminoxydase-Freisetzung ins Blut beim Meerschweinchen und Hund. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **255**, 69—70 (1966a).
- F. HAHN, G. SESEKE, u. W. BERNAUER: Über die Herkunft der Plasmahistaminase im anaphylaktischen Schock des Meerschweinchens. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **252**, 332—338 (1966b).
- , u. M. WEDER: Plasmahistamin und Plasmahistaminase bei der passiven Anaphylaxie des Meerschweinchens. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **251**, 177 (1965).
- STEGEMANN, H., G. BERNHARD u. J. A. O'NEIL: Endgruppen von Anaphylatoxin. Einfache Sequenzanalyse von Carboxyl-endständigen Aminosäuren. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **339**, 9—13 (1964).
- YOUNGNER, J. S.: Monolayer tissue cultures. I. Preparation and standardization of suspension of trypsin-dispersed monkey kidney cells. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **85**, 202—205 (1954).
- ZELLER, E. A.: Diamine oxidases. *The Enzymes*, 2 nd. ed., Vol. 8, pp. 313—335 (1963).

Professor Dr. F. HAHN
und Dr. W. SCHMUTZLER
Pharmakologisches Institut der Universität
78 Freiburg/Br., Katharinenstraße 29