

HEMMUNG DER ANAPHYLAKTISCHEN HISTAMINASEFREISETZUNG DURCH PROTAMIN BEIM MEERSCHWEINCHEN

F. HAHN und W. SCHMUTZLER

Pharmakologisches Institut der Universität, Freiburg i. Br., Germany

(Received 23 January 1967; accepted 16 February 1967)

Abstract—Previous experiments had shown that in guinea pigs the liver is the source of the plasma histaminase during the anaphylactic shock as well as after injections of heparin. Furthermore, the liver of guinea pigs is also involved in the anaphylactic release of heparin-like substances which have a histaminase releasing activity. The present study indicates that the release of anaphylactic histaminase into the plasma is mediated by heparin. In sensitized guinea pigs the plasma histaminase activity after intravenous injection of antigen (1 mg ovalbumin/kg) is strongly reduced by simultaneous injection of protamine (1 or 2 mg/kg) into a different vein, although higher doses (5 mg/kg or more) of protamine have like heparin a strong histaminase releasing effect. The effect of protamine on the anaphylactic histaminase release is in accordance with its effect on the histaminase release produced by heparin injection. Heparin doses which provoke the same plasma histaminase activity as the anaphylactic shock are also neutralized by 1 mg protamine/kg. *In vitro*, protamine has no inhibiting action on the activity of plasma histaminase. Given in different doses, heparin revealed no inhibitory effect on the anaphylactic histaminase release. Protamine is ineffective against the anaphylactic *histamine* release into the plasma of guinea pigs and does not alter the acute or subacute death rate in shock.

IM ANAPHYLAKTISCHEN Schock des Meerschweinchens tritt im Blut⁶ resp. Plasma² eine starke Histaminase auf, die von der Leber ausgeschüttet wird.¹¹ Die Tatsache, daß sich auch mithilfe von Heparin Histaminase aus der Leber freisetzen läßt,⁵ legte die Vermutung nahe, daß Heparin der Mediator der anaphylaktischen Histaminasefreisetzung ist.³ Im Blute anaphylaktischer Meerschweinchen lassen sich in der Tat heparinartige, d.h. metachromatisch reagierende Stoffe nachweisen.^{4, 7, 8} Diese Stoffe setzen ebenfalls Histaminase aus der Leber frei und ihre Menge im Blut anaphylaktischer Tiere reicht aus, um die Histaminasefreisetzung im Schock erklären zu können.⁸ Da sich die anaphylaktische Histaminaseliberierung in der Leber abspielt, wie sich durch Antigeninjektionen in die Pfortader nachweisen ließ,¹¹ ist es wichtig, daß die Leber auch die Hauptquelle des Heparins ist.⁴

Die Histaminasefreisetzung durch Heparin wird durch gleichzeitige Gaben von Protamin aufgehoben.⁵ Diejenigen Heparindosen (etwa 25-50 i.u./kg), die eine gleich starke Histaminaseaktivität im Plasma hervorrufen wie der anaphylaktische Schock, werden durch 1 mg Protamin/kg neutralisiert.^{5, 9} Im folgenden soll daher untersucht werden, ob sich durch die gleiche Protamindosis auch die anaphylaktische Histaminasefreisetzung hemmen läßt.

Protamin ist aber nicht nur ein Neutralisator von Heparin, sondern setzt selbst wie Heparin Histaminase frei.⁵ Jedoch liegen die mit Heparin äquieffektiven Protamindosen rund 5 mal höher als die das Heparin neutralisierenden Dosen. Die bei der Anaphylaxie theoretisch in Betracht zu ziehenden Heparindosen lassen sich bereits mit solchen Protamindosen neutralisieren, die kaum histaminaselibierend sind. Trotzdem mußte in Erwägung gezogen werden, daß das Protamin durch seine eigene histaminaselibierende Wirksamkeit mit der anaphylaktischen Histaminasefreisetzung interferieren könnte. Darum wurden Kontrollversuche mit Heparin in kleinen, ebenfalls nicht oder nur schwach histaminaselibierenden Dosen durchgeführt.

Eine Hemmung der Histaminasefreisetzung durch Protamin könnte theoretisch auch darauf beruhen, daß das Protamin basalere Schockmechanismen beeinflußt. Aus diesem Grunde wurde auch die Wirkung von Protamin auf die Histaminfreisetzung und auf die Schockletalität untersucht.

METHODIK

Verwendet wurden Meerschweinchen beiderlei Geschlechts im Gewicht zwischen 250 und 500 g am Versuchstag. Nur 11 von 191 Tieren wogen zwischen 500 und 600 g. Zur Sensibilisierung erhielten die Tiere 3 mal im Abstand von 2 Tagen 5 mg Ovalbumin (in 5 Prozentiger Lösung) intraperitoneal. 3–5 Wochen (nur ausnahmsweise später) nach der ersten sensibilisierenden Injektion wurden die Versuche durchgeführt.

Nach örtlicher Betäubung mit 2 Prozentigem Novocain (2 ml/kg) wurde in die Jugularvene einer Seite 1 mg Ovalbumin/kg und streng gleichzeitig in die Jugularis der anderen Seite pro kg 1 mg oder 2 mg Protamin (Novo) oder 2,5, 5 oder 10 IE Heparin (Novo) oder 0,9% NaCl injiziert. An weiteren, ebenfalls sensibilisierten Tieren wurde an Stelle des Ovalbumins 0,9% NaCl in eine Jugularvene injiziert und in die andere Protamin, Heparin oder ebenfalls 0,9% NaCl. Die Injektionsvolumina betrugen stets 1 ml/kg für eine Vene.

Zwei min nach der Injektion wurde 4 ml Blut aus der Carotis entnommen, mit 7,5 IE Heparin/ml versetzt und 20 min mit 3000 U/min zentrifugiert. Das abgehobene Plasma wurde nochmals zentrifugiert.

1 ml Plasma wurde mit 17 ml m/15 Phosphatpuffer pH 7,0 versetzt, das Gemisch im Schüttelthermostat auf 37° erwärmt. Dann wurde 20 µg Histaminbase (als Diclorid), in 2 ml m/15 Pufferlösung enthalten, zugegeben. Inkubation unter Schütteln bei 37°, Entnahme von Proben sofort und 7,5, 15 und 30 min nach dem Histaminzusatz. Die Proben wurden schnell aufgekocht, in Eiswasser abgekühlt und am atropinisierten Meerschweinchenileum gegen Histamin getestet.

Die Aktivität der Histaminase wurde als internationale mE/ml Plasma bestimmt. 1 mE entspricht dem Umsatz von 1 m μ mol Histamin/min.

In einer Sonderserie von 30 sensibilisierten Tieren wurden in die eine Jugularis 2 mg Protamin/kg oder 0,9% NaCl und gleichzeitig in die andere Jugularis 1 mg Ovalbumin/kg injiziert. Zwei min später erfolgte Blutentnahme und Zusatz von Heparin und Aminoguanidin (2 µg/ml). Das durch zweimaliges Zentrifugieren gewonnene Plasma diente zur Histaminbestimmung nach CODE.

ERGEBNISSE

Es wurden 5 verschiedene Versuchsserien durchgeführt, die in den Tabellen 1–5 niedergelegt sind. Die Spalte I in jeder Tabelle gibt die Aktivität der Plasmahistaminase

nach Antigeninjektion allein wieder. Aus dem Vergleich mit den Kontrollversuchen, in denen nur NaCl verabreicht wurde (Spalte III der Tabellen 1 und 2), ergibt sich die starke Erhöhung der Histaminaseaktivität im anaphylaktischen Schock. Der Mittelwert für die anaphylaktische Plasmahistaminase beträgt in Tabelle 1 das 20-fache und in Tabelle 2 das fast 35-fache der zugehörigen Kontrollwerte ($P < 0,005$ resp. $< 0,001$).

TABELLE 1. WIRKUNG VON PROTAMIN AUF DIE ANAPHYLAKTISCHE HISTAMINASE-FREISETZUNG

Nr.	T	Aktivität der Plasmahistaminase (mE/ml) nach Injektion von			
		Antigen		NaCl	
		+ NaCl	+ Protamin 1 mg/kg	+ NaCl	+ Protamin 1 mg/kg
1	21	2,440*	2,550*		0,570
2	25	12,050*	0,925		0,540
3	26	4,410	0,740*		0,000
4	21	7,480*	0,381†		0,534
5	23	2,480*	0,883*	0,294	
6	27	1,170*	0,130*		0,828
7	30	6,400*	2,380*	0,000	
8	34	0,749*	1,076*		0,483
9	36	0,270	0,460†	0,053	
10	75	9,820†	0,220*		0,000
11	76	0,657*	0,584*	0,670	
12	41	10,900*	1,100*		
13	51	4,980*	1,238*		
M		4,908 ± 1,141	0,974 ± 0,207	0,254 ± 0,152	0,369 ± 0,114
G		459 ± 28	467 ± 28	395 ± 21	466 ± 37

In Versuchsreihe Nr. 2-6 und 11-13 weibliche Tiere. Versuchstermine: November 1965 und Januar bis April 1966

* = Tod innerhalb 10 min; † = Tod nach 20-30 min.

T = Tage nach der ersten sensibilisierenden Antigeninjektion

M = Mittlere Aktivität mit mittl. Fehler d. Mittelwertes

G = Mittleres Tiergewicht mit mittl. Fehler d. Mittelwertes.

Die anaphylaktische Histaminaseaktivität weist allerdings große individuelle Unterschiede auf. Auch die Mittelwerte sind in den 5 Versuchsserien nicht gleich. Den niedrigsten Mittelwert erhielten wir in der Tabelle 3 (Spalte I). Er ist signifikant niedriger als die entsprechenden Mittelwerte in Tabelle 1 ($P < 0,05$) und Tabelle 2 ($P < 0,02$). Da in der Tabelle 3 auch das mittlere Tiergewicht signifikant niedriger lag als in den Tabellen 1 und 2, scheint ein Einfluß des Körpermengewichtes zu bestehen.

Einflüsse des Geschlechts oder der Sensibilisierungsdauer ließen sich nicht feststellen. Dagegen war ein Einfluß des Schockablaufs nachweisbar. Ordnet man sämtliche Tiere der Spalte I der Tabellen 1-5 in 2 Gruppen ein, nämlich in eine Gruppe mit innerhalb

14 min gestorbenen Tieren und in eine Gruppe mit später gestorbenen oder überlebenden Tieren, so beträgt die Histaminaseaktivität in der ersten Gruppe $4,602 \pm 0,768$ und in der zweiten Gruppe nur $2,192 \pm 0,505$ ($P < 0,02$).

Die Tabellen 1, 2 und 4 zeigen ferner, daß Protamin oder Heparin in den angewandten Dosen für sich allein, d.h. ohne Antigen, nur eine geringe Steigerung der Histaminaseaktivität bewirken. Dieser Anstieg war gegenüber den reinen NaCl-Kontrollen

TABELLE 2. WIRKUNG VON HEPARIN AUF DIE ANAPHYLAKTISCHE HISTAMINASEFREISETZUNG

Nr.	T	Aktivität der Plasmahistaminase (mE/ml) nach Injektion von			
		Antigen		NaCl	
		+ NaCl	+ Heparin 5 IE/kg	+ NaCl	+ Heparin 5 IE/kg
1	55	2,975	2,061*		0,076
2	56	2,326†	3,072*	0,027	0,473
3	25	6,240*	1,965	0,000	0,200
4	26	2,300†	5,510†	0,171	0,197
5	27	0,284	1,098*	0,186	0,163
6	28	6,835*	1,852*	0,000	0,054
7	31	7,460*	4,845*	0,053	0,701
8	25	4,295	2,007*	0,310	0,560
9	26	7,085*	10,275*		3,172
10	24	3,945*	0,490		0,517
11	25	2,100†	3,122*		1,293
12	26	5,535*	6,690*	0,256	0,537
13	26	3,797	3,255		0,000
M		4,244 ± 0,622	3,557 ± 0,745	0,125 ± 0,043	0,611 ± 0,235
G		394 ± 18	394 ± 21	371 ± 33	375 ± 21

Nur weibliche Tiere. Versuchstermine: Mai bis Juni 1966.

* = Tod innerhalb 12 min; † = Tod nach 35–60 min

Sonst wie Tabelle 1.

(Spalte III der Tabellen 1 und 2) nicht signifikant. Nur nach 10 IE Heparin/kg (Tabelle 4, Spalte VI) stieg die Histaminase auf einen Wert an, der mit $P < 0,05$ signifikant höher lag als der Wert, den man durch Zusammenfassung der Kontrollwerte in Tabellen 1 und 2 (Spalte III) erhält ($0,168 \pm 0,057$). Obwohl auch für die kleinere Heparindosis von 5 IE/kg und die beiden Protamindosen (1 und 2 mg/kg) ein schwacher histaminaseliberierender Effekt wegen der geringen Versuchszahl nicht ausgeschlossen werden kann, kann es sich nur um Schwelleneffekte handeln.

Wie nun aus den Tabellen 1, 3, 4 und 5 durch Vergleich von Spalte I und II hervorgeht, führten dieselben Protamindosen, gleichzeitig mit Antigen in 2 verschiedene Venen verabreicht, stets zu einer deutlichen Reduktion der anaphylaktischen Histaminaseaktivität. Dieser Effekt ist in Tabelle 1 ($P < 0,005$), 3 ($P < 0,05$) und 5 ($P < 0,05$) signifikant. In Tabelle 4 beruht das Fehlen einer Signifikanz sicherlich auf dem starken mittleren Fehler des Mittelwertes in Spalte I, bedingt durch einen extrem hohen Wert in dieser Gruppe (Nr. 9).

Wie Tabelle 2 (Spalte II), 3 (Spalte III), 4 (Spalte III und IV) und 5 (Spalte III und IV) zeigen, senkte Heparin dagegen die anaphylaktische Histaminaseaktivität nicht. Die mit Heparin + Antigen gefundenen Werte liegen teils etwas höher, teils etwas niedriger als in den zugehörigen Versuchen mit Antigen allein (Spalte I). In keinem Falle sind die Unterschiede signifikant. Ferner liegen in den Tabellen 3, 4 und 5 die Aktivitäten nach Injektion von Heparin + Antigen stets höher als nach Injektion von Protamin + Antigen. Diese Differenzen sind in Tabelle 4 (P zwischen Spalte II und III sowie II und IV $< 0,05$) und in Tabelle 5 (P zwischen Spalte II und III $< 0,005$ und zwischen Spalte II und IV $< 0,001$) signifikant.

TABELLE 3. WIRKUNG VON PROTAMIN ODER HEPARIN AUF DIE ANAPHYLAKTISCHE HISTAMINASEFREISETZUNG

Nr.	T	Aktivität der Plasmahistaminase (mE/ml) nach Injektion von		
		Antigen		
		I + NaCl	II + Protamin 1 mg/kg	III + Heparin 5 IE/kg
1	22	1,887†	0,975	4,440*
2	23	0,640*	0,054*	0,753*
3	24	1,764	1,177*	1,027*
4	25	4,705*	2,237*	1,436
5	21	3,240*	2,216*	14,580*
6	21	2,872	0,270	6,210†
7	24	2,893*	0,673†	4,270†
8	24	2,506*	0,597*	0,784
9	25	0,203	0,256*	0,630†
10	25	0,047	0,000*	0,000*
M		2,075 ± 0,466	0,846 ± 0,260	3,413 ± 1,403
G		294 ± 12	299 ± 7	296 ± 13

Nur weibliche Tiere. Versuchstermine: Juli 1966.

* = Tod innerhalb 15 min; † = Tod nach 20–60 min.

Sonst wie Tabelle 1.

Eine weitere Sicherstellung des Protamineffektes liefert die Betrachtung der einzelnen Versuche in den Tabellen 1–5. Jede horizontale Reihe (Nr. 1, 2, 3 ..) gibt eine an einem Tag an Tieren gleichen Geschlechts, gleicher Sensibilisierungsdauer und nahezu gleichen Gewichtes durchgeführte Versuchsreihe wieder. An einem Tag wurden 1–2 solcher Versuchsreihen durchgeführt. Von den 43 Versuchsreihen, in denen die Wirkung von Protamin + Antigen mit der Wirkung von Antigen allein verglichen wurde, war nur in 9 Versuchsreihen die Enzymaktivität nach Antigen + Protamin höher als nach Antigen allein. In den 63 Versuchsreihen, in denen Heparin + Antigen mit Heparin verglichen wurde, gab 37 mal die Kombination von Heparin + Antigen den stärkeren Effekt. Auch dieser Unterschied ist signifikant ($P < 0,001$).

Ordnet man in die Tabellen 1, 3, 4 und 5 in jeder senkrechten Spalte die Einzelwerte nach ihrer Größe, so ergibt sich, daß in jeder Tabelle die Werte der reinen Antigenversuche (Spalte I) und der Versuche mit Heparin + Antigen (Spalte III resp. III und IV

der Tabellen 3, 4 und 5) in einem hohen Prozentsatz (40–70%) über dem Höchstwert der Versuche mit Protamin + Antigen (Spalte II) der gleichen Tabelle liegen. Auch diese Unterschiede sind in allen Fällen signifikant ($P < 0,05$ bis $< 0,001$).

Im Mittel wird jedoch durch Protamin die anaphylaktische Histaminaseaktivität nur auf einen Betrag erniedrigt, der immer noch signifikant höher liegt als der Normalwert nach alleiniger NaCl-Gabe (P zwischen II und III in Tabelle 1 $< 0,02$ und in

TABELLE 4. WIRKUNG VON PROTAMIN ODER HEPARIN AUF DIE ANAPHYLAKTISCHE HISTAMINASEFREISETZUNG

Nr.	T	Aktivität der Plasmahistaminase (mE/ml) nach Injektion von					
		Antigen			NaCl		
		I + NaCl	II + Protamin 2 mg/kg	III + Heparin 2,5 IE/kg	IV + Heparin 10 IE/kg	V + Protamin 2 mg/kg	VI + Heparin 10 IE/kg
1	25	1,629	2,711	0,949*	4,225		
2	25	0,314*	0,623	6,155*	9,020*		
3	26	3,550*	0,107*	1,317*	2,479*		
4	26	1,259	0,437†	1,231*	1,788*		
5	27	3,598*	2,112*	3,540*	2,259*		
6	27	1,090*	1,616*	3,237*	1,030*		
7	23	3,627*	1,842*	5,052*	4,740*		
8	23	1,146*	1,838*	1,026*	1,862*		
9	27	25,300*	3,380†	5,015*	13,800*		
10	27	1,523*	0,133*	2,055*	1,697		
11	28					0,528	1,336
12	28					0,465	0,640
13	28					0,257	0,384
14	28					0,174	0,357
M		4,304 ± 2,363	1,480 ± 0,355	2,958 0,603	4,290 ± 1,209	0,356 ± 0,084	0,679 ± 0,228
G		394 ± 14	357 ± 12	362 ± 13	352 ± 16	303 ± 27	319 ± 39

Versuchsreihe Nr. 2, 4, 7 und 9–14 weibliche Tiere

Versuchstermine: August 1966.

* = Tod innerhalb 15 min; † = Tod nach 30–50 min. Sonst wie Tabelle 1.

Tabelle 2 $< 0,001$). Dies beruht nicht auf der histaminaselibierenden Eigenwirkung von Protamin. Denn die Histaminaseaktivität nach Injektion von Protamin + Antigen ist auch signifikant stärker als nach Injektion von Protamin allein (P in Tabelle 1 zwischen Spalte II und IV $< 0,02$; in Tabelle 4 zwischen Spalte II und V $< 0,01$).

Wie ferner aus den Tabellen 2 (Spalte II und IV) und 4 (Spalte III und VI) zu ersehen ist, ist nach Heparin + Antigen die Histaminaseaktivität signifikant stärker als nach Heparin allein ($P < 0,001$ resp. $< 0,005$). Das Fehlen einer hemmenden Wirkung des Hepars auf die anaphylaktische Histaminaseaktivität wird also nicht durch die histaminaselibierende Eigenwirkung von Heparin vorgetäuscht.

Die anaphylaktische Histaminfreisetzung wird durch Protamin nicht beeinflußt, wie aus der Tabelle 6 an Hand von zwei getrennten Versuchsserien hervorgeht.

In der oberen Versuchsserie der Spalte I ist die Histaminfreisetzung im Mittel signifikant höher als in der unteren ($P < 0,005$). Da sich die beiden Versuchsserien

sowohl durch das mittlere Tiergewicht ($P < 0,01$) als auch durch die Zeitspanne zwischen Sensibilisierung und Versuchstag unterscheiden, bleibt die Frage offen, welche dieser beiden Faktoren den gefundenen Unterschied in der Histaminfreisetzung veranlaßt haben könnte.

TABELLE 5. WIRKUNG VON PROTAMIN ODER HEPARIN AUF DIE ANAPHYLAKTISCHE HISTAMINASEFREISETZUNG

Nr.	T	Aktivität der Plasmahistaminase (mE/ml) nach Injektion von			
		Antigen			
		I + NaCl	II + Protamin 2 mg/kg	III + Heparin 2,5 IE/kg	IV + Heparin 10 IE/kg
1	28	8,520*	0,812*	4,467*	4,915
2	29	0,193	0,057	0,230	7,625*
3	30	0,880*	1,289*	2,800*	7,770*
4	33	3,313*	1,013*	7,900*	4,360*
5	34	5,445*	1,726*	2,079*	0,370*
6	35	0,811	0,384*	4,250*	5,705*
7	36	2,747*	1,217†	5,075*	1,443†
8	37	0,279*	0,104*	1,589	1,040*
9	40	0,600	0,514*	1,318	5,328
10	41	3,955*	0,410*	6,875*	4,855*
M		2,674 ± 0,861	0,753 ± 0,174	3,658 ± 0,789	4,341 ± 0,823
G		363 ± 11	374 ± 8	369 ± 6	368 ± 8

In Versuchreihe Nr. 3, 6 und 10 weibliche Tiere.

Versuchstermine: November 1966.

* = Tod innerhalb 12 min; † = Tod nach 20 min. Sonst wie Tabelle 1.

In Übereinstimmung mit dem fehlenden Einfluß auf die Histaminfreisetzung steht die Tatsache, daß Protamin auch die Schockletalität nicht beeinflußte. Bekanntlich beruht der akute Schocktod auf Histamin, während der Spättod, der zwischen 20 und 60 min auftrat, auf histaminunabhängige Mechanismen zurückzuführen ist.¹ Eine Hemmung der Histaminfreisetzung hätte zu einer Abnahme der akuten und zu einer Zunahme der subakuten Schockletalität führen müssen, während sich eine Beeinflussung des gesamten Schockgeschehens in der akuten und subakuten Verringerung der Letalität hätte äußern müssen. Beides ist nicht der Fall.

DISCUSSION

Die mitgeteilten Befunde lassen die Deutung zu, daß Protamin die anaphylaktische Histaminasefreisetzung durch Neutralisierung intermediär freigesetzten Heparins oder heparinartiger Stoffe mit histamineliberierender Wirksamkeit hemmt. Man könnte noch erwägen, ob Protamin die freigesetzte Histaminase hemmt. Eine solche Wirkung wäre aber schwer vereinbar mit der starken Histaminaseaktivität, die Protamin in hohen Dosen (z.B. 5 mg/kg) infolge seiner eigenen histamineliberierenden

Wirkung hervorbringt. Um diese Möglichkeit aber ganz auszuschließen, haben wir Kontrollversuche *in vitro* durchgeführt, in denen Protamin zu histaminasreichem Plasma (gewonnenen von Tieren, die Heparin erhalten hatten) zugesetzt wurde. Eine Beeinträchtigung der Enzymwirkung war nicht nachweisbar.

TABELLE 6. EINFLUß VON PROTAMIN AUF DIE ANAPHYLAKTISCHE HISTAMINFREISETZUNG

Nr.	T	Plasmahistamin (μg Histaminbase/ml) nach Injektion von	
		Antigen	
		I + NaCl	II + Protamin 2 mg/kg
1	22	0,197†	0,229
2		0,555*	0,510*
3		0,315*	0,192*
4		0,215	0,502*
5		0,137†	0,295
6		0,370*	0,187*
7		0,108	0,184
8		0,079†	0,236†
9		0,320*	0,311*
10		0,190	0,148
	M	0,249 ± 0,045	0,279 ± 0,041
	G	± 385 ± 10	389 ± 10
11	50	1,025*	1,495*
12		0,710*	0,228
13		0,102	0,466†
14		0,664*	0,563*
15		0,640	0,361†
	M	0,628 ± 0,146	0,623 ± 0,225
	G	315 ± 20	318 ± 19

In Versuchsreihe Nr. 1-5 und 11-13 weibliche Tiere.

Versuchstermine: November und Dezember 1966

* = Tod innerhalb 12 min; † = Tod nach 25-60 min.

Sonst wie Tabelle 1.

Hervorzuheben ist auch, daß 1 mg Protamin/kg für den maximalen Protamineffekt ausreicht. Denn diese Dosis neutralisiert auch die Heparindosen, die die gleiche Histaminaseaktivität und die gleiche metachromatische Reaktion im Plasma hervorrufen wie der anaphylaktische Schock.^{5, 8, 9} Verdoppelung der Protamindosis wirkte nicht stärker. Allerdings wird die Histaminasefreisetzung im anaphylaktischen Schock im Gegensatz zu der durch Heparin hervorgerufenen Freisetzung nicht vollständig gehemmt. Doch läßt sich diese Tatsache durch die Annahme verstehen, daß das

Protamin auf das in der Leber freigesetzte und dort zur Wirkung gelangende Heparin nicht so gut wirken kann wie auf exogen zugeführtes Heparin, wo die Neutralisierung bereits in der Blutbahn stattfindet.

Wir sehen daher in der Wirkung des Protamins eine weitere Stütze unserer Auffassung, daß Heparin oder heparinartige Stoffe bei der Meerschweinchenanaphylaxie die Mediatoren der Histaminasefreisetzung aus der Leber sind.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Die nach Antigeninjektion (1 mg Ovalbumin/kg) im Plasma sensibilisierter Meerschweinchen auftretende Histaminase ist nach gleichzeitiger (aber in 2 verschiedene Venen durchgeführter) Injektion von Antigen und Protamin (1 mg/kg) signifikant vermindert.

2. Dieser Effekt beruht auf einer Hemmung der Histaminaseausschüttung aus der Leber und nicht auf einer Hemmung der Histaminasewirkung durch Protamin; denn Protamin wirkt in höheren Dosen selbst stark histaminaselibierend und hat *in vitro* keinen Einfluß auf die Histaminaseaktivität.

3. Die Hemmung der Histaminaseausschüttung ist unvollständig und wird durch Verdoppelung der Protamindosis nicht verstärkt. Dies wird nicht durch die histaminaselibierende Eigenwirkung des Protamins vorgetäuscht, zumal diese bei den verwendeten Protamindosen höchstens schwach ist.

4. Heparin in nicht oder nur schwach histaminaselibierenden Dosen (2,5-10 IE/kg) beeinflußt die anaphylaktische Histaminaseausschüttung nicht.

5. Protamin hat in den verwendeten Dosen keinen Einfluß auf die anaphylaktische Histaminausschüttung und auf die akute oder subakute Schockletalität.

6. Die Befunde sind ein Hinweis auf die Mediatorfunktion des Heparins bei der Histaminasefreisetzung im anaphylaktischen Schock des Meerschweinchens.

LITERATUR

1. H. GIERTZ, F. HAHN, I. JURNA and W. SCHMUTZLER, *Arch. exp. Path. Pharmak.* **242**, 65 (1961).
2. H. GIERTZ, F. HAHN and W. SCHMUTZLER, *Int. Arch. Allergy* **25**, 343 (1964).
3. H. GIERTZ, F. HAHN, W. SCHMUTZLER and G. SESEKE, *Klin. Wschr.* **42**, 1034 (1964).
4. F. HAHN, H. GIERTZ and P. KRULL, *Nauyry-Schmeidbergs, Arch. exp. Path. Pharmak.* **256**, 430 (1967).
5. F. HAHN, W. SCHMUTZLER, G. SESEKE, H. GIERTZ and W. BERNAUER, *Biochem. Pharmac.* **15**, 155 (1966).
6. G. B. LOGAN, *Proc. Soc. exp. Biol.* **107**, 466 (1961).
7. F. C. MONKHOUSE, E. FIDLAR and J. C. D. BARLOW, *Am. J. Physiol.* **169**, 712 (1952).
8. W. SCHMUTZLER, H. GIERTZ, F. HAHN and P. KRULL, *Arch. exp. Path. Pharmak.* **257**, 59 (1967).
9. W. SCHMUTZLER, H. GIERTZ, F. HAHN and G. SESEKE, *Arch. exp. Path. Pharmak.* **250**, 173 (1965).
10. W. SCHMUTZLER, O. GOLDSCHMIDT, J. KNOP and R. P. SCHAAFF, *Arch. exp. Path. Pharmak.* **255**, 69, (1966).
11. W. SCHMUTZLER, F. HAHN, G. SESEKE and W. BERNAUER, *Arch. exp. Path. Pharmak.* **252**, 332 (1966).