

Our findings, viewed in the light of embryogenesis of hairs, lead us to suggest that as long as hair formation can supervene in an epidermal downgrowth, occurring during the healing of physically and/or chemically traumatized skin, then carcinoma will not develop. Induction of hair formation in invasive epidermal spurs, in the embryo, in early post-natal life or following injury, depends not only on the epidermal "Anlagen" but also on the competence of dermal connective tissue to develop hair papillae which in turn organize the epidermal "Anlagen" or invasive spurs into hair follicles. Alternatively, as in wound healing in man, excessive epidermal spurs may be eliminated.

CAIRNS and SAUNDERS<sup>1</sup> have shown that ectoderm-free leg mesoderm, implanted into the wings of chick embryos can influence the determination of the specific morphogenetic activities of the overlying ectodermal cells of the wing into scales, claws and feathers, characteristic of the leg. TEIR *et al.*<sup>2</sup> claim to have induced epidermal neoplasia with methylcholanthrene in the normally resistant rat, by simultaneously injecting embryonic skin suspensions. These studies provide indications of the importance of mesodermal derivatives in determining the direction of differentiation of surface foetal and adult ectoderm.

Thus, wherever dermal damage with fibrosis is associated with hyperplastic, invasive, healing epidermis or aborted attempts at hair follicle formation, carcinomatosis may be evoked more easily by appropriate treatment. Perhaps, epidermal neoplasia may therefore be regarded as the consequence of failure of a damaged dermis to differentiate hair papillae cells in response to pluripotential invasive epidermal spurs or new epidermal hair "Anlagen", formed during normal healing of skin injuries induced by physical and/or chemical agents. This hypothesis may account for most of the above mentioned experimental findings, and seems heuristically valuable.

The expenses incurred during this study were defrayed primarily by a generous grant from the Schlesinger Organisation, South Africa. Literature was made available, in part, through the Florence Powell Cancer Research Library Grant and through the kind assistance of Mrs. B. H. ROBINOW. We also acknowledge the technical assistance of PATRICIA R. LOW.

TH. GILLMAN, J. PENN,  
DORIS BRONKS, and MARIE ROUX

Brenthurst-Schlesinger Research Unit, Department of Physiology, University of Natal, Medical School, Durban, Natal, and Brenthurst Clinic, Johannesburg, Transvaal, South Africa, August 12, 1955.

### Zusammenfassung

Während des normalen Heilungsvorganges in Hautverletzungen wurde nachgewiesen, dass das Epithel die unterliegende traumatisierte Cutis "überfällt". Normalerweise werden solche "überfallenden" Epithelsporen entweder durch Fremdkörperreaktion des Bindegewebes eliminiert, oder aber eine "kompetente" Cutis bewirkt die Bildung von Talgdrüsen oder neuer Haarfollikel. In Anbetracht der engen Korrelation zwischen Haarbildung, Narben und Carcinogenese wird auf Grund der histologischen Befunde der Autoren und aus einer Übersicht der einschlägigen embryologischen

Forschungsliteratur gefolgert, dass das endgültig massgebliche Verhalten solcher "überfallenden" pluripotentialen Epithelsporen während des Wundheilungsvorganges teilweise von der Natur der epikutanen Überfälle abhängig ist, und vornehmlich von der Reaktivität der unterliegenden Cutis.

Epikutane Neoplasie könnte infolgedessen hauptsächlich als Ergebnis des Versagens einer beschädigten Cutis betrachtet werden, die weder die überfallende Epidermis eliminiert, noch die Haarpapillen differenziert, in ihrer Reaktion gegen überfallende, epidermale Sporen oder neue Haar-Anlagen, die während normalem Heilungsvorgang gebildet wurden; dies gilt für jedwede Verletzung, die chemisch oder physisch verursacht wurde. Überfallende epidermale Sporen könnten zuerst verhornte Zysten bilden, in welchen späterhin neoplastische Veränderungen in Erscheinung treten.

### Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese des Kontaktzems<sup>1</sup>

Wenn auch das Kontaktzem nur eine der verschiedenen klinischen Ekzemformen darstellt, ist die Kenntnis seines Entstehungsmechanismus für die anderen Formen ebenso von Interesse, da er bei diesen zumindest als nützliche Arbeitshypothese verwendet werden kann. Indessen ist auch die Pathogenese des Kontaktzems nicht lückenlos bekannt. Wir haben uns deshalb vorgenommen, Ort und Zeit des pathogenetischen Geschehens beim Kontaktzem zu bestimmen, das heißt, die verschiedenen Etappen vom ersten Kontakt mit der Noxe bis zum Auftreten der generalisierten Sensibilisierung zu verfolgen sowie die verschiedenen Organe und Gewebe, die sich daran beteiligen, zu erfassen.

Als Versuchsobjekt wählten wir das Meerschweinchen, welches sich in bekannter Weise mit 2,4-Dinitro-1-chlorbenzol (DNCB) willkürlich sensibilisieren lässt. Wir begannen unsere Untersuchungen am Anfang des pathogenetischen Geschehens, nämlich beim ersten Kontakt der Noxe mit der Haut, und bestimmten die minimale Kontaktzeit, die zur Entstehung der Sensibilisierung notwendig ist. Eine kurze Kontaktzeit würde dafür sprechen, dass die Rolle der Haut lediglich darin besteht, als Eingangspforte zu dienen, eine lange jedoch, dass ihr bedeutendere Funktionen im Gesamtprozess zukommen.

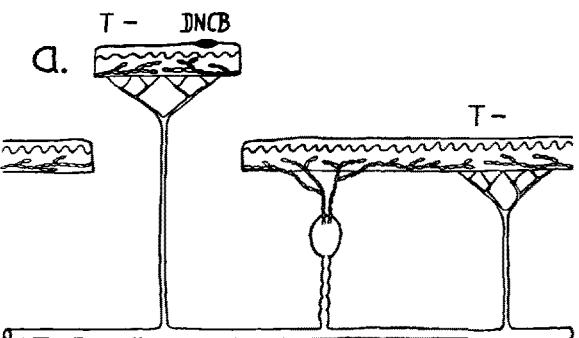
Durch Exzision der Kontaktstelle weit in der umgebenden, gesunden Haut in zeitlich steigenden Intervallen konnten wir bei insgesamt 109 Tieren feststellen, dass vor 8 h Kontaktzeit Sensibilisierung niemals eintritt, dass hingegen nach 16 h 50% der Tiere und nach 32 h 100% der Tiere sensibilisiert sind. In Anbetracht der Tatsache, dass generalisierte Sensibilisierung erst nach 7-9 Tagen eintritt, ist eine Kontaktzeit von 32 h als kurz anzusehen und die Funktion der Haut eher als Eingangspforte zu betrachten.

Dem Verlauf des Geschehens weiter folgend, versuchten wir festzustellen, auf welchem Wege die von der Kontaktstelle ausgehenden Wirkungen in den Organismus gelangen. Wir untersuchten diese Frage an Hautstücken - wir nennen sie Hautexplantate - die wir von ihrer Unterlage und der umgebenden Haut völlig trennten, die mit dem Organismus nur durch einige Arterien, Venen und Nerven verbunden waren und somit mehrere

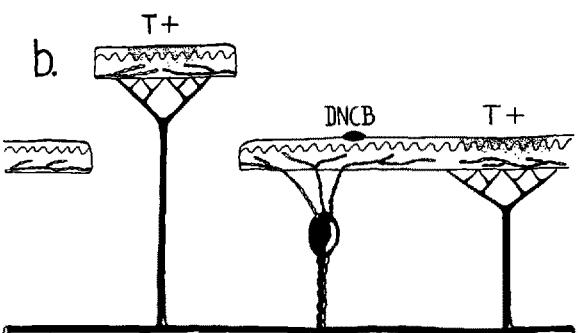
<sup>1</sup> J. M. CAIRNS and J. W. SAUNDERS, Jr., *J. exper. Zool.* 127, 2 (1954).

<sup>2</sup> H. TEIR *et al.*, *Acta path. microbiol. scand.* 34, 218 (1954).

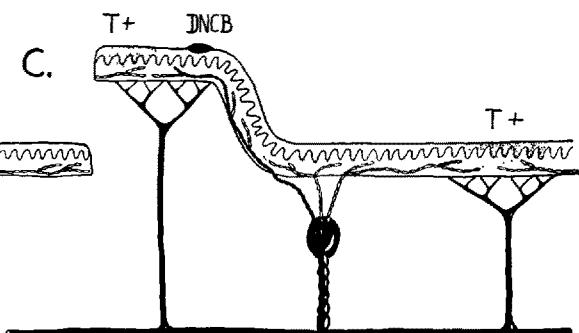
<sup>1</sup> Ausführliche Publikation erscheint demnächst in *Dermatologica*, Basel.



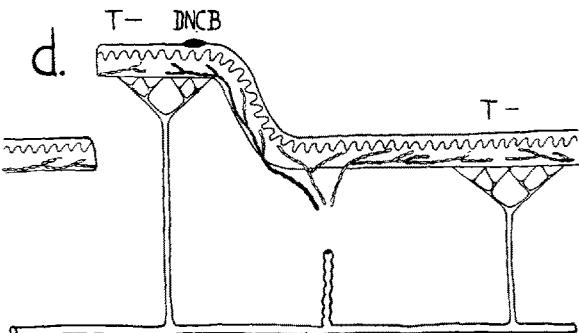
a Primärkontakt auf Explantat, Lymphsystem nicht beteiligt, Test auf Explantat und Normalhaut negativ.



b Primärkontakt auf Normalhaut, Lymphsystem beteiligt, Generalisierung durch die Blutbahn, Test auf Explantat und Normalhaut positiv.



c Primärkontakt auf Explantat, Lymphknoten belassen, Lymphsystem beteiligt, Generalisierung durch die Blutbahn, Test auf Explantat und Normalhaut positiv.



d Primärkontakt auf Explantat, Lymphknoten exzidiert, Test auf Explantat und Normalhaut negativ.

Versuche mit Hautexplantaten, schematisch. Lymphbahnen kettenförmig, Blutbahn schlauchförmig dargestellt, Arterien und Venen nicht unterschieden. Schwarz: An der Sensibilisierung beteiligte Systeme. Punktiert: Positive Erfolgsreaktionen (T+). a und b Explantat mit Gefäßstiel, c und d Explantat mit Gefäßstiel und Hautbrücke.

Wochen vital blieben. Wurde nun DNCB auf das Explantat gebracht und die Normalhaut nach etwa 10 Tagen mit geeigneter Technik getestet, so trat bei 44 von 46 behandelten Tieren in keinem Falle Sensibilisierung ein. Wir schliessen daraus, dass die von der Kontaktstelle ausgehenden Wirkungen nicht auf der Blut- oder Nervenbahn, sondern auf anderem Wege in den Organismus gelangen müssen (Abb. a). Wurde bei gleicher Versuchsanordnung DNCB nicht auf das Explantat, sondern auf die normale Haut gebracht, so konnten nach 10 Tagen auf der Haut und auch auf dem Explantat bei 13 von 17 Tieren typische allergische Reaktionen ausgelöst werden. Demnach werden die Wirkungen, die nach abgelaufener Inkubationszeit zur Umstellung der Reaktionslage der gesamten Haut führen, wahrscheinlich auf dem Blutweg generalisiert. Die Wahrscheinlichkeit, dass dazu der im Gefäßstiel auch vorhandene Nerv benutzt wird, scheint uns, wie aus weiteren Versuchen hervorgeht, gering (Abb. b).

Da durch Aufbringen von DNCB auf ein isoliertes Hautstück, das mit dem Organismus nur durch die Blut- und Nervenbahn verbunden ist, eine generalisierte Sensibilisierung nicht eintritt, lag die Annahme nahe, dass die von der Kontaktstelle ausgehenden Wirkungen durch die Lymphbahnen in den Organismus gelangen. Um diese Frage zu beantworten, bedienten wir uns ähnlicher Hautexplantate, denen aber außer dem Gefäßstiel noch eine Hautbrücke belassen wurde. Die Hautbrücke war gegen die Inguinalfalte des Tieres gerichtet und enthielt die afferenten Lymphgefäße der subiliacalen<sup>1</sup> Lymphknoten. Wurde nun DNCB auf solche Explantate gebracht und auf der normalen Haut in üblicher Weise getestet, so trat Sensibilisierung bei 28 von 32 Tieren ein (Abb. c). Wurden jedoch die regionalen Lymphknoten bei weiteren 22 Meerschweinchen vor dem Aufbringen des DNCB exstirpiert, so blieb die Sensibilisierung bei allen Tieren aus (Abb. d). Diese Ergebnisse zeigen, dass die regionalen Lymphknoten des Explantates zur Entstehung des Kontaktzems unbedingt notwendig sind. Die von der Kontaktstelle ausgehenden Wirkungen werden demnach durch die in der Hautbrücke enthaltenen Lymphgefäße zu den Lymphknoten weitergeleitet. Die Kontinuität der Epidermis oder Cutis als solche sowie die im Gefäßstiel enthaltenen Nerven sind dazu nicht notwendig, da sonst auch bei den Tieren mit exstirpierten Lymphknoten Sensibilisierung eintreten müsste.

**Schlussfolgerungen.** Unsere Versuche führen uns zu folgender Vorstellung des Entstehungsmechanismus des Kontaktzems: Die von der Hautstelle des Primärkontakte ausgehenden Wirkungen gelangen durch die Lymphbahnen zu den regionalen Lymphknoten. Diese Lymphknoten sind zur Entstehung des Kontaktzems unbedingt notwendig. Die weiteren Wirkungen, die zur Umstellung der Reaktionslage der gesamten Haut führen, werden wahrscheinlich vom Lymphsystem in die Blutbahn geleitet und durch diese generalisiert.

J. R. FREY und P. WENK

Medizinische Laboratorien der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel, den 21. Oktober 1955.

#### Summary

The mechanism of development of contact eczema, which might serve as a working hypothesis for other clinical forms of eczema, is not yet fully understood. An attempt was made, by means of sensitization with

<sup>1</sup> G. KELLER, Z. Infekt.-Krankh. Haustiere 52/53, 250 (1937/38).

Dinitrochlorobenzol in guinea-pigs, to determine the time and place of the pathogenetic phenomena, as well as the organs and tissues affected. Experiments on skin-explants permitted the separate investigation of the different systems, i.e. the blood, nerve and lymph, presumed to be involved.

It was ascertained that the lymphatic system is absolutely essential for the development of sensitization, and the blood path for its generalized spread.

### Aminoacidi della Perilinfa

Ancora oggi le nostre conoscenze sulla origine, sulla funzione e sulla composizione chimica della perilinfa sono limitate ed incerte. Lo studio della costituzione chimica della perilinfa è ostacolato da alcune difficoltà tecniche, relative al prelevamento del materiale ed alla scarsa quantità del liquido perilinfatico ottenibile nella massima parte degli animali.

Poichè non risulta che siano stati condotti studi sugli aminoacidi liberi della perilinfa, abbiamo voluto ricercare queste sostanze a mezzo della cromatografia di ripartizione su carta. Con questa tecnica è stato studiato il liquido perilinfatico del cavallo. La ricerca degli aminoacidi è stata condotta parallelamente sul sangue e sul liquido cerebrospinale degli stessi animali da cui era prelevata la perilinfa, nell'intento di portare un argomento indiretto a favore di una delle due teorie sulla origine della perilinfa, quella che sostiene una derivazione ematica e quella che sostiene una derivazione dal liquido cerebrospinale.

*Parte sperimentale.* I prelievi della perilinfa furono eseguiti, entro 15-30 min dalla morte, su cavalli dei due sessi e di età tra i sei mesi ed i due anni. La perilinfa era aspirata con pipette capillari attraverso la membrana della finestra rotonda, posta facilmente in evidenza seguendo la via proposta da uno di noi<sup>1</sup>. Da ogni orecchio si riusciva a prelevare 0,015-0,025 ml di perilinfa. I vari campioni prelevati, riuniti, erano subito deproteinizzati. Dagli stessi animali da cui si otteneva la perilinfa si prelevava il sangue dai grossi vasi del collo ed il liquido cerebrospinale dal rigonfiamento cervicale.

Per la determinazione qualitativa degli aminoacidi ci siamo serviti della tecnica di analisi cromatografica bidimensionale su carta elaborata da CONSDEN, GORDON e MARTIN<sup>2</sup> e modificata da DENT<sup>3</sup>.

La Figura 1 mostra un cromatogramma ottenuto con 1 ml di perilinfa di cavallo. Sono facilmente identificabili i seguenti aminoacidi: 1, acido aspartico; 2, acido glutamico; 3, fosfocolamina; 4, glicina; 5, serina; 6, taurina; 7, treonina; 8, alanina; 9, glutamina; 10, lisina; 11, arginina; 12, acido  $\gamma$ -aminobutirrico; 13, prolina; 14, valina; 15, leucina; 16, tirosina; 17, fenilalanina.

La Figura 2 mostra un cromatogramma ottenuto con 1 ml di perilinfa dopo ossidazione con  $H_2O_2$  e molibdato di  $NH_4$ . È evidente la comparsa di una macchia (nº 18), dovuta all'acido cisteico, che documenta la presenza nella perilinfa di cistina. Si osserva inoltre un'altra macchia (nº 19), meno intensa, che per la posizione farebbe pensare all'acido omocisteico.

Comparando questi cromatogrammi con quelli ottenuti con 1 ml di sangue e, rispettivamente, con 3 ml di

liquido cerebrospinale, si possono valutare le analogie e le differenze che esistono, nei riguardi degli aminoacidi liberi, tra questi tre liquidi biologici.

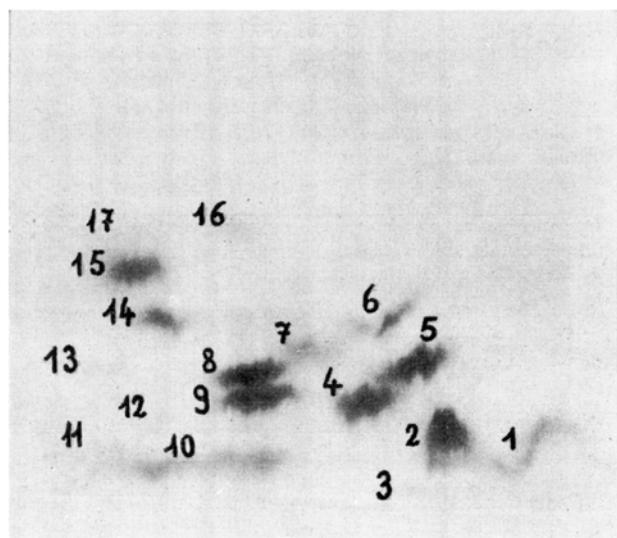


Fig. 1. Cromatogramma bidimensionale ottenuto con 1 ml di perilinfa. Da destra a sinistra: fenolo; dal basso in alto: collidina-lutidina. Le macchie sono numerate come nel testo.

Gli aminoacidi liberi appaiono essere nella perilinfa approssimativamente nella stessa quantità che nel sangue ed in quantità maggiore rispetto al liquido cerebrospinale. Anche per quel che riguarda i rapporti tra i singoli aminoacidi, la perilinfa mostra notevoli somiglianze con il sangue e differenze con il liquido cerebrospinale. Nella perilinfa sono presenti glicina e taurina in notevole quantità, mentre questi due aminoacidi sono scarsamente rappresentati nel liquido cerebrospinale. Inoltre, la prolina e la cistina, chiaramente dimostrabili nel sangue e nella perilinfa, sono quasi del tutto assenti nel liquido cerebrospinale.

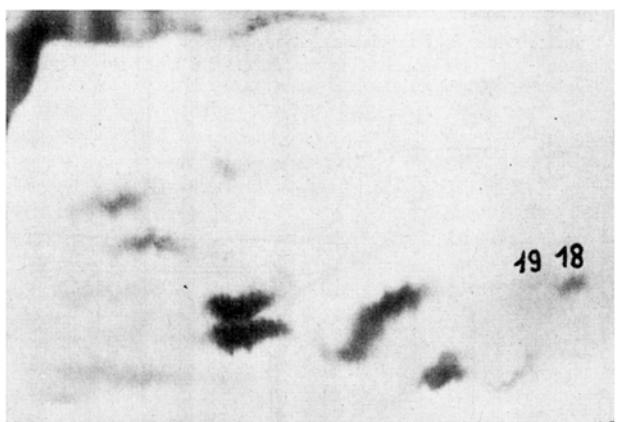


Fig. 2. Cromatogramma bidimensionale ottenuto con 1 ml di perilinfa, ossidata con acqua ossigenata e molibdato di ammonio. Spiegazione nel testo.

Da questa ricerca risulta quindi che gli aminoacidi liberi sono largamente presenti nella perilinfa, e che questo liquido biologico, per il suo contenuto in tali

<sup>1</sup> S. CRIFÒ, in pubblicazione su «Il Valsalva».

<sup>2</sup> R. CONSDEN, A. H. GORDON e A. J. P. MARTIN, Biochem. J. 38, 224 (1944).

<sup>3</sup> C. E. DENT, Biochem. J. 43, 169 (1948).