

Die Wirkung von Bradykinin und Kallidin an der hinteren Extremität zeigt keine signifikanten Differenzen, obgleich in der Literatur an anderen Versuchsmodellen mehrfach über quantitative Unterschiede berichtet wurde<sup>14-16</sup>. Als Ursache dafür möchten wir eine Umwandlung von Kallidin in Bradykinin ansehen. Eine Hydrolyse am N. terminalen Ende des Kallidins durch Abspaltung des Lysinrestes wäre, wie ERDÖS et al.<sup>17</sup> zeigen konnten, auch unter unseren Versuchsbedingungen möglich, und die quantitativ und qualitativ gleiche Wirkung dieser beiden Peptide verständlich. Andere Peptide wie Angiotensin, Vasopressin und Oxytocin führen unter unseren Versuchsbedingungen zu keiner reflektorischen Reaktion am Gesamtkreislauf.

**Summary.** The hindlimb of cat was separated from the body, the sciatic nerve remaining intact. The separated hindlimb was perfused through the femoral artery with tyrode solution. Synthetic bradykinin and kallidin in-

jected into the femoral artery elicit vasoconstriction in the hindlimb, reflex on the systemic blood pressure, and stimulation of respiration. We assumed the cause of this reflex to be general sympathetic excitation through stimulation of chemoreceptor cells in the blood vessels of the hindlimb of the cat.

B. WIEGERSHAUSEN und A. REINCKE

*Institut für Pharmakologie der Universität Rostock (DDR),*

<sup>14</sup> E. STÜRMER und B. BERDE, Arch. exp. Path. Pharmak. 243, 355 (1962).

<sup>15</sup> R. A. BOISSONAS, ST. GUTTMANN, P. A. JAQUENOUD, H. KONZETZ und E. STÜRMER, Exper. 16, 326 (1960).

<sup>16</sup> V. GURIS, B. HEICKE und E. WESTERMANN, Arch. exp. Path. Pharmak. 247, 429 (1964).

<sup>17</sup> E. G. ERDÖS, A. G. RENFREW, E. M. SLOANE und J. R. WOHLER, Ann. N.Y. Acad. Sci. 104, 222 (1963).

## Die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Rattenharn nach Mastzelldegranulierung

Im Harn verschiedener Versuchstiere liegt ebenso wie im Harn des Menschen eine alkalische Phosphatase-Aktivität (AP) vor<sup>1-3</sup>. Unter normalen Bedingungen stammt die AP aus Epithelien der proximalen Tubulusanteile und gelangt bei der Zellmauserung in den Harn. Auf verschiedenen Arten verursachte Schädigungen der Nierentubuli bewirken eine deutliche Erhöhung der AP bei Mensch<sup>1,3-5</sup>, Ratte<sup>6-8</sup>, Kaninchen<sup>6</sup> und Hund<sup>6</sup>. Die AP des Harnes hängt aber nicht ausschliesslich mit renalen Prozessen zusammen; eine erhöhte AP-Ausscheidung findet sich zum Beispiel auch nach Unterbindung des Ductus choledochus bei der Katze<sup>9</sup>. Ferner wurde bei verschiedenen endokrinen Störungen über einen vermehrten AP-Gehalt des Menschenharnes berichtet<sup>10</sup>.

In früheren Untersuchungen konnte eine Zunahme der Aminosäure-Arylamidase-Aktivität (sogenannte 'Leucin-aminopeptidase', LAP) im Rattenharn als Folge anaphylaktoider Reaktionen festgestellt werden. Die Aktivität der LAP stieg auf das Sechsfache des Ausgangswertes an<sup>11,12</sup>. Es erhob sich bei diesem Befund die Frage, ob die vermehrte Enzymausscheidung auf schockbedingten Veränderungen der Nieren oder auf einer Freisetzung von Enzymen aus Bindegewebszellen, insbesondere aus Mastzellen, beruht. Beim Zugrundegehen von Nierenepithelien erfolgt nicht nur eine Freisetzung von LAP, sondern es wird auch die in den gleichen Zellen enthaltene AP freigesetzt. Deshalb wurde das Verhalten der AP des Rattenharnes nach anaphylaktoiden Reaktionen untersucht.

**Material und Methoden.** Männliche Albinoratten von 200 g Körpergewicht erhielten zur Erzielung vergleichbarer Harnmengen täglich 10,0 g Wasser mit der Schlundsonde verabreicht. Die 24 h-Harnportionen wurden in Stoffwechselkäfigen gesammelt. Die Bestimmung der AP erfolgte nach der üblichen Methode:  $5 \cdot 10^{-3} M$  Natrium-*p*-nitrophenylphosphat in 0,05 M Glycinpuffer pH 10,5 wurden in Anwesenheit von 0,0005 M  $MgCl_2$  30 min bei 37°C mit 0,1 ml zentrifugiertem und durch 3 h

gegen Leitungswasser dialysiertem Rattenharn inkubiert. Nach Zusatz von 10,0 ml 0,01 M Natronlauge zur Beendigung der enzymatischen Reaktion wird das gebildete Nitrophenol photometrisch (405 nm) gegen einen Kontrollwert, bei dem der Zusatz des Harnes erst nach Zugabe der Natronlauge erfolgte, bestimmt. Die in 1 l Harn enthaltene Enzymmenge, die in 1 h bei 37°C 1 mMol Nitrophenol freisetzt, wird als 1 mMol-Einheit definiert. Nach Bestimmung der Normalwerte bei 80 Tieren erhielten 30 Tiere je 2,0 mg Compound 48/80/kg Körpergewicht

Alkalische-Phosphatase-Aktivität des Harnes in Bessey-Lowry-Einheiten (mM U)

	pro ml Harn	im 24 h-Harn
Normale Ratten (80 Tiere)	$2,0 \pm 0,4$	$32,7 \pm 15,4$
Ratten nach intraperitonealer Verabreichung von 2,0 mg/kg Compound 48/80 (30 Tiere)	$7,8 \pm 5,0$ $P < 0,0001$	$116,7 \pm 57,3$ $P < 0,0001$

<sup>1</sup> H. BERGMANN und F. TRUSS, Med. Welt. 1964, 1760.

<sup>2</sup> A. PASTERNAK, Scand. J. clin. lab. Invest. 16, 145 (1964).

<sup>3</sup> E. AMADOR, TH. S. ZIMMERMANN und W. E. C. WACKER, J. Am. med. Ass. 185, 769 (1963).

<sup>4</sup> E. AMADOR, TH. S. ZIMMERMANN und W. E. C. WACKER, J. Am. med. Ass. 185, 953 (1963).

<sup>5</sup> E. AMADOR, L. E. DORFMAN und W. E. C. WACKER, Ann. int. Med. 62, 30 (1965).

<sup>6</sup> C. BREEDIS, C. M. FLOYD und J. FURTH, Arch. Path., Chicago 36, 402 (1943).

<sup>7</sup> A. W. ASSCHER und S. G. ANSON, Lancet 1960 i, 1109.

<sup>8</sup> J. H. LUNDETH, Arch. Path., Chicago 70, 591 (1960).

<sup>9</sup> C. A. FLOOR, E. B. GUTMAN und A. B. GUTMAN, Am. J. Physiol. 120, 696 (1937).

<sup>10</sup> G. NAVA und L. SZASZ, Folia endocrinol. 3, 437 (1950).

<sup>11</sup> W. RAAB und E. KAISER, Exper., im Druck.

<sup>12</sup> W. RAAB, Allergie und Asthma, im Druck.

verabreicht. Compound 48/80 ist eine synthetische mastzelldegranulierende Substanz (vgl. <sup>13</sup>); chemisch handelt es sich um ein Kondensationsprodukt aus *p*-Methoxyphenyläthylmethylamin und Formaldehyd.

**Ergebnisse.** Die Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengestellt. 24 h nach der Mastzelldegranulierung tritt eine statistisch signifikante Erhöhung der AP im Harn ein. Die Erhöhung beträgt im Durchschnitt das Vierfache des Ausgangswertes.

Ein anaphylaktoider Schock führt zu einer deutlichen Zunahme der beiden aus den Nierenepithelien stammenden Enzyme AP und LAP. Bei Ausbleiben einer Schockreaktion nach Verabreichung von Compound 48/80 im Zustand der Mastzellerschöpfung (z.B. durch Wiederholung einer Injektion von Compound 48/80 nach 48 h) tritt keine Erhöhung der AP- und LAP-Ausscheidung ein. Ob die im anaphylaktoiden Schock vergleichsweise wesentlich stärkere Zunahme der LAP-Ausscheidung als Beweis für eine zusätzliche extrarenale Herkunft dieses Enzyms gewertet werden darf, kann nicht mit Sicherheit ausgesagt werden. Wie an anderer Stelle noch ausführlicher berichtet werden soll, findet nach Auslösung eines anaphylaktoiden Schocks keine Erhöhung der AP und

LAP im Serum statt. Die vermehrte Ausscheidung dürfte also ausschliesslich durch schockbedingte Nierenveränderungen bedingt sein; neben dem Blutdruckabfall ist vor allem die reflektorische Vasokonstriktion (vgl. <sup>1</sup>) für die Hypoxie und die hierdurch verursachte Schädigung der empfindlichen Tubulusepithelien verantwortlich.

**Summary.** Alkaline phosphatase activity was determined in rat urine under normal conditions (80 animals) and following mast cell depletion (30 animals). A statistically significant increase in urinary APA was found after administration of the mast-cell depleting compound 48/80. This fourfold increase over normal activity is due to renal changes caused by shock.

W. RAAB

Universitätsinstitut für medizinische Chemie,  
Wien (Österreich), 27. September 1965.

<sup>13</sup> W. RAAB, Hautarzt 14, 241 (1963).

### Demonstration of Sarcoplasmic Reticulum of Skeletal Muscle by Hematoxylin

The sarcoplasmic reticulum structure of skeletal muscle was demonstrated by the early histologists, using the technique of gold impregnation. Such an intermyofibrillar network pattern can be demonstrated clearly by staining with hematoxylin.

Skeletal muscle from human biopsies, from rats and from dogs were rapidly frozen on a chuck with 5% Tragant (gum tragacanth) by plunging into an acetone-dry ice mixture. Frozen sections were cut 10  $\mu$  thick in a cryostat at  $-25^{\circ}\text{C}$ , picked up on coverslips, allowed to dry at room temperature, and then stained 5 to 60 min in hematoxylin solution (Caraci's hematoxylin was ordinarily used for 20 min). After being stained, the tissues

were washed briefly in distilled water, dehydrated and mounted in Canada Balsam.

Material in intermyofibrillar regions was clearly stained blue. This blue intermyofibrillar staining was not prevented by prior washing of the section for 24 h at  $4^{\circ}\text{C}$  in normal saline or 30 min at  $37^{\circ}\text{C}$  in saliva or normal saline. The blue-staining of intermyofibrillar network was prevented by prior washing of the section in 100% ethanol for 30 min, and imperfectly prevented by prior washing in acetone and 10% neutral formaline for 24 h at room temperature. The blue intermyofibrillar network was not removed by alcohol or xylene during dehydration. The intermyofibrillar network pattern demonstrated by gold impregnation was prevented imperfectly by prior washing in 100% ethanol for 30 min. Cellular intermyofibrillar components of striated muscle fibre include the mito-

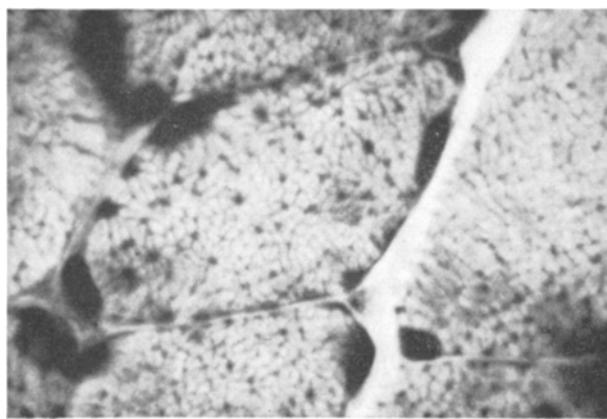


Fig. 1. Intermyofibrillar network of the anterior tibial muscle of rat. Cross section. Fibres with 'Fibrillenstruktur' (centre) and fibre with 'Felderstruktur' (right) are distinct. Hematoxylin, 1000  $\times$ .

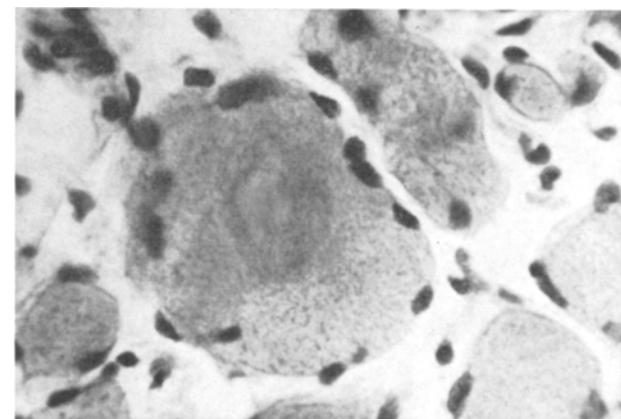


Fig. 2. Target appearance of a denervated muscle fibre (centre). Amyotrophic lateral sclerosis. Central portion of the fibre is lost the regular network appearance. Hematoxylin, 400  $\times$ .