

## Bemerkungen zur Technik der Diaminoxydasebestimmung in Spuren

Von

St. BERG, München

(Eingegangen am 8. November 1955)

Die von SCHLEYER und GREFERATH im Grundsätzlichen bemängelte Methode der Histaminbestimmung am Darmpräparat wurde lange Zeit — und wird auch heute noch — von vielen Seiten für verschiedene Fragestellungen mit Erfolg angewendet. Man hat sich allerdings in der pharmakologischen Praxis schon vor längerer Zeit darüber unterhalten, ob die biologische Methodik nicht ganz allgemein zu viele Fehlermöglichkeiten beinhalte und deshalb besser durch andere, z. B. physikalisch-chemische Methoden zu ersetzen sei. Ohne diese heute kaum noch aktuelle Diskussion fortsetzen zu wollen, will ich gerne zugeben, daß die praktische Arbeit mit der sog. biologischen Methodik Geschmacksache ist; sie kann ohne Änderung des Grundsätzlichen z. B. durch ein volumetrisches Verfahren ersetzt werden, indem man etwa die Ferment-Substrat-Reaktion im Warburg ablaufen läßt und O<sub>2</sub>-Verbrauch oder CO<sub>2</sub>-Produktion mißt; aber auch hier müssen gewisse Kautelen beachtet werden, wenn man nicht Fehlergebnisse erhalten will.

Es ist meines Erachtens ein wesentliches Merkmal dieser von WERLE und Mitarbeitern in verschiedenen Arbeiten indirekt zur Testung der Diaminoxydaseaktivität verwendeten biologischen Methode der Histaminbestimmung, daß das Darmpräparat vor Zuführung der Testlösungen atropinisiert wird. Hierdurch wird schlechthin freilich seine Empfindlichkeit herabgesetzt, seine praktische Brauchbarkeit aber in der Regel verbessert. Es hat keinen Zweck, mit zu empfindlichen Präparaten zu arbeiten, weil dann ein „Messen“ der zu bestimmenden Lösungen oft nicht möglich ist: schon kleinste Dosen bewirken unter Umständen submaximale Kontraktionen, und man wird natürlich bei Prüfung der dosimetrischen Abhängigkeit der Ausschläge von der Histaminkonzentration sehr viel leichter erleben, daß sich „keine lineare, sondern eine logarithmische Beziehung“ ergibt; oft treten auch Spontanreaktionen auf. Überhaupt ist nicht jedes Präparat brauchbar, weil bei manchen Därmen schlecht beherrschbare Empfindlichkeitsschwankungen vorkommen; manchmal tritt nach längerem Hängenlassen im Tyrodebad eine Verbesserung der „Reaktionslage“ ein. Besser als das Colon ascendens hat sich uns auch das oberhalb des Rectums gelegene Stück bewährt. — Man darf natürlich für eine Testserie nur ein Präparat verwenden, welches a) tatsächlich eine gute Korrespondenz zwischen Kontraktionsgröße und Histamindosis zeigt und b) keine Empfindlichkeitsschwankungen aufweist. Dann, und selbstverständlich *nur* dann, kann (und muß aber auch!) der durch die Leerkontrolle bewirkte Ausschlag vom Testausschlag abgezogen werden usw., sonst bekommt man freilich ganz andere Ergebnisse. Der Leerausschlag spielt ja am atropinisierten Darm keine so große Rolle mehr, muß aber immer berücksichtigt werden, weil es sich hier nicht um reine Lösungen, sondern um ungereinigtes Extraktmaterial

handelt, welches darmaktive Substanzen in wechselnder Menge von sich aus schon enthalten kann<sup>1</sup>. Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß SCHLEYER und GREFERATH in verschiedenen Ansätzen mit dem Extrakt größere Ausschläge bekamen als mit der Histaminlösung allein. Die Empfindlichkeit des Präparates kann übrigens durch die Injektion der sog. Leerkontrolle verändert werden, was durch Testung der Histaminstandardlösung vor und nach Injektion des Extraktes zu prüfen ist. Es gibt also eine ganze Reihe von Möglichkeiten, mit der Methode nicht zurechtzukommen. Zum Beispiel erscheint mir auch nicht recht verständlich, warum SCHLEYER und GREFERATH die Reaktionsansätze mit 200  $\gamma$  („0,5 ml einer 1:4  $\times 10^{-4}$ -Lösung“) Histamin beschicken; das ist um eine Zehnerpotenz zu viel, so daß mit dem Auftreten von Eigenhemmungen gerechnet werden muß. Eine nachträgliche Verdünnung vor der Testung ändert hieran dann nichts mehr.

Aus den obigen Überlegungen läßt sich vielleicht auch die etwas widersprüchliche Tatsache erklären, daß die Vorversuche von SCHLEYER und GREFERATH mit Schwangerenvenenblut „die Zuverlässigkeit der Reaktion an sich“ ergaben, während ihnen „weitere Vorversuche“ die Unzuverlässigkeit der Reaktion an sich zu beweisen schienen. Die dosimetrische Abhängigkeit der Darmkontraktionen von der Histaminkonzentration ist ja schließlich genau so die Voraussetzung der Schwangerschaftsreaktion von WERLE und EFFKEMANN, wie diejenige der Anwendung dieses Verfahrens für die Untersuchung von Flecken.

Aus den Resultaten von SCHLEYER und GREFERATH ergibt sich meines Erachtens jedenfalls *nicht* ohne weiteres, daß die Histaminase durch eine Eintrocknung des Blutes von einigen Stunden zerstört oder reduziert wird. Dies wäre auch schon deshalb nicht besonders wahrscheinlich, weil man ja eine ganze Reihe von sonst recht empfindlichen anderen Fermenten mühelos auch in älteren Spuren nachweisen kann. Phosphatase z. B. fand ich, wenn auch vermindert, noch in 3 Jahre alten Spermaflecken. Aber selbst bei Unterstellung der ja ohne weiteres bestehenden Möglichkeit, daß z. B. ein Abortusblutfleck aus irgendwelchen Gründen keine rechte Fermentaktivität aufweist, wäre der grundsätzlichen Möglichkeit zur Anwendung des Verfahrens kein Abbruch getan.

Was nämlich die Verwendung der Methode in der Praxis der Spurenuntersuchung anbelangt, so habe ich ja seinerzeit schon darauf hingewiesen, daß man — wie immer bei biologischen Nachweisen — nur den positiven Reaktionsausfall verwerten darf. Wenn SCHLEYER und Mitarbeiter also — mit einer anderen als der angegebenen — Methodik neben positiven eine Reihe von negativen Reaktionen erzielen, so ist damit wohl kaum die Unzuverlässigkeit der Methode erwiesen.

<sup>1</sup> BERG, St.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 206, 638 (1949).