

Zur Frage der Beeinflussung der zellulären Abwehr durch die Sulfonamide.

Von
F. Seelich.

Forschungsstelle des Sonderlazarettes für Hirn-, Rückenmarks- und Nervenverletzungen in Bad Ischl.

(Eingelangt am 14. Jan. 1946. Vorgelegt in der Sitzung am 24. Jan. 1946.)

Trotz der zahlreichen Untersuchungen und klinischen Erfahrungen über die Sulfonamide (S. A.) sind unsere Kenntnisse über deren Wirkungsmechanismus bis heute noch unbefriedigend. Zwar lassen sich eine Reihe von Beobachtungen im Sinne der von *Fildes* und von *Kuhn*¹ vertretenen Auffassung deuten, wonach die S. A. deshalb wirksam sind, weil sie die p-Aminobenzoesäure aus einem Enzymsystem des bakteriellen Stoffwechsels verdrängen, doch fehlt noch eine ausreichende experimentelle Untermauerung dieser Hypothese. Aber auch dann, wenn tatsächlich eine Enzymverdrängung durch die S. A. bewirkt wird, ist damit noch nicht erwiesen, daß die therapeutischen Erfolge in erster Linie auf diesem Effekt beruhen. *Domagk*, sowie auch andere Forscher stehen auf dem Standpunkt, daß die *Kuhnsche* Hypothese nicht ausreicht, um die Sulfonamidwirkung zu erklären. Worauf aber von *Domagk*² immer hingewiesen wird, das ist die Förderung der normalen Abwehrreaktionen des Organismus, vor allem der phagocytären Prozesse. Auch *Woods*³ konnte bei experimentell erzeugten Pneumonien an Ratten beobachten, daß die Vernichtung der Erreger durch Phagocytose erfolgt und daß Sulphyridin bzw. Eubasin diesen Vorgang begünstigt. *Doczy*⁴ berichtet über eine immer wieder in Erstaunen versetzende Phagocytose durch Leukocyten und Histocyten bei infizierten und mit Prontalbin behandelten Wunden, während bei unbehandelten Wunden die Phagocytose vollständig ausbleibt.

¹ Chemie 55, 1 (1942).

² *Domagk* und *Hegler*, Chemotherapie bakterieller Infektionen. Leipzig: Hirzel, 1944.

³ Brit. J. exp. Pathol. 21, 74 (1940).

⁴ Münchener med. Wschr. 1941, 277.

Wie aus den *Neufelds*chen Versuchen⁵ hervorgeht, greifen die Sulfonamide an den Bakterien und nicht an den phagocytierenden Zellen an; nur im Falle einer Sulfonamidbehandlung der Bakterien und nicht der Leukocyten trat eine verstärkte Phagocytose ein.

Es kann heute nicht mehr daran gezweifelt werden, daß die S. A. direkt an den Bakterien angreifen und, ohne eine ausgesprochene Giftwirkung zu entfalten, diese so verändern, daß sie nunmehr durch normale Abwehrreaktionen des Organismus, vor allem durch Phagocytose vernichtet werden. In nachfolgendem soll gezeigt werden, daß bei Berücksichtigung verschiedener Besonderheiten des Phagocytosevorganges und unter Heranziehung einfacher physikalischer Gesetzmäßigkeiten das Zustandekommen eines derartigen Effektes ohne Schwierigkeit verstanden werden kann.

Die Einzelphasen der Phagocytose lassen sich am besten an sogenannten Makrophagen beobachten. Die Makrophagen bewegen sich ähnlich den Amöben durch Vorstrecken von Pseudopodien in der Richtung phagocytierbarer Objekte, z. B. bestimmter Bakterien. Kommt nun ein derartiger Makrophage in die unmittelbare Nähe der Bakterien, so erfolgt der erste Kontakt gewöhnlich mit einem der Pseudopodien. Auffallend ist nun, daß die Objekte der Phagocytose fast nie von den Pseudopodien der Phagocyten aufgenommen werden, sondern entlang der Außenfläche des Makrophagen nach rückwärts an den abgerundeten, am wenigsten gegliederten Zellteil wandern und erst dort endgültig festgehalten werden. An dieser Stelle folgt nach einer kleinen Weile, als sekundärer Vorgang, eine Einstülpung bzw. ein Umfließen des Fremdkörpers, das zu einer vollständigen Aufnahme in das Zellinnere führt. Je nach der Natur des Fremdkörpers kommt es dann entweder zu einem fermentativen Abbau desselben, oder, falls es sich um unverdauliche Objekte handelt, zu einer Anhäufung der phagocytierten Teilchen.

Auf den Reaktionsmechanismus der chemotaktischen Wanderung des Phagocyten kann an dieser Stelle nicht eingegangen werden; dagegen ist es für das Verständnis der späteren Ausführungen über den Mechanismus der Sulfonamidwirkung notwendig, einige Einzelheiten der Phagocytose selbst zu erörtern. Man kommt der Natur dieses Vorganges dann näher, wenn man sich vor Augen hält, was phagocytiert wird und was nicht. Ein schönes Beispiel bieten uns in dieser Hinsicht die Pneumokokken.

Es gibt Pneumokokkenstämme, die eine Kapsel aus Kohlehydraten (Polysacchariden) bilden, und solche, die dies nicht tun. Die ersteren werden nicht phagocytiert (oder bestenfalls nur dann, wenn der Organismus in der Lage ist, spezifische Antikörper gegen die Kapselsubstanz zu bilden) und sind deshalb wesentlich virulenter, während die kapsellosen

⁵ *Neufeld* und *Bär*, Z. Hyg. Infekt.-Krankh. 123, 116 (1940).

Bakterien auch ohne die Gegenwart von Antikörpern phagocytiert werden. Auch bei Streptokokken und anlässlich von Versuchen mit dem *Bacillus Friedländer* konnte die gleiche Erscheinung beobachtet werden: Kapselbildung verhindert die Phagocytose, und zwar nicht infolge einer Giftwirkung von Kapselsubstanzen auf die Phagocyten,⁶ denn bei gleichzeitigem Vorhandensein verkapselter und kapselloser Bakterien werden die letzteren genau so phagocytiert, wie bei Abwesenheit der virulenten Kapselträger. Unter dem Mikroskop kann man nun feststellen, daß die kapseltragenden Bakterien an der Oberfläche der Makrophagen entlanggleiten und sich ohne Hemmung wieder entfernen, während die kapsellosen, wenn einmal der Kontakt mit den Phagocyten erfolgt ist, sich nicht wieder entfernen können. In der Oberfläche selbst sind sie allerdings frei beweglich, es erfolgt kein „Ankleben“. Physikalisch ausgedrückt besagt dies, daß in einem Fall die Bakterien adsorbiert werden, im anderen Fall aber nicht, und daß das Wirksamwerden von Adsorptionskräften die Voraussetzung für das Eintreten der Phagocytose ist.

Die Verschiedenheit in der physikalischen Natur der kapseltragenden und der kapsellosen Bakterien tritt auch in anderer Weise in Erscheinung: auf künstlichen Nährböden wachsen die Kapselträger diffus, während die Kapsellosen in örtlich begrenzten Kolonien, in Gruppen bzw. in Agglomeraten wachsen. Das Wachstum im agglomerierten Zustand ist aber die Folge von Adsorptionskräften zwischen den einzelnen Bakterien. Daß das Ausbleiben von Adsorptionskräften tatsächlich nur eine Folge der Kapselbildung ist, geht daraus hervor, daß man die Kapseln der Pneumokokken unter geeigneten Versuchsbedingungen enzymatisch abbauen kann, ohne die Bakterien selbst zu schädigen, und daß die derartig behandelten Bakterien sich dann so verhalten, wie diejenigen, die nie eine Kapsel gebildet hatten: sie werden nunmehr genau so wie die letzteren phagocytiert.

Warum verhindert nun die Kapsel das Auftreten der erwähnten Adsorptionserscheinungen? Zu dieser Frage einige kurze Betrachtungen aus der physikalischen Chemie der Grenzflächenreaktionen.

Befinden sich irgendwelche kleine Teilchen in einer Flüssigkeit suspendiert, so werden sie das Bestreben haben, das Ausmaß ihrer Grenzfläche gegen die Suspensionsflüssigkeit zu vermindern, um auf diese Weise die freie Energie des Systems zu erniedrigen (Erniedrigung der freien Grenzflächenenergie). Sie werden also die Tendenz haben, sich aneinander oder an vorhandenen anderen Grenzflächen anzulagern. Dieses Bestreben wird um so stärker sein, je größer die durch den Kontakt der betreffenden Grenzflächen verursachte Abnahme der freien Grenzflächenenergie ist. Andererseits kann in den Fällen, wo die Grenzflächenenergie von vornherein sehr niedrig ist, eine wesentliche Energieabnahme durch Agglutination

⁶ *Levaditi* und Mitarbeiter, Bull. Acad. Méd. Paris 121, 730 (1939).

oder Adsorption nicht mehr erfolgen und es genügt, bei Fehlen spezifischer Bindungskräfte, jeder geringste Anstoß, um zwei Teilchen, die sich einander bis zur Berührung genähert haben, wieder zu trennen. Die Grenzflächenenergie muß aber um so niedriger sein, je vollständiger die Absättigung der Kraftfelder an der Teilchenoberfläche durch die Moleküle der angrenzenden Phase ist, d. h. je stärker die Oberfläche der Teilchen solvatisiert ist. Bei wäßrigen Suspensionen erhöht sich demnach die Stabilität mit steigendem Hydratationsgrad. Jede Dehydratation der betreffenden Grenzflächen wird sich andererseits in einer erhöhten Tendenz zur Agglutination oder Adsorption bemerkbar machen. Auf die Bedeutung dieses Prinzips für eine ganze Reihe biologischer Vorgänge, insbesondere für das ganze Gebiet der Immunreaktionen, einschließlich der Komplementbindung und der anaphylaktischen Erscheinungen, wurde von uns bereits vor mehr als 10 Jahren hingewiesen.⁷

Wie bereits erwähnt, bestehen die Kapseln der Pneumokokken aus Kohlehydraten, die stark hydratisiert sind. Dies besagt aber, daß die Grenzflächenenergie an deren Oberfläche gegen wäßrige Lösungen sehr niedrig ist, sicher viel niedriger, wie bei den unverkapselten Bakterienoberflächen. Die Ausbildung stark hydratisierter Kohlehydrathüllen kann also allein dadurch, weil damit eine Erniedrigung der Grenzflächenenergie verbunden ist, Adsorptions- und Agglutinationsvorgänge verhindern, die bei Fehlen der Kapseln spontan eintreten. Umgekehrt kann die mit dem Verlust der Kapseln verbundene Dehydratation eine Adsorption der Bakterien an der Oberfläche der Phagozyten zur Folge haben.

Auch das Verhalten der körpereigenen Zellen wird durch das erwähnte physikalische Prinzip geregelt. So gleiten z. B. normale rote Blutkörperchen des eigenen Organismus an der Oberfläche des Makrophagen entlang, ohne im geringsten daran hängen zu bleiben; hier sind es die stark hydratisierten Eiweißkörper, die sie vor der Adsorption schützen. Sobald aber die Proteine der Erythrocytenmembran denaturiert sind — sei es im Verlauf natürlicher Alterungsvorgänge oder durch die Hitze der Mikroskopierlampe —, so schießen die so veränderten roten Blutkörperchen wie magnetisch angezogen an die Oberfläche der Makrophagen und werden „aufgefressen“. Denaturierung beinhaltet aber eine Dehydratisierung der Eiweißkörper.

Einen gleichen Effekt bewirkt die Gerbung von Zelloberflächen durch Tannin oder andere dehydratisierende Gerbstoffe; ebenso auch die Bindung von spezifischen Antikörpern an stark hydratisierte Oberflächen körperfremder Zellen. (Auch für die Komplementbindung und deren weitere Folge, die lytische Komplementwirkung, ist eine physikalische

⁷ *F. Seelich u. M. Coppo, Z. f. Immun. 85, 433—436 (1935); F. Seelich, Biochem. Z. 286, 396—407 (1936), 287, 1—17 (1936).*

Veränderung der Zelloberflächen im Sinne einer Dehydratation der wesentliche Vorgang, was sich dadurch nachweisen läßt, daß es ohne weiteres möglich ist, bei den serologischen Hämolysereaktionen den spezifischen Antikörper durch Gerbmittel zu ersetzen.) Was das erwähnte Wandern der adsorbierten Fremdkörper nach dem „Hinterende“ der Makrophagen anbelangt, so ist auch dies auf der Basis der erwähnten physikalischen Gesetzmäßigkeiten verständlich. Die Oberfläche der Makrophagen stellt in energetischer Hinsicht keine Äquipotentialfläche dar: am niedrigsten ist die Grenzflächenenergie an den Pseudopodien und am höchsten am „Hinterende“; die adsorbierten Teilchen wandern also nach dem Ort der maximalen Energiesenkung, so wie es die Gesetze der Thermodynamik verlangen.

Überträgt man die erwähnten Erfahrungen und physikalischen Gesetzmäßigkeiten auf das Problem der Sulfonamidwirkung, so reicht zur Erklärung der Förderung der zellulären Abwehr die Annahme aus, daß die Sulfonamide die Oberfläche der Bakterien im Sinne einer Dehydratation, d. h. im Sinne einer *Erhöhung der Grenzflächenenergie* verändern, so daß die erste Reaktionsphase der Phagocytose, die Adsorption der Bakterien an der Phagocytenoberfläche, nunmehr eintreten kann und damit die Voraussetzung für den weiteren Ablauf der Reaktion erfüllt ist. Eine solche Erhöhung der Grenzflächenenergie ist dann möglich, wenn zwischen den Molekülen der Bakterienoberfläche und den Sulfonamiden spezifische Bindungskräfte bestehen, die durch eine Reaktion nach Art einer chemischen Verbindung bzw. eines Gerb- oder Beizvorganges abgesättigt werden können. Daß die S. A. mit der Oberfläche der Bakterien in Reaktion treten können, ersieht man aus dem Verhalten des Prontosil solubile, das die Kapseln der Pneumokokken intensiv rot färbt.⁸ Es ist durchaus wahrscheinlich, daß die Sulfonamide ganz allgemein spezifische Affinitäten zu den Bauelementen der Bakterienoberfläche besitzen und daß mit der Absättigung dieser Affinitäten die Hydratation dieser Oberflächen verringert wird. Falls sich, was zu erwarten ist, diese Dehydratation mittels entsprechender Versuche direkt nachweisen läßt, würde damit das Rätsel der Phagocytoseförderung durch die Sulfonamide als gelöst anzusehen sein. Zu der hier vertretenen Auffassung steht auch die von *Fildes* und von *Kuhn* vertretene Hypothese insofern nicht im Widerspruch, als ja auch der Reaktionsort der p-Aminobenzoesäure die Bakterienoberfläche sein kann und eine Konkurrenz in der Bindung dieses Stoffes und der Sulfonamide ohne weiteres denkbar ist. Wir möchten aber darauf hinweisen, daß die beobachtete „bakteriostatische“ Wirkung der Sulfonamide, bzw. die Wachstumshemmung *in vitro*, nicht notwendigerweise auf einer Beeinträchtigung des Stoffwechsels der Bakterien

⁸ *Dosch*, Zbl. Pathol. 77, 334 (1941); Wiener klin. Wschr. 1941, 926.

beruhen muß. Verschiedene Beobachtungen deuten darauf hin, daß die S. A., ähnlich dem Penicillin, die Zellteilung verhindern.

Hierzu ist zu sagen, daß ganz allgemein Oberflächenkräfte bei der Zellteilung eine maßgebende Rolle spielen. Zwangsläufig wird mit jeder Erhöhung der Grenzflächenenergie der Vorgang der Zellteilung, der ja mit einer Vergrößerung der Gesamtoberfläche verbunden ist, erschwert. Es ist ohne weiteres denkbar, daß bereits eine relativ geringfügige Zunahme der Grenzflächenspannung genügt, um die Zellteilung vollständig zu verhindern.

Damit wäre auch die bakteriostatische Wirkung der Sulfonamide, ebenso wie die phagocytosefördernde, in erster Linie die Folge einer in chemischer Hinsicht wahrscheinlich nicht sehr tiefgreifenden Oberflächenreaktion, bzw. der dadurch bedingten physikalischen Zustandsänderung der Bakterienoberfläche.