

## Untersuchungen über Entzündung.

### III. Beiträge zur Kenntnis der chemotaktischen Wirkung von Entzündungsexsudaten.

Von

Otto Bier und M. Rocha e Silva, São Paulo (Brasilien).

(Eingegangen am 22. Juli 1938.)

Aus der grundlegenden Arbeit von *Massart* und *Bordet* (1891) geht hervor, daß die leukocytäre Wanderung, welche sich in und um das Gebiet der örtlichen Gewebschädigungen vollzieht, gleichzeitig von den beiden Faktoren, Hyperämie und positive Chemotaxis hervorgerufen wird<sup>1</sup>.

Neuerdings behauptet *Valy Menkin*<sup>2</sup>, daß sich aus entzündlichen Exsudaten eine krystalline, stickstoffhaltige Substanz isolieren läßt (Leukotaxin), mit deren Hilfe sich die örtlichen Veränderungen des Entzündungsvorganges, nämlich die Steigerung der Durchlässigkeit der Capillaren und die darauffolgende Wanderung von Leukocyten durch die Capillarwand willkürlich hervorrufen lassen.

In der vorausgehenden Arbeit<sup>3</sup> haben wir gezeigt, daß die Erhöhung der Capillarpermeabilität durch eine Substanz hervorgerufen wird, welche von geschädigten Gewebszellen in Freiheit gesetzt wird und nicht von Histamin unterschieden werden kann. Gegenstand der vorliegenden Mitteilung bildet die Klärung der beiden Fragen:

1. Ob Histamin an sich chemotaktisch wirksam ist und
2. welche Beziehungen möglicherweise zwischen dem chemotaktischen Faktor der Exsudate und dem obenerwähnten Leukotaxin bestehen.

#### A. Methodik.

Das durch intrapleurale Terpineinspritzung im Hund gewonnene Exsudat (Exs. Nr. 2), dessen Herstellung in unserer vorausgehenden Arbeit beschrieben wurde<sup>4</sup>, fand auch bei den vorliegenden Untersuchungen Verwendung. Aus diesem Exsudat wurde ein Extrakt bereitet, welcher durch alkalische Hydrolyse von Histamin befreit wurde<sup>5</sup>.

Histamin wurde in einer Verdünnung von 1:25000 in Kochsalzlösung angewandt. Zur Prüfung der chemotaktischen Wirkung bedienten wir uns in der Hauptsache derselben Methode, die von *Massart* und *Bordet* und auch von *Menkin*<sup>2</sup> verwendet worden war. Verschiedenfarbige Glascapillarröhren, die an einem Ende zugeschmolzen und mit dem verschiedenen zu untersuchenden Substanzen gefüllt waren, wurden in die Bauchhöhle von Kaninchen, denen 8 Stunden vorher eine Stärke- und Aleuronatmischung injiziert worden war, eingeführt. Am darauf folgenden Tag wurden die Tiere getötet und die Capillarröhren unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung auf das Vorhandensein von Leukocyten geprüft.

#### B. Befunde.

*1. Histamin ruft keine positiven chemotaktischen Wirkungen hervor.*

Eine erste Reihe von Untersuchungen wurde mit einer Histaminlösung 1:25000 und mit dem zellfreien Exsudat 1:3 vorgenommen.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Die Zahl der + -Zeichen liefert ein Maß für die Menge der im Innern der Capillarröhren gefundenen Leukocyten: + + + = vollständige Verstopfung der Capillarröhren durch einen Leukocyten-, „Pfropfen“; + + = Klumpen von Leukocyten an der Öffnung des Capillarröhrchens, aber keine vollständige Verstopfung; + = große Anzahl von Leukocyten innerhalb des Röhrchens an der Wand, doch nicht im Lumen; — = geringe Anzahl von Leukocyten.

Tabelle 1.

Protokoll des Versuches mit Kaninchen Nr. 1331. 14. 2. 38. Um 8 Uhr 30 Min. morgens 0,25 g Aleuronat + 0,25 g Stärke in 2 ccm Kochsalzlösung, in die Bauchhöhle eingespritzt. Um 4 Uhr nachmittags wurden unter Äthernarkose die Capillarröhren in die Bauchhöhle eingeführt. Am darauffolgenden Morgen um 9 Uhr getötet.

Zahl der Röhrchen	Farbe der Röhrchen	Inhalt der Röhrchen	Durchschnittsmenge der Leukocyten
6	Blau	Histamin 1:25000	±
6	Gelb	Zellfreies Exsudat 1:3	+ + +
6	Farblos	Kochsalzlösung	±

± = bald —, bald +.

Es ist ersichtlich, daß Histamin in Verdünnung 1:25000 nicht chemotaktisch wirkt, während in den mit dem entzündlichen Exsudat gefüllten Röhrchen die Anziehung von Leukocyten sehr ausgesprochen war.

## 2. Die permeabilitätsverhörenden Wirkungen und die chemotaktischen Faktoren der Entzündungsexsudate sind nicht auf eine einzige Substanz zurückzuführen.

In der vorhergehenden Arbeit wiesen wir nach, daß die durch alkalische Hydrolyse histaminfrei gemachten Entzündungsexsudate die Fähigkeit einbüßen, innerhalb des behandelten Hautbereiches die örtliche Speicherung von intravenös injiziertem Trypanblau hervorzurufen.

Nunmehr haben wir die Frage geprüft, ob das so behandelte Exsudat, das also frei von Histamin ist, noch über die Fähigkeit verfügt, irgend einen chemotaktischen Einfluß auf die Leukocyten auszuüben.

Tabelle 2.

Protokoll des Versuches mit Kaninchen Nr. 1333, vom 17. 2. 38. Um 11 Uhr vormittags wurden 0,15 g Aleuronat + 0,15 g Stärke, aufgeschwemmt in 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung, in die Bauchhöhle eingespritzt. Um 6 Uhr nachmittags wurden unter Äthernarkose die Capillaren in die Bauchhöhle eingeführt. Um 10 Uhr des folgenden Vormittags wurde das Tier getötet.

Zahl der Röhrchen	Farbe der Röhrchen	Inhalt der Röhrchen	Durchschnittsmenge der Leukocyten
6	Blau	Nicht behandeltes Entzündungsexsudat 1:3	+ + +
6	Gelb	Kochsalzlösung	±
6	Farblos	Histaminfreies Entzündungsexsudat 1:3	+ + bis + + +

Aus diesen Beobachtungen läßt sich entnehmen, daß Entzündungs-exsudat, auch wenn es kein Histamin mehr enthält und die Fähigkeit der Erhöhung der Capillarpermeabilität eingebüßt hat, immer noch eine positive chemotaktische Wirkung auf Leukocyten ausübt.

#### Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

Die Entzündungsexsudate enthalten zwei Faktoren, von denen der eine für die Erhöhung der Permeabilität verantwortlich zu machen ist, während dem anderen die positive chemotaktische Wirkung auf Leuko-cyten zuzuschreiben ist.

*Menkin* vermochte diese beiden Faktoren nicht zu trennen und schreibt daher die beiden Wirkungen einer einzigen krystallinen Substanz zu, die zur Gruppe der Polypeptide gehört. Das aus den Exsudaten isolierte krystalline Material wurde von *Menkin* Leukotaxin genannt.

Die in den früheren Arbeiten angeführten Beobachtungen lassen die Annahme als gerechtfertigt erscheinen, daß Histamin als der permeabilitätssteigernde Faktor anzusehen ist.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen mit aller Deutlichkeit erkennen, daß der chemotaktische Faktor mit dem in den früheren Arbeiten näher untersuchten permeabilitätssteigernden Faktor nicht das Mindeste zu tun hat.

1. Histamin in Verdünnung 1: 25000 übt keinerlei chemotaktischen Einfluß auf Leukocyten aus, während es eine beträchtliche Erhöhung der Capillarpermeabilität herbeiführt.

2. Obwohl die Hydrolyse der Entzündungsexsudate mittels NaOH zur Ausschaltung des Histamins führt, bleibt diesen trotz der vorausgehenden alkalischen Hydrolyse die Fähigkeit, einen deutlichen chemotaktischen Einfluß auf die Leukocyten auszuüben, erhalten.

#### Schrifttum.

<sup>1</sup> *Massart, J. et J. Bordet:* Ann. Inst. Pasteur **5**, 417 (1891). — <sup>2</sup> *Menkin, V.:* J. of exper. Med. **67**, 145 (1938). — <sup>3</sup> *Bier, O. u. M. Rocha e Silva:* Virchows Arch. **303**, 325 (1939). — <sup>4</sup> *Rocha e Silva, M. u. O. Bier:* Virchows Arch. **303**, 337 (1939).