

Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem, jetzt Tübingen.

**Über die verschiedene Beeinflussung
des Epithel- und Bindegewebewachstums in vitro
durch chemische und physikalisch-chemische Faktoren.**

Von
ELSE KNAKE.

(Eingegangen am 16. Oktober 1950.)

Nach KUHN, JERSCHEL, MOEWUS, MOELLER und LETTRÉ¹ hemmt Parasorbinsäure in geringer Konzentration das Wachstum von Fibroblasten, während Carcinomzellen sogar auf hohe Dosen nicht reagieren. Schon vorher prüften MEDAWAR² und HEATON³ einen solchen Wachstumshemmstoff, den sie ebenfalls als ungesättigtes Lacton, C₆H₈O₂ ansprachen. MEDAWAR und seine Mitarbeiter bezeichneten ihn als „differential growth inhibitor“, weil er freie Proliferation von Epithelzellen zuläßt in Konzentrationen, in denen er das Wachstum von Fibroblasten und anderen Mesenchymzellen unterdrückt.

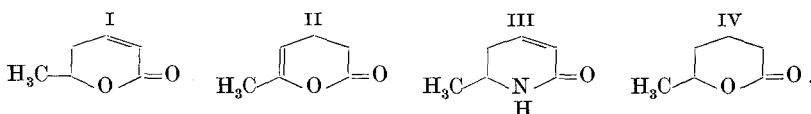
Zusammen mit M. KATZENSTEIN⁴ und J. TRAUBE⁵ haben wir früher eine ähnliche unterschiedliche Wachstumsbeeinflussung in vitro als Eigenschaft von 3 verschiedenen physikalisch-chemischen Faktoren erkannt und als gewebsspezifische Wirkung auf das Epithel- und Bindegewebewachstum beschrieben. Diese Wirkung haftet nämlich an oberflächenaktiven Stoffen⁴, ferner an den quellend wirkenden Salzen der HOFMEISTERSchen Reihe⁶, und schließlich hat auch stärkere Hypotonie des Züchtungsmediums den gleichen Effekt⁷. Bei allen 3 Veränderungen geht die Stärke der physikalisch-chemischen und der biologischen Wirkung parallel: Für die Wirkung der oberflächenaktiven Stoffe gilt angenähert die TRAUBESche Regel, für die quellend wirkenden Salze die HOFMEISTERSche Reihe, und schließlich besteht eine einfache Beziehung zwischen Hypotonie und ihrer biologischen Folge in der Gewebekultur. — Es kommt hinzu, daß die gegensinnigen physikalisch-chemischen Veränderungen das Wachstum in vitro in umgekehrter Reihenfolge beeinflussen; entquellend wirkende Salze und Hypertonie schädigen das Epithelwachstum mehr als das Bindegewebewachstum. Auch hierbei besteht eine direkte Beziehung zwischen physikalisch-chemischer und biologischer Wirkung, gemessen an der kleinsten Dosis, die notwendig ist, um gleich ausgeprägte Gewebseffekte zu erzielen⁸.

Wir fanden es auffällig, daß das von KUHN und Mitarbeitern sowie von MEDAWAR und HEATON untersuchte „Blastokolin“ Parasorbinsäure dieselbe unterschiedliche Hemmung auf das Epithel- und Bindegewebs-

Tabelle 1.

Substanz	Wirksame Endkonzentration im Medium Mol	Erniedrigung der Oberflächen- spannung des Wassers durch eine Lösung	
		0,1 Mol %	0,001 Mol %
Äthanol	0,05	4	
Milchsäure	0,05	3	
Propanol	0,015	8	
Buttersäure	0,01	22	
Butanol	0,006	24	
Nicotin	0,005	22	
Lactam	0,003	7	
Parasorbinsäure	0,0001	9	
n-Octanol	0,00014		23

wachstum ausübt, und dachten daran, daß sich die Parasorbinsäure möglicherweise in eine unserer 3 Gruppen einordnet. In Betracht kommen die oberflächenaktiven Substanzen. Wir untersuchten deshalb bei einigen Blastokolinen Oberflächenaktivität* und Wirkung in der Gewebekultur nebeneinander. Die von uns untersuchten Substanzen** sind die natürliche Parasorbinsäure, d. h. das Hexen-2-olid-5,1 (I), ferner das Hexen-4-olid-5,1 (II), außerdem das Lactam der Aminohexensäure (III) und das Caprolacton (IV). — Die letzten 3 Lactone waren von KUHN und LETTRÉ an Gewebekulturen als wirkungslos bezeichnet worden.



Tatsächlich ist Parasorbinsäure oberflächenaktiv. Wir fanden aber keine direkte Beziehung zwischen dem Grade ihrer Oberflächenaktivität und ihrer Wirkung auf Gewebekulturen. Tabelle 1 zeigt, daß Parasorbinsäure schon in solchen Mengen auf Zellen optimal wirkt, in denen andere Stoffe von gleich schwacher Oberflächenaktivität noch keinen Einfluß haben.

Im Gegensatz zu den Befunden von KUHN und LETTRÉ war in unseren gewebezüchterischen Experimenten auch das Lactam aktiv, allerdings erst in bedeutend höherer Konzentration als die Parasorbinsäure (Tabelle 1).

Auch das Hexen-4-olid-5,1 können wir an unserem Testobjekt nicht als ganz unwirksam bezeichnen. Aber die notwendige Dosis war in unseren Versuchen sehr hoch und dabei wechselnd, was mit den

* Die Oberflächenaktivität der in Tabelle 1 aufgeführten Substanzen wurde von Herrn Dipl.-Ing. HEINZ KAUL gemessen.

** Die Substanzen wurden von Herrn Dr. E. BIENECK hergestellt.

Ausfällungen zusammenhängen dürfte, die im Medium im Moment des Zusatzes eintreten. Die Substanz ist infolgedessen für gewebezüchterische Untersuchungen ungeeignet. — Beide Stoffe, das Lactam und das Hexen-4-olid-5,1, sind schwach oberflächenaktiv. Ebenso wie bei der Parasorbinsäure fehlt eine direkte Beziehung zwischen physikalisch-chemischer und biologischer Wirkung.

Das von KUHN und LETTRÉ als wirkungslos bezeichnete Caprolacton zeigte auch in unseren Versuchen keine gewebsspezifische Beeinflussung, solange wir es im isotonischen Medium untersuchten. Schließlich stellten wir fest, daß es nur in Verbindung mit Hypotonie das Wachstum gewebspezifisch hemmt. Auch im hypotonischen Medium erfordert es eine sehr hohe und dabei wechselnde Konzentration, was wiederum zu den starken Ausfällungen, die es im Medium hervorruft, in Beziehung stehen dürfte.

Im Zusammenhang mit dieser Feststellung haben wir uns noch einmal mit unseren früheren Befunden beschäftigt. Einige Stoffe wurden im isotonischen, andere im hypotonischen Medium untersucht (wobei in den Kontrollkulturen die entsprechenden osmotischen Verhältnisse geschaffen wurden). Die Versuche lassen sich in dieser Anordnung reproduzieren. Erst jetzt aber haben wir klar erkannt, daß die Hypotonie für eine Reihe von oberflächenaktiven Stoffen eine unumgängliche Bedingung für ihre differenzierende Wirkung auf das Epithel- und Bindegewebswachstum ist. Es sind also bei den oberflächenaktiven Stoffen 2 Gruppen zu unterscheiden. Die eine übt ihre gewebsspezifische Wachstumsbeeinflussung *in vitro* auch im isotonischen Medium aus, die andere wirkt nur in Verbindung mit ziemlich starker Hypotonie des Mediums.

Experimenteller Teil.

Versuchsanordnung. Wir arbeiteten mit unserem früheren Testobjekt, dem embryonalen Hühnerpankreas, an Deckglaskulturen bei einer Beobachtungsdauer von 3 Tagen*.

Die Versuchsstoffe wurden dem Medium vor der Gerinnung zugefügt. Die optimalen Dosen waren folgende: Parasorbinsäure $10 \gamma/cm^3$, Lactam $350 \gamma/cm^3$. Bei den stark fällend wirkenden Stoffen Hexen-4-olid-5,1 und dem Caprolacton wechselten die Dosen zwischen 350 und $1000 \gamma/cm^3$.

Bei den Kontrollkulturen wurde dem Medium die entsprechende Menge Ringerlösung bzw. Aqua dest. zugefügt.

Befunde. Parasorbinsäure und Lactam unterdrückten in einem hohen Prozentsatz das Bindegewebe total, und die Wachstumszone bestand

* Experimentelle Feststellungen darüber, inwieweit Befunde an dem gemischgewebigen Pankreas und an Reinkulturen von Epithel und Bindegewebe übereinstimmen, siehe bei KNAKE^{8, 9}.

554 E. KNAKE: Beeinflussung des Epithel- und Bindegewebswachstums in vitro.

praktisch aus reinem Epithel. Bei dem Hexen-4-olid-5,1 und dem Caprolacton wurde das Bindegewebe in der Wachstumszone nur teilweise zurückgedrängt und durch Epithel ersetzt.

Zusammenfassung.

Parasorbinsäure und das Lactam der Aminohexensäure und in schwächerem Maße Hexen-4-olid-5,1 und Caprolacton (Dihydroparasorbinsäure) hemmen das Fibroblastenwachstum in vitro ohne gleichzeitige Hemmung des Epithelwachstums. Alle diese Stoffe sind oberflächenaktiv. Es besteht aber keine direkte Beziehung zwischen biologischer und physikalisch-chemischer Wirkung. Man muß deshalb den Wachstumseffekt dieser ungesättigten Lactone als eine für sie spezifische Eigenschaft ansehen.

Eins dieser Lactone, das Caprolacton, hemmt das Bindegewebswachstum nur im hypotonischen Medium. Auch eine Reihe der von uns früher untersuchten oberflächenaktiven Stoffe übt nur im hypotonischen Medium die gewebsspezifische Wachstumshemmung aus.

Literatur.

- ¹ KUHN, R., D. JERSCHEL, F. MOEWUS, E. F. MOELLER u. H. LETTRÉ: Naturwiss. **1943**, 468. — ² MEDAWAR, P. B.: Quart. J. exper. Physiol. **27**, 147 (1937). — MEDAWAR, P. B., G. M. ROBINSON and R. ROBINSON: Nature (Lond.) **151**, 195 (1943). — ³ HEATON, T. B.: J. of Path. **29**, 293 (1926); **32**, 565 (1929). — ⁴ KATZENSTEIN, M., u. E. KNAKE: Z. Krebsforschg **33**, 378 (1931). — ⁵ TRAUBE, J., u. E. KNAKE: Z. Krebsforschg **42**, 324 (1935). — ⁶ KNAKE, E.: Arch. exper. Zellforschg **14**, 616 (1933). — ⁷ KNAKE, E.: Arch. exper. Zellforschg **14**, 611 (1933). — ⁸ KNAKE, E.: Virchows Arch. **306**, 88 (1940). — ⁹ KNAKE, E.: Dtsch. Z. Chir. **242** 655 (1934).

Prof. Dr. ELSE KNAKE, Berlin-Dahlem, Garystr. 9.