

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Hamburg  
(Direktor: Prof. Dr. C. KRAUSE).

## Über den Ablauf der serösen Entzündung\*.

Von

JÜRGEN MEYER-ARENDT.

Mit 13 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. September 1952.)

Die seröse Entzündung kann heute, nach dem Vorgang von RÖSSLÉ, sicher als *eine* mögliche Form einer Entzündung gelten. Sie ist gekennzeichnet durch das Auftreten eines charakteristischen entzündlichen Exsudates, das von groben Fibrinbeimischungen und leuko- oder lymphocytären Zellen im wesentlichen frei ist. Das Wesen des Begriffes „Entzündung“ liegt demnach nicht in der Gegenwart von Entzündungszellen oder Kreislaufstörungen begründet; die weiteren Ausführungen in der vorliegenden Arbeit werden zeigen, daß Kreislaufstörungen zwar meist vorhanden, aber doch kein Faktor sind, ohne den die Entzündung nicht sein *könnte*; die Diagnose „seröse Entzündung“ ist vielmehr in der Hauptsache an den Nachweis eines eiweißreichen, flüssigen, teilweise aus dem Blut stammenden und fermentativ höchst wirksamen Exsudates geknüpft, wobei dieses Exsudat nicht unbedingt ein freies Exsudat sein muß, sondern auch zur Imbibition oder Verquellung geführt haben kann. Dieses Exsudat löst, nach RÖSSLÉ, Zellverleimungen und schädigt Capillarwände, Zellen und Stützsubstanzen und wirkt damit desmolytisch und histolytisch. Ein Hauptmerkmal für die Anerkennung der serösen Entzündung liegt also darin, die Spätwirkungen am Gewebe aufzufinden, die das entzündliche Ödem im Gegensatz zum chronischen mechanischen Ödem verursacht. In den ersten Phasen der serösen Entzündung ist dieses Kriterium mit morphologischen Mitteln allerdings noch nicht ohne weiteres zu erfassen.

An dieser Stelle berühren sich die Befunde von RÖSSLÉ aufs engste mit den Ergebnissen von MENKIN. MENKIN hat in der Exsudatflüssigkeit der reinen serösen und der eitrig-serösen Entzündung Wirkstoffe aufgefunden, die den genannten Vorgängen der Desmolyse und Histolyse wohl gut beigeordnet werden könnten. Zwar hatten früher schon andere Autoren die „H-Körper“, Histamin, Allylformiat und osmotische, onkotische und  $p_H$ -Veränderungen für die Phänomene der Entzündung verantwortlich gemacht, aber erst MENKIN gelang es, mit den Methoden

\* Die Arbeit hat der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg als Habilitationsschrift vorgelegen.

der physiologischen Chemie eine ganze Reihe verschiedenartiger Wirkstoffe zu isolieren und in hochkonzentrierter Form, sogar rein und kristallisiert, darzustellen. Im einzelnen handelt es sich nach MENKIN um folgende Wirkstoffe:

1. Leukotaxin, ein kristallisierbares Polypeptid, das eine Steigerung der Capillarpermeabilität und die Leukocyteniapedese bei der Entzündung bewirkt.

2. Der Leucocytosis promoting factor, ein Eiweiß vom Typ der Pseudoglobuline, führt zu einer Vermehrung unreifer Leukocyten im strömenden Blut und zur Hyperplasie von Granulocyten und Megakaryocyten im Knochenmark.

3. Necrosin, ein Eiweiß mit den Fällungseigenschaften der Euglobuline, das proteolytisch wirkt und, im Tierversuch parenteral gegeben, hämorrhagische Infarzierungen verursacht.

4. Pyrexin, ein Polypeptid (Glykopeptid), das das Fieber bei der Entzündung bedingt, und schließlich

5. der Leucopenic factor, wiederum ein Polypeptid, und das Leukopenin, die den Abbau der im Blut kreisenden Leukocyten in Lunge, Leber und Milz fördern.

Der Nachweis aller dieser Wirkstoffe geschieht in der Regel so, daß die eingengten und hochkonzentrierten Proben 2. Versuchstieren einverleibt werden, bei denen sie die beschriebenen und charakterisierenden Wirkungen hervorrufen. Bei der unmittelbaren mikroskopischen Betrachtung des morphologischen Substrates der serösen Entzündung ist allerdings von der Vielfalt dieser Wirkstoffe nichts zu sehen. Sie können bisher nur, wie RÖSSLE zeigte, aus ihren Wirkungen erschlossen werden. Es mußte aber möglich sein, *mit Hilfe neuerer Untersuchungsmethoden* zu diesem Fragenkomplex Stellung zu nehmen. Unter diesen neueren Methoden sollen in der Hauptsache *optische* Methoden verstanden werden, Methoden also, die auf der Physik des Lichtes, und zwar der sichtbaren wie der nicht sichtbaren Strahlung, beruhen und die im allgemeinen keinen besonderen Eingriff in das Objekt voraussetzen. Damit bleiben alle Färbeverfahren außer Betracht. Histologische Färbungen werden nur bei der vorangestellten kurzen zusammenfassenden Beschreibung an sich bekannter histologischer Befunde benutzt. Im übrigen liegen der Arbeit nur ungefärbte Präparate zugrunde.

Diese ungefärbten histologischen Präparate wurden mit Hilfe der Ultraviolett-mikrophotographie (S. 358) und der Ultraviolett-mikrospektrographie (S. 371) analysiert, das entzündliche Exsudat aus den verschiedenen Phasen des Entzündungsprozesses im ganzen auf seine biologische Wirksamkeit an 2. Versuchstieren geprüft (S. 382), dann einzelne Wirkstoffe mit der Papierelektrophorese abgetrennt (S. 386), diese wiederum in Versuchstiere implantiert und die entstehenden Ver-

änderungen histologisch untersucht (S. 388). Die optischen Untersuchungsmethoden sind an sich nicht originell. Sie wurden aber vom Verfasser in zum Teil längerer Entwicklungsarbeit für dieses Gebiet durchkonstruiert, so daß es wohl berechtigt ist, die theoretischen Grundlagen dieser Methoden und die Technik ihrer Anwendung in den Text der vorliegenden Arbeit einzuschließen. Die mit der üblichen histologischen Technik gemachten Beobachtungen mögen aber voranstehen, um zunächst einmal in die Behandlung des Themas eintreten zu können.

Der Arbeit liegen die Untersuchungen an insgesamt 59 Versuchstieren zugrunde. Darunter waren 13 Meerschweinchen von durchschnittlich 250 g und 7 Kaninchen von durchschnittlich 3500 g Gewicht. An diesen beiden Gruppen von Tieren wurde der eigentliche Ablauf der experimentellen örtlichen Entzündung mit den verschiedensten Methoden untersucht. An den anderen Tieren, nämlich an insgesamt 33 Mäusen und 6 Ratten, wurden die Wirkstoffe, die aus Entzündungsherden bei den Kaninchen und Meerschweinchen extrahiert werden konnten, getestet und ihre Wirkung histologisch kontrolliert.

Um eine gleichmäßig reproduzierbare, umschriebene und überwiegend exsudative Entzündung hervorzurufen, hatte sich nach mehr oder minder erfolglosen Vorversuchen mit anderen Substanzen *Dichlordiäthylsulfid*<sup>1</sup> als geeignetes Agens erwiesen. Diese Substanz wurde in Mengen von 1 Tropfen bis 0,025 ml den Versuchstieren subcutan beigebracht, und zwar in der Regel an der Außenseite des Oberschenkels, bei einem Teil der Meerschweinchen nach einem kleinen Einschnitt in die Haut, der sogleich wieder mit Klammern verschlossen und mit Mastixlösung abgedichtet wurde, bei allen übrigen Tieren durch subcutane Injektion. Bei der Hälfte der Tiere wurde der Eingriff auf beiden Seiten vorgenommen, wobei die Mengen der gewonnenen Extrakte größer, die toxischen Allgemeinerscheinungen aber auch wesentlich schwerer waren. Bei einem Teil derjenigen Versuchstiere, die Lost nur auf einer Seite erhalten hatten, diente die andere Seite, ohne Lost belassen, als Kontrolle.

Die ersten klinischen Erscheinungen traten nach 1—2 Std ein; nach etwa 8 Std schwoll das betroffene Gewebe deutlich an, wurde härter und druckempfindlich; soweit es sich von außen feststellen ließ, lag der Höhepunkt der Erscheinungen am 3.—4. Tag. Die Tiere waren, je nach der Dosis, auch erheblich in ihrem Allgemeinzustand beeinträchtigt; einzelne, insgesamt 3, verendeten nach etwa 10 Std; die anderen wurden in regelmäßigen Abständen zwischen 1½ Std und 6 Tagen nach der Beibringung von Lost in Narkose getötet. Bei der Sektion der Tiere bzw. bei der Entnahme des entzündeten Gewebes sah man aber, daß die örtlichen Erscheinungen doch wesentlich früher eingetreten waren, als von außen zu erkennen war. Schon nach 1 Std war das lockere subcutane Bindegewebe nahe der Injektionsstelle von reichlich Flüssigkeit durchtränkt, die Gefäße waren hyperämisch. Im Verlauf der nächsten Stunden nahmen die Erscheinungen an Stärke zu; zwischen 9 und 24 Std war die entzündliche Exsudation so stark geworden, andererseits aber örtlich begrenzt geblieben, daß das flüssigkeitsimbibitierte Bindegewebe, wenn man die Haut vorsichtig abpräpariert hatte, wie ein zarter, prall von Flüssigkeit aufgetriebener Sack an der Unterhaut hing. Aus dem mit Flüssigkeit durchtränkten, weichen, gallertigen, aufgedunsenen Gewebe wurde, im Zusammenhang mit der angrenzenden Haut, ein breiter Streifen herausgeschnitten und fixiert. Bei dieser Entnahme blieb die durchtränkende Flüssigkeit praktisch

<sup>1</sup> Liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt von Herrn Dr. A. CMENTEK, Hamburg.

völlig im Gewebe enthalten und floß nicht ab. Dann wurde der (größere) Rest des Gewebes, der nicht für die histologische Untersuchung benötigt und entnommen wurde, mit dem Skalpell an zahlreichen Stellen eingeschnitten und ausgequetscht; es entleerte sich eine klare, farblose bis ganz leicht gelbliche, relativ leicht bewegliche, erst in den späteren Phasen der Entzündung etwas mehr visköse Flüssigkeit, die in einem sterilen Löffel aufgefangen werden kann. Diese Ödemflüssigkeit wurde unter sterilen Kautelen in Ampullen abgefüllt und sogleich bei  $-30^{\circ}\text{C}$  eingefroren. Bei den späteren Phasen, etwa nach 6 Std, konnten aus *einem* Entzündungsherd mindestens 1 ml Flüssigkeit gewonnen werden.

Zur Fixierung der Gewebeproben wurde zum Teil eine Lösung von 5 g Lanthan-nitrat in 100 ml 50%iger Essigsäure und zum Teil 10%iges Formol benutzt. Lanthan-Essigsäure ist nach CASPERSSON geeignet, um Eiweißkörper in einen Fixationszustand zu versetzen, der es erlaubt, *vergleichende* UV-Absorptionsmessungen anzustellen. Das formolfixierte Material diente als Kontrolle. An beidem Material wurden histologische Färbungen ausgeführt. Es ergab sich, daß für die vorliegenden Untersuchungen die aus der Literatur bekannten, zum Teil gegensätzlichen Auffassungen über die zweckmäßigste Art der Fixierung für UV-Studien hier nicht so streng beachtet werden mußten, da die UV-Absorptionsanalyse sich nicht auf Zellkerne und andere ähnliche Struktureinheiten erstreckte, sondern nur auf das der Analyse leichter zugängliche Ödem und entzündliche Exsudat.

Die Absorptionsanalysen bestanden im mikrophotographischen und mikrospektrographischen Nachweis der UV-Extinktion an *ungefärbten* histologischen Schnittpräparaten. Die Ödem- und Exsudatflüssigkeiten im histologischen Präparat waren in diesen Fällen also fixiert. Der Fixierungsvorgang könnte nun im Substrat nicht nur chemische Umsetzungen, sondern auch *optische* Verhältnisse geschaffen haben (lineare Aggregation von Teilchen, die zu Dichroismus führen kann), die die Gültigkeit des LAMBERT-BEERSchen Gesetzes beeinträchtigen könnten. Deshalb wurden die Exsudatflüssigkeiten in selbsthergestellte Quarzmikrocuvetten von etwa 0,3 mm Schichttiefe eingefüllt und auch völlig *unfixiert* ultraviolett-mikrospektrographisch untersucht; bei nur kurzen Expositionszeiten sind Veränderungen des Substrates durch die ultraviolette Strahlung, die die Extinktionswerte verändern könnten, wohl nicht anzunehmen. Auch ist 1. die Schichttiefe der Cuvetten relativ groß und 2. die Eiweißkonzentration der Ödemflüssigkeiten relativ gering, so daß auch eine von außen bewirkte, mechanische lineare Aggregation von fadenförmigen Molekülen, die die UV-Extinktionswerte verfälschen könnte, nicht sehr wahrscheinlich ist. Darüber hinaus darf man vermuten, daß die Eiweißkörper in den Ödemflüssigkeiten meist globulärer Struktur sind. Bei Beachtung aller dieser Einwände dürften eigentlich die meisten Vorbedingungen erfüllt sein, die man — in diesem Fall — für eine exakte Bestimmung der UV-Absorption voraussetzen könnte. Über den technischen Vorgang der verschiedenen Meßverfahren wie über weitere physikalische Einzelheiten ist unten Genaueres nachzulesen.

Von dem in Lanthan-Essigsäure und in Formol fixierten Gewebe wurden zum (größeren) Teil Gefrierschnitte hergestellt, zum Teil wurde das Gewebe auch vorsichtig entwässert, in der üblichen Weise in Paraffin eingebettet, in Stufenschnitte zerlegt und, für die normalen histologischen Untersuchungen, mit Hämalaun-Eosin, Azan, MASSONS Trichromfarbstoff und nach WEIGERT zum Nachweis von Fibrin gefärbt. Für die UV-Analysen, soweit sie am histologischen Präparat durchgeführt wurden, wurden bis  $30\mu$  dicke Gefrierschnitte oder 5–12  $\mu$  dicke, sorgfältigst entparaffinierte Paraffinschnitte benutzt, die zwischen einem Quarzobjekträger und einem Quarz- oder Homosildeckglas von 0,2 mm Dicke in reines Glycerin eingeschlossen waren.

Der Ablauf der experimentell durch Dichlordiäthylsulfid hervorgerufenen örtlichen Entzündung läßt sich, etwas schematisch, in mehrere zeitliche Phasen einteilen: Rasch tritt ein sehr erhebliches Ödem in Erscheinung. Dann beginnt, zunächst am Rande des Ödems, später auch in seiner Mitte, eine Auswanderung von Leukocyten aus den Gefäßen. Die Leukocyten ballen sich zu dichten Infiltraten zusammen und bilden kleine Abscesse; andere durchsetzen diffus das gesamte ödematös aufgequollene Gewebe. Diesem eitrig-serös gewordenen entzündlichen Exsudat mischt sich dann noch Fibrin bei. Schließlich treten deutliche degenerative Erscheinungen am Parenchym auf.

Schon nach 1—1½ Std sieht man hyperämische, prall mit Blut gefüllte Gefäße. Das lockere subcutane Bindegewebe quillt hochgradig auf, die Bindegewebszellen sind auseinandergedrängt, die Bindegewebsfibrillen hochgradig mit Flüssigkeit durchtränkt, verquollen und nicht mehr zu unterscheiden. Die Ödemflüssigkeit erscheint teils farblos, teils ganz leicht rötlich.

Nach 2 Std hat sich das Ödem in dicker Schicht flächenhaft unter der Haut ausgebreitet. Es erscheint jetzt gleichmäßiger und mehr rötlich gefärbt; in den prall mit Blut gefüllten Gefäßen sieht man reichlich gelapptkernige Leukocyten, zum Teil in Randstellung, liegen. Eine Emigration von Leukocyten und eine Bildung von Infiltraten hat noch nicht eingesetzt.

Nach 3 Std enthalten vor allem die Gefäße am Rand des ödematös durchtränkten Entzündungsherdes zahlreiche, meist randständige Leukocyten; an einzelnen Gefäßen beginnt bereits die Diapedese und Auswanderung der Leukocyten, die sich locker, zunächst noch ohne Bildung eigentlicher Infiltrate, in der Umgebung der Gefäße ausbreiten. Inmitten der Zone der starken ödematösen Durchtränkung liegen einzelne, meist blutleere, Capillaren mit deutlich aktivierten Capillarendothelien (Abb. 1).

Auch nach 3½ Std besteht ein sehr erhebliches Ödem des Unterhautbindegewebes; die eingelagerte Flüssigkeit erscheint meist hell und farblos. Gelegentlich sieht man allerdings auch Pfützen von geronnener, dichter, mit Eosin stärker rötlich gefärbter Ödemflüssigkeit von offenbar höherem Eiweißgehalt. Die Auswanderung von gelapptkernigen Leukocyten ist jetzt deutlich geworden; die Leukocyten liegen nicht nur als dichte Säume unmittelbar rings um die Gefäße, sondern haben sich auch eine Strecke weit, etwa 50 µ, in das perivasale lockere Bindegewebe entfernt und hier diffus verteilt.

Diese Umwandlung der bisher rein serösen Entzündung in eine eitrig-seröse Entzündung beginnt an den Rändern der Entzündungsherde, stärker oben, zur Haut hin, weniger stark unten, in der Nähe der Muskulatur.

Nach 5 Std sind Ausmaß des Ödems und färberische Darstellbarkeit der Ödemflüssigkeit praktisch gleich geblieben. Die größeren und mittleren Gefäße sind von reichlichen leukocytären Infiltraten umgeben. Auch innerhalb des ödematösen Gewebes findet man jetzt stark hyperämische Gefäße, in deren Lumina vorwiegend Leukocyten liegen. Die Gefäße sind von dichten leukocytären Infiltraten umgeben, von denen aus das ganze flüssigkeitsdurchtränkte Bindegewebe diffus mit Leukocyten durchsetzt wird (Abb. 2).

Nach 6 Std und 7 Std sind die Veränderungen im wesentlichen ähnliche geblieben. Einige Stellen des mit entzündlichem Ödem durchtränkten Gewebes nehmen, bei H.-E.-Färbung, einen leicht bläulichen Farbton an. In der Umgebung des eitrig-entzündeten Gewebes liegen Bezirke von mehr rein ödematöser Verquellung.



Abb. 1. Mächtiges entzündliches Ödem in der Unterhaut bei einem Kaninchen, das 3 Std vorher 0,025 ml Dichlordiäthylsulfid injiziert erhalten hatte. Formolfixierung, H.-E.-Färbung. Zeiß-Opton-Planachromat  $2,5\times$ , Zeiß-Winkel-Photokular  $12\times$ . Silbereosinplatte. Gelbfilter. Vergrößerung etwa 80fach.

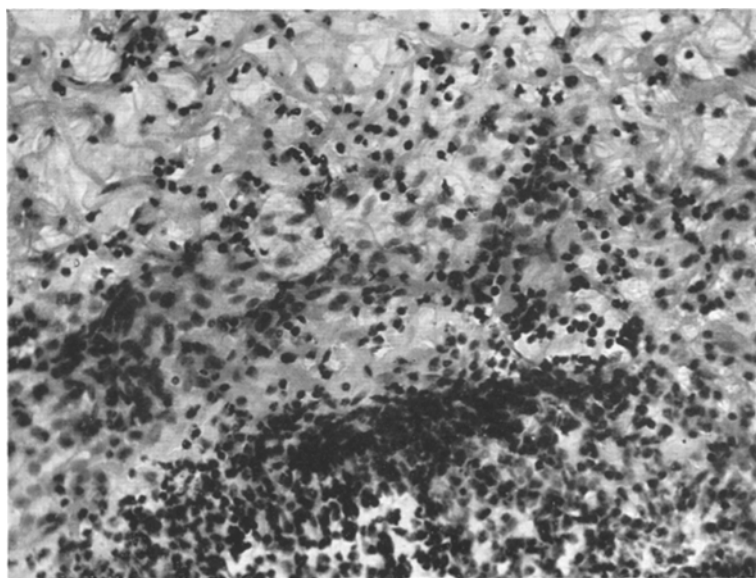


Abb. 2. Deutliche Einwanderung von gelapptkernigen Leukocyten in das serös-entzündlich durchtränkte Bindegewebe bei einer 5 Std alten experimentellen Entzündung durch Dichlordiäthylsulfid beim Kaninchen. Formolfixierung, H.-E.-Färbung. Zeiß-Winkel-Neofluar  $16\times$ , Photokular  $12\times$ . Silbereosinplatte. Trichromfilter. Vergrößerung etwa 300fach.

Nach 10 Std findet man besonders in den Randpartien des Entzündungsherdesehr reichlich aus den Gefäßen auswandernde gelapptkernige Leukocyten, die von hier aus das serös durchtränkte Gewebe diffus durchsetzen.

Die leukocytaire Infiltration hat nach 24 Std weiter an Stärke zugenommen. Sie erstreckt sich sowohl auf die unmittelbare Umgebung der stark erweiterten Gefäße wie auch auf das gesamte ödematös verquollene Gewebe, das sie diffus durchsetzen. An einzelnen Stellen ist es zur Bildung kleiner Abscesse gekommen: aus der serösen Entzündung ist eine typische eitrige Entzündung geworden. In der Umgebung der Entzündungsherde finden sich geschwollene Capillarendothelien und stellenweise eine hämorrhagische Infarzierung des perivasalen Bindegewebes.

Nach 48 Std hat an einzelnen Orten bereits eine Ausschwitzung von Fibrin stattgefunden. Im gesamten entzündeten Gewebe liegen diffus verteilt Leukocyten; um die maximal erweiterten Gefäße herum, die mit geronnenen Blutmassen angefüllt sind, sieht man dichte, vorwiegend leukocytaire Infiltrate. Kleine Abscesse finden sich in der Unterhaut verstreut. Die Gefäßwände mittelgroßer und kleinerer Gefäße sind fibrinoid verquollen; an einigen von ihnen ist Blut in das Gewebe ausgetreten und hat es hämorrhagisch infarziert.

Nach 4 Tagen ist das Ödem vielleicht etwas geringer geworden. Leukocytaire Infiltrate erstrecken sich in breiten Straßen bis zwischen die Muskelfasern. Einzelne quer angeschnittene Muskelfasern sind in ihrem Zentrum weniger eosinrötlich als peripher; das könnte bereits als degenerative Erscheinung gelten.

Nach 6 Tagen sind nun die degenerativen Veränderungen in den Vordergrund getreten. Ein Teil der Muskelfasern ist zu hellen, mit Hämalun nur schwach bläulich färbbaren, wachsartigen, opaken Bändern zusammengesintert. Sie sind von zahlreichen Leukocyten und Lymphocyten umgeben; perivasale Infiltrate und kleine Abscesse sieht man überall verstreut.

Die Verhältnisse bei den Meerschweinchen und den Kaninchen waren, von geringen Unterschieden abgesehen, im wesentlichen gleiche, so daß sie hier zusammengefaßt geschildert wurden. Von einer Wiedergabe der ausführlichen Versuchsprotokolle dürfte wohl ohnehin Abstand genommen werden. (Die späteren Stadien der experimentellen Entzündung mit ihrem Übergang in Sklerosen und Fibrosen wurden hier nicht berücksichtigt.)

Die kurze Beschreibung dieser histologischen Befunde sollte nur darlegen, daß wir tatsächlich eine reguläre akute Entzündung vor uns haben, wie sie in grundsätzlich gleichartiger Weise durch die verschiedensten experimentellen Eingriffe hervorgerufen werden kann. Vergleiche dazu die Arbeiten von ASCHOFF, U. WESTPHAL, KAUFFMANN, BERING, ROSENOW, BERGER-LANG, GROSS, MEIER-GROSS und DESAULLES. Bezüglich der chemischen und physikalischen Eigenschaften von Dichlordiäthylsulfid siehe vor allem SARTORI, bezüglich seiner biologischen Wirkungen vor allem DÖRFFEL und PÖPPING, dann auch MUNTSCH, CASHMORE-McCOMBIE, FLURY, LANG, LAWSON-REID, WEIDNER und MENZEL. Dichlordiäthylsulfid verursacht wahrscheinlich primär keine Eiweißdenaturierung, sondern wandert als unzersetztes lipoidlösliches Molekül leicht in die Zelle ein und wird hier hydrolytisch in Thiodiglykol und Salzsäure

gespalten; möglicherweise kann es aber auch direkt mit dem Cytoplasmaeiweiß reagieren bzw. bestimmte Fermente blockieren.

Nach der Schilderung der histologischen Befunde sollen jetzt die Absorptionsphänomene des entzündlichen Exsudates im UV-Licht behandelt werden. Durch die Einbeziehung des UV-Spektralbereiches in die histologische Technik bietet sich bekanntlich ein ganz außerordentlich großes neues Feld für die Forschung an. Die Bedeutung des UV-Spektrums liegt nicht nur darin, daß hier verschiedene chemische Körper wie z. B. die Purine oder die cyclischen Aminosäuren an ihrer charakteristischen UV-Extinktion erkannt werden können, und sie beschränkt sich noch viel weniger darauf, mit Hilfe ultravioletter Strahlung Fluoreszenzphänomene zu erregen; sie liegt vielmehr in der Tatsache begründet, daß es gelingt, die natürliche spektrale Begrenztheit unseres optischen Vermögens und damit die Zahl der Dinge, die zur „Anschauung“ gebracht und so als unmittelbar der Morphologie zugehörig bezeichnet werden können, auf praktisch das Doppelte zu erweitern und zu vermehren. Die sehr vielfältigen Möglichkeiten, die in diesem Zuwachs unserer Arbeitstechnik liegen, sind bisher nur zu einem Teil bekannt und nur zu einem geringen Teil praktisch ausgeschöpft. Diese optischen Methoden schließen sich demnach unmittelbar an die morphologische Art der *Betrachtung* an. Sie stehen in keinem *Gegensatz* zu den Mitteln der klassischen pathologischen Anatomie, sondern sie sind deren konsequente *Weiterentwicklung*. Da bei Anwendung dieser optischen Methoden die Struktur nicht notwendig zerstört wird, fallen manche Einwände fort, die man unter Umständen gegen gewisse Methoden der physiologischen Chemie machen könnte. Die Genauigkeit der physiologisch-chemischen Analyse kann allerdings nicht erreicht werden.

Ganz allgemein muß man bei der Untersuchung im UV-Bereich unterscheiden: 1. die Art des Eingriffes in die UV-Strahlung, 2. die Art der Registrierung der durch diesen Eingriff bewirkten Veränderung der Eigenschaften der UV-Strahlung und 3. die Art der Auswertung der registrierten Phänomene. Zuvor einige Worte zu anderen Anwendungen und Wirkungen der UV-Strahlung, die mit ihren hier benutzten Eigenschaften nichts zu tun haben.

*Fluoreszenz* ist ein Teilbegriff der Lumineszenz. Lumineszenz heißt die Erscheinung, daß feste oder flüssige Körper unter bestimmten physikalischen oder chemischen Einflüssen, und zwar praktisch nur während der Dauer dieser Einflüsse, leuchten. Eine fortdauernde Leuchterscheinung heißt Phosphoreszenz. Die Erregungsstrahlung braucht nicht UV-Strahlung, sondern kann in gleicher Weise auch blaues Licht oder rotes oder auch infrarotes Licht sein, das in der Regel nach dem STOKESSchen Gesetz zu einer Sekundärstrahlung von noch größerer Wellenlänge führen würde. In der Praxis handelt es sich bei der Fluoreszenz darum, mit einem Licht, das an der Grenze zwischen langwelligem Ultraviolett und soeben



sichtbarem Violett steht, sichtbar bunte Leuchtphänomene zu erzeugen. UV-Strahlung von mittlerer oder kurzer Wellenlänge wird für Fluoreszenzuntersuchungen nicht benutzt.

Fluoreszenzerscheinungen dienen in der pathologischen Anatomie fast ausschließlich der gestaltlichen oder der topographischen Analyse; d. h., daß die physikalischen Eigenschaften der sekundär emittierten Fluoreszenzstrahlung nicht genauer analysiert werden. Das wäre aber von Wert, da die spektrale Zusammensetzung des Fluoreszenzlichtes häufig auf bestimmte chemische oder physikalische Eigenschaften des fluoreszierenden Körpers schließen läßt, und ist auch mit Hilfe spektroskopischer oder spektrographischer Methoden verhältnismäßig leicht durchzuführen. Wenn auch die Art der Fluoreszenz eine charakteristischere Eigenschaft eines chemischen Körpers ist als seine Lichtabsorption, so hat nach PRINGSHEIM doch die Absorptionsanalyse einen viel größeren Anwendungsbereich, weil die Absorptionsspektren weniger irgendwelchen Störungen durch Verunreinigungen unterliegen.

Eine andersfarbige sekundäre Strahlung ist auch das SMEKAL-RAMAN-Spektrum, das von den verschiedensten chemischen Körpern ausgehen kann, wenn sie nach Art des TYNDALL-Effektes und mit monochromatischem Licht variabler Wellenlänge erregt werden; das RAMAN-Spektrum ist aber ein reines Molekülspektrum und hängt von intramolekularen Schwingungen von Atomen und Atomgruppen und der Art ihrer Kopplung ab; es kann von größerer Wellenlänge, wie meist bei der Fluoreszenz, sein, aber auch von kürzerer als der Wellenlänge des erregenden Lichtes. Auch hier kann die Hinzunahme des UV-Spektralbereiches die analytischen Möglichkeiten theoretisch ebenfalls verdoppeln.

Schließlich muß noch die Steigerung des Auflösungsvermögens des Mikroskopobjektivs als ein weiteres optisches Phänomen erwähnt werden, das auf der Verwendung kurzwelligigen UV-Lichtes beruht, aber mit den spektralen Möglichkeiten des UV-Bereiches im engeren Sinne wenig zu tun hat. Nach der ABBESchen Formel

$$d = \frac{\lambda}{n \cdot \sin \sigma}$$

gilt, daß bei gleichbleibender numerischer Apertur ( $A = n \cdot \sin \sigma$ ) das Auflösungsvermögen des Objektivs für ein Gitter mit der Gitterkonstanten  $d$  mit abnehmender Wellenlänge  $\lambda$  zunimmt. Die Möglichkeit, auf diese Weise das Auflösungsvermögen des Mikroskops zu steigern, ist nicht nur von Interesse, wenn es sich darum handelt, sehr feine Strukturen aufzulösen, sondern auch, wenn z. B. die sphärische Aberration von einfachen Reflexionsobjektiven behelfsmäßig eliminiert werden soll, wie im folgenden noch gezeigt wird.

1. Zur Art des Eingriffes in die UV-Strahlung ist nur zu sagen, daß es sich bei allen hier vorliegenden Untersuchungen um die Bestimmung der *Ultraviolettabsorption* handelt. Die UV-Absorptionsanalyse dürfte heute wohl als das wichtigste Anwendungsgebiet des UV in der Biologie gelten. Unter spektraler Absorption kann allgemein die Erscheinung verstanden werden, daß ein Körper für Licht bestimmter Wellenlänge ein besonders hohes oder niedriges und überhaupt meßbares Durchlaß- (Transmissions-) oder auch Rückstrahlungs- (Remissions-)vermögen hat, und weiter, daß dieser Körper also aus einer Summe angebotener Wellenlängen bestimmte Wellenlängen *bevorzugt* durchläßt oder zurückhält oder reflektiert. Auf diesem Phänomen beruht es, daß uns überhaupt die vielfältigen Formen der Natur *bunt* erscheinen. Die Buntheit dieser Dinge

erfaßt das menschliche Auge aber lediglich zwischen den Wellenlängen 4000 Å und 8000 Å: im Bereich des sichtbaren Spektrums. Damit ist aber keineswegs gesagt, daß sich die Buntheit der Natur auf diesen Spektralbereich beschränkt. Manche Insekten haben z. B. ein spektral anders sensitives Sehorgan als der Mensch, wie auch der Hund höhere Töne perzipieren kann als das menschliche Ohr. Aber auch mit physikalischen Mitteln ist man in der Lage nachzuweisen, daß eigentlich die meisten chemischen Körper, anorganische und organische, einschließlich der Gase, irgendwie „bunt“ sind, daß sie also praktisch sämtlich irgendwo charakteristische spektrale Absorptionerscheinungen aufweisen. Das ist für die morphologische Anatomie und Pathologie von ganz hervorragender Bedeutung, wenn man nämlich berücksichtigt, daß im sichtbaren Spektralbereich nur verhältnismäßig wenige Gebilde, die Pigmente, absorbieren und deshalb von sich aus bunt erscheinen, während alle anderen Gruppen von Substanzen und Strukturen mehr oder weniger unsichtbar sind und erst künstlich gefärbt und dadurch sichtbar gemacht werden müssen. Damit soll nicht die Bedeutung der verschiedenen histologischen Färb- und Imprägnationsverfahren für die *Strukturanalyse* verkannt werden. Die unmittelbare Untersuchung aber, auch in nicht sichtbaren Spektralbereichen, ist der histologischen Färbetechnik in 3 Punkten überlegen (a—c):

a) ermöglicht sie in gleicher Weise wie eine Färbung die rein gestaltliche morphologische Analyse der Struktur (vgl. Abb. 4, 5, 6), und zwar häufig, bei kurzen UV-Wellenlängen, mit dem Vorteil des höheren Auflösungsvermögens des Mikroskops;

b) erlaubt sie neben der gestaltlichen Analyse in zahlreichen Fällen zugleich eine histochemische Analyse, denn viele Substanzen, gerade die für den Zell- und Zellkernstoffwechsel und die für sekretorische und hormonelle Vorgänge wichtigen Nucleotide, cyclischen Aminosäuren und daraus bestehende Eiweiße und verschiedene Steroidkörper besitzen charakteristische Absorptionseigenschaften im ultravioletten oder infraroten Spektralbereich;

c) ist die Gefahr von Fehldeutungen auf Grund von Artefakten bei der spektralen Absorptionsanalyse geringer als bei den meisten *Färbverfahren*, die oft einen doch recht erheblichen Eingriff in das Gefüge der Zelle darstellen und damit einen weiteren Unsicherheitsfaktor in die Gleichung einführen, der die ohnehin schon schwierige Deutung von Farbeffekten wie auch von physikalisch-chemischen Befunden noch schwieriger macht. Die Gefahr, daß gerade die kurzwellige UV-Strahlung das Gewebe schädigt, läßt sich durch technische Vorsichtsmaßnahmen, z. B. Elektronenblitz-Spektrographie, praktisch völlig ausschalten.

Die beiden anderen Punkte, die Art der Registrierung und die Art der Auswertung der registrierten UV-Phänomene, umfassen aber eine solche Anzahl der verschiedenartigsten Dinge, daß auf sie in Kürze und

soweit eingegangen werden muß, wie es für diese Arbeit unumgänglich ist. Ganz allgemein bezeichnet man die Messung der Lichtintensität, bezogen auf einzelne Anteile des Spektrums, als Spektroskopie (oder auch Kolorimetrie). Geschieht die Registrierung der Intensität der durchgelassenen UV-Strahlung photoelektrisch, spricht man von UV-Spektrophotometrie; geschieht sie photographisch, von UV-Spektrographie oder photographischer UV-Spektrophotometrie. Das Substrat wird meist als Lösung untersucht und ist dann in einer Quarzcuvette eingeschlossen. Bei der Bestimmung der UV-Extinktion am histologischen Schnitt, der UV-Histo- oder Mikrospektrophotometrie bzw. UV-Mikrospektrographie und schließlich auch bei der eigentlichen UV-Mikrophotographie, ist dagegen außerdem ein vergrößerndes optisches System erforderlich, ein Mikroskop, das für ultraviolette Strahlung durchlässig sein muß.

Als erste Methode zur Bestimmung der UV-Absorption sei die eigentliche *Ultraviolett-mikrophotographie* genannt, deren Wesen für die Bedürfnisse der Morphologie zunächst auch am ehesten einleuchten wird, und die gleichzeitig auch das technisch einfachste der verschiedenen in Frage kommenden Verfahren ist. Ihre Genauigkeit beträgt etwa 5%. Die Bedingung, die verschiedenen Photogramme auf Photoschichten genau gleicher Gradation aufzunehmen und völlig identisch zu entwickeln, läßt sich bei Filmaufnahmen leicht erfüllen. Ich habe bereits erwähnt, daß das erforderliche Mikroskop für die UV-Strahlung durchlässig sein muß. Diese Voraussetzung ist nur bei Quarzlinen- und bei Spiegelmikroskopen erfüllt, außerdem bei dem Diffraktionsmikroskop von GABOR. Für die 1904 von KÖHLER entwickelten Quarzobjektive kommen nur Mineralien wie Quarz, Bergkristall, Lithiumfluorit oder Steinsalz in Frage. Da deren Brechzahlen fast gleiche sind, lassen sich Apochromate, also für große Spektralbereiche chromatisch völlig korrigierte Objektive, grundsätzlich nicht herstellen, sondern nur Systeme, bei denen die verschiedenen optischen Fehler lediglich in *einem* engen Spektralbereich ausgeglichen sind; die sog. Monochromate. Das erfordert mehrere Objektive, einen häufigen Wechsel dieser Objektive beim Mikroskopieren und, beim Wechsel des Spektralbereiches, eine Refocussierung des Objektives; mikrospektrographische Untersuchungen, die einen gleichzeitigen Überblick und gleichzeitige Focussierung über größere Spektralbereiche hinweg erfordern, sind nicht möglich; die Scharfeinstellung im UV auch mit dem Sucher, einem Einstelloocular mit fluoreszierender Uranglasscheibe, ist nicht zuverlässig. Diese Nachteile haben Spiegelsysteme nicht, da sie, jedenfalls die ausschließlich reflektierenden Systeme, prinzipiell von chromatischer Aberration und Focusdifferenz frei sind. Daß Spiegel ebenso wie Linsen abzubilden vermögen (Spiegelteleskope in der Astronomie!), ist lange bekannt; schon VAN LEEUWEN-HOEK versuchte — um 1640 — auch ein Mikroskop nur aus Spiegeln

zu bauen. Aber erst seit etwa 20 Jahren, mit dem zunehmenden Interesse an den Problemen des Eiweiß- und Nucleotidstoffwechsels, sind intensive Bemühungen um brauchbare Spiegelobjektive für die Mikroskopie im Gange (JOHNSON, BRUMBERG, BURCH, DREW, BARER, LEEDS-WILKINS, BOUWERS, BAKER, MELLORS, MANIGAULT, VAN ALPHEN, vor allem GREY). Im Prinzip stehen sich sphärische und asphärische Spiegelobjektive gegenüber. Da Spiegelobjektive an sich mit einer beträchtlichen sphärischen Aberration behaftet sind, müssen dieser und andere optische Fehler in geeigneter Weise ausgeglichen werden. Das geschieht bei den sphärischen Spiegelobjektiven durch Kombination mit Linsenelementen (= katadioptrische Systeme) oder andererseits, unter Verzicht auf Linsenelemente und bei Erhaltung wirklich völliger Achromasie, durch asphärischen Schliff einer oder beider Spiegelflächen. Gegenwärtig werden z. B. in den USA., wie es scheint, vorzügliche sphärische katadioptrische Spiegelobjektive konstruiert. Diese Objektive sind vom Vakuum-Ultraviolett, dem SCHUMANN-Spektrum, bis zum langwelligen Infrarot korrigiert; ihre Eigenvergrößerung reicht bis zum 120fachen und ihre numerische Apertur, bei Immersionssystemen, bis 1,1. Ähnliche gute Eigenschaften hat das asphärische Spiegelsystem von BURCH, bei dem ohne Korrektionslinsen — jedenfalls bei den Trockensystemen — ein befriedigender Ausgleich der sphärischen Aberration und der Koma möglich ist und der zentrale Lichtverlust relativ klein bleibt.

Da dem Verfasser alle diese vortrefflichen Objektive nicht zugänglich waren, mußten anders konstruierte optische Systeme als Behelf dienen. Es handelt sich zunächst, wie schon in diesem Archiv publiziert, um einen einfachen sphärischen Hohlspiegel unterhalb des Präparates mit einem horizontal verschieblichen planen Hilfsspiegel, der ähnlich wie ein NACHET-Vertikalilluminator das Licht in das System hineinbringt. Die optischen Eigenschaften dieses Systems wurden zusammen mit TSAI-HSING KING gerechnet (1952 g) und über befriedigende Erfahrungen mit diesem Gerät bereits berichtet (MEYER-ARENDT 1951 b, 1952 b, d, f, MEYER-ARENDT und SCHUMACHER (e), RUHKOPF und MEYER-ARENDT).

Im allgemeinen werden Reflexionsobjektive nach den von NEWTON, GREGOR, CASSEGRAIN und von SCHWARZSCHILD angegebenen Prinzipien konstruiert. Sie bestehen damit stets aus 2 sphärischen oder asphärischen Spiegeln, von denen einer gelegentlich durch einen Planspiegel ersetzt werden kann; einer von diesen Spiegeln ist jedenfalls immer in seinem Zentrum, also in der optischen Achse, durchbohrt. Der SCHWARZSCHILD-Typus im besonderen ist der Ausgangspunkt für fast alle modernen Konstruktionen; über die speziellen Ausführungen mit sphärischer Spiegelwölbung kann z. B. bei GREY und bei MELLORS nachgelesen werden, über die mit asphärischer Wölbung bei BURCH und bei BARER. Der Verfasser hat auch ein Objektiv vom SCHWARZSCHILD- und eins vom NEWTON-Typ konstruiert und die Ergebnisse ultraviolett-mikrospektro-

graphischer Untersuchung mit dem NEWTON-Objektiv 1952 b, h publiziert. Besser als diese bisher benutzten Objektive war ein neues, vom Verfasser konstruiertes Spiegelsystem, dessen Prinzip teilweise auf eine Anregung von LOOFBOUROW zurückgeht und dessen Bauplan sich ohne weiteres aus Abb. 3 ergibt (1952i, 53). Dieses Spiegelsystem besteht prinzipiell aus 2 Planspiegeln, die rechtwinklig aufeinander gekittet sind und von denen der eine in der optischen Achse durchbohrt ist, und aus einem sphärischen Hohlspiegel, der eigentlich die Abbildung besorgt und dessen numerische Apertur durch eine Irisblende variiert werden kann<sup>1</sup>.

Zwar ist die numerische Apertur auch dieses Gerätes noch relativ klein, da das bild-erzeugende Strahlenbündel aus optischen Gründen durch die Weite der Bohrung im Plan-spiegel vignettiert werden muß, doch sind die optischen Eigen-schaften in Achsennähe befriedigende, wie das, neben der absoluten Achromasie, für die Mikrospektrographie in erster Linie von Bedeutung ist.

Als optimale Werte für den Krümmungsradius  $r$  und die freie Öffnung  $D$  des Hohlspiegels und für die lichte Weite  $S$  der Bohrung in dem größeren Planspiegel ergaben sich  $r = 2f = 70$  mm,  $D = 12$  mm,  $S = 3,6$  mm. Daraus resultiert eine Gegenstandsweite von durchschnittlich  $a = 45$  mm und, je nach der Tubuslänge, eine

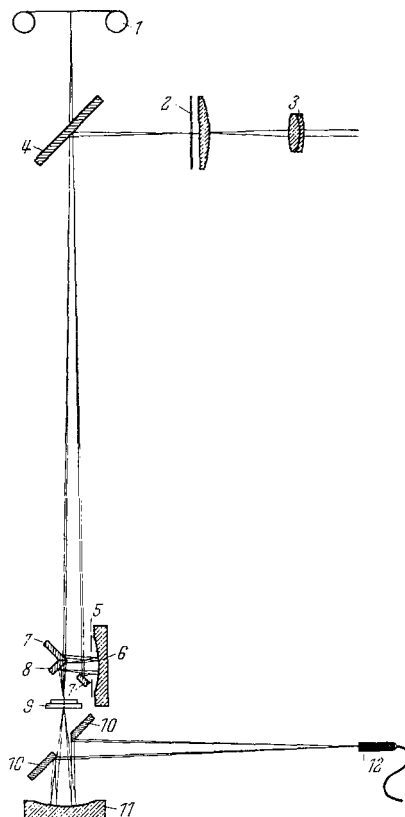


Abb. 3. Spiegelsystem für die UV-Mikrospektrographie, bestehend aus je einem einzelnen sphärischen Hohlspiegel als Kondensor und als Objektiv. Eigenvergrößerung 5—8fach. Die aus (12) austretende Strahlung gelangt auf den durchbohrten Planspiegel (10) und wird vom Kondensor-Hohlspiegel (11) in das Objekt (9) gebündelt. Die von dort weitergehende, durch Absorption geschwächte UV-Strahlung wird vom kleinen Planspiegel (8) in den eigentlich abbildenden sphärischen Objektiv-Spiegel (6) reflektiert und gelangt von dort durch die Aperturblende (5) hindurch und über den durchbohrten Planspiegel (7) in eine Spiegel-aufsetzkamera. Zur Beobachtung durch das Einblickfenster (2, 3) wird der Spiegel (4) in den Strahlengang geschoben; sonst erreicht die Strahlung unmittelbar die Photoschicht in der Kamera (1). Alle Spiegelflächen wurden im Vakuum mit Aluminium bedampft.

Zeichnung: Zeiß Ikon.

<sup>1</sup> Die Anfertigung der wichtigsten Einzelteile dieses Systems verdankt der Verfasser der liebenswürdigen Hilfe von Herrn Dr. K. MICHEL, Göttingen.

Eigenvergrößerung des Systems von 5—8fach. Die Bohrung im Planspiegel begrenzt die Apertur des Hohlspiegels; durch die Kippung des Planspiegels auf  $45^\circ$  zur Senkrechten resultiert ein elliptischer Querschnitt des objektseitigen Lichtbündels vor der Hohlspiegelfläche. Die ausgeleuchtete und überhaupt nutzbare Fläche des Spiegelbelages des Hohlspiegels erhält damit die Form einer (waagrecht liegenden) Ellipse mit einer großen Achse von 9 mm und einer kleinen Achse von 6,4 mm. Aus diesen Werten läßt sich die numerische Apertur des Systems leicht berechnen; sie ist abhängig von der Richtung der aufzulösenden Gitterabstände in bezug auf die Richtung der waagerechten optischen Achse des seitlichen Objektivtubus. Die numerische Apertur beträgt für Strecken im Präparat, die rechtwinklig zur Richtung dieser waagerechten optischen Achse liegen, numerische Apertur  $I = 0,1$  und für Strecken, die mit der waagerechten optischen Achse in eine Ebene gebracht werden können, numerische Apertur  $II = 0,071$ . Das bedeutet zunächst einmal eine Bevorzugung der numerischen Apertur in *einer* Richtung und eine Vernachlässigung in der dazu senkrechten Richtung und einen sozusagen „astigmatischen“ Fehler in bezug auf die optische Auflösung. Dieser Fehler ist durch die Kippung des durchbohrten Planspiegels bedingt und durch die damit zur Ellipse werdende Gestalt seiner Bohrung. Eine elliptische Durchbohrung, die bei Kippung kreisrund erscheinen würde, läßt sich technisch kaum herstellen. Trotz der zunächst gering anmutenden numerischen Apertur von 0,07 im ungünstigeren Fall beträgt die förderliche Höchstvergrößerung für dieses System bei  $\lambda = 2537 \text{ \AA}$  immerhin noch 140mal. Diese Vergrößerung setzt sich aus der Eigenvergrößerung des Objektivs und aus photographischer Nachvergrößerung zusammen.

Das Auflösungsvermögen eines Mikroskops ist bekanntlich durch die geringstmöglichen Abstände eines Gitters gekennzeichnet, das gerade noch optisch aufgelöst und objektgetreu zur bildmäßigen Darstellung gebracht werden kann. Die Gitterkonstante  $d$  für dieses Spiegelsystem beträgt, wieder im ungünstigsten Fall,  $7 \mu$  im sichtbaren Licht und  $3,6 \mu$  im kurzwelligen UV-Spektralbereich. Diese Werte sind, zumal bei analog konstruiertem Kondensor der fördernde Effekt der Narrow pencil illumination hinzukommt, für die hier zur Diskussion stehenden ultraviolett-mikrospektrographischen Arbeiten völlig ausreichend. Auf diesen Effekt hat unter ähnlichen Gesichtspunkten auch NAORA hingewiesen. Unter dem Narrow pencil illumination-Effekt versteht man mit PHILPOT die Tatsache, daß bei Beleuchtung mit besonders kleiner Kondensorapertur zwar Helligkeit und Auflösung abnehmen, der Kontrast im Bild aber gesteigert wird.

Bei der Abbildung durch einen einzelnen sphärischen Spiegel tritt nun ein beträchtlicher Öffnungsfehler in Erscheinung, der sich, zunächst

für alle Punkte in Achsennähe und für feste Gegenstands- und Bildweiten, dadurch eliminieren ließe, daß der abbildende Spiegel die Wölbung eines Rotationsellipsoids erhält. Das Ausmaß dieses Öffnungsfehlers, der sphärischen Längsabweichung, ergibt sich rechnerisch aus der Inkongruenz der Örter einer Kugelschale von denen eines Ellipsoids beigleichen Abständen von der optischen Achse. Das gilt strenggenommen selbstverständlich wiederum nur für Punkte, die in der optischen Achse liegen. Die rechnerische Bestimmung dieser Werte würde an dieser Stelle zu weit führen; es sei nur auf die schon angeführte Mitteilung des Verfassers (1952 g) hingewiesen.

Die Auswertung von UV-Mikrophotogrammen ist auf verschiedenen Wegen möglich (a—c):

a) Am leichtesten ist es, die bei den einzelnen Wellenlängen angefertigten Mikrophotogramme einfach miteinander zu vergleichen. Man sieht, daß bei bestimmten Wellenlängen bestimmte Strukturen deutlicher hervortreten, während sie bei anderen Wellenlängen kaum sichtbar sind. Aus einem solchen Befund kann man in der Regel schließen, daß in diesen Strukturen, wenn nicht gerade ein Absorptionsmaximum gelegen, so doch eine stärkere Absorption (oder Dispersion) von Strahlung der betreffenden Wellenlänge stattgefunden hat. Die mit diesem Verfahren des einfachen Vergleichens erhaltenen Ergebnisse sollen sogleich an diesem Ort wiedergegeben werden.

Aus den verschiedenen zeitlichen Stadien der experimentellen örtlichen Entzündung wurden sowohl histologische Schnittpräparate angefertigt, in denen also das entzündliche Ödem in fixiertem Zustand zur Untersuchung kam, wie auch die Ödemflüssigkeit *in vitro* unfixiert untersucht. Die histologischen Präparate wurden, wie oben ausgeführt, sowohl ultraviolett-mikrophotographisch wie ultraviolett-mikrospektrophographisch untersucht. Zunächst kann man ganz allgemein sagen, daß die Ergebnisse, die sich auf diesen 3 methodisch verschiedenen Wegen erzielen ließen, *identische* waren.

Hier soll als erstes die UV-Mikrophotographie und ihre Auswertung durch einfachen Vergleich der Photogramme erläutert werden. Das zugrunde gelegte Substrat in diesem Fall ist das Ödem in der *Umgebung* eines Herdes von experimenteller Lostentzündung nach 24stündiger Dauer. Die folgende Abb. 4 gibt demnach sowohl Aufschluß über das methodische Vorgehen wie auch über das Ergebnis der UV-Absorptionsmessung bei dieser Art von Ödemflüssigkeit.

Bei der experimentell hervorgerufenen örtlichen Entzündung tritt im eigentlichen Entzündungsherd schon frühzeitig ein charakteristisches entzündliches Ödem in Erscheinung. Dieses Ödem kann, wie in der Besprechung der Ergebnisse unten noch genauer ausgeführt wird, nicht

mit ausreichender Wahrscheinlichkeit als lediglich von Kreislaufstörungen abhängig angesehen werden. Nun ist aber, schon von der Klinik her, bekannt, daß bei entzündlichen Prozessen, wenn sie nur wenig, beispielsweise mechanisch, zusätzlich beeinflußt werden, ein mächtiges Ödem *sehr schnell* hinzutreten kann. Dieses Ödem ist sicher hauptsächlich durch Kreislaufstörungen bedingt. Um nun für die vorliegenden Untersuchungen ein solches Ödem zu erhalten, wurde in gleicher Weise verfahren und als Beispiel für die erste Phase der serösen Entzündung eine Gewebprobe aus der *unmittelbaren Nachbarschaft* eines experimentell erzeugten Entzündungsherdes ausgewählt.

Ein anderer Gesichtspunkt kam hinzu: Als früheste Phasen einer serösen Entzündung wurden die Phasen nach Ablauf von  $1\frac{1}{2}$  und 3 Std benutzt. Es erwies sich als notwendig, auch noch frühere Phasen zu untersuchen. Da nun aber, wie noch besprochen wird, auch Dichlor-diäthylsulfid selbst eine gewisse UV-Absorption gibt, hätte die Möglichkeit bestanden, daß diese Substanz so schnell noch nicht abgebaut wäre und fälschlicherweise zu der UV-Extinktion in der Ödemflüssigkeit beigetragen hätte. Deshalb war es wichtig, daß noch ein anderer Weg offenstand, um gewissermaßen indirekt noch frühere Phasen der serösen Entzündung analysieren zu können. Bekanntlich bilden sich um akute heftige Entzündungsherde herum Zonen *perifokaler seröser Entzündung*. Diese perifokale seröse Entzündung hat vielleicht eine etwas verschiedene Pathogenese insofern, als bei ihr der direkte Angriff des entzündungserregenden Agens auf die Zelle und deren Rückwirkung fehlen, und insofern, als bei der Bildung der Ödemflüssigkeit Kreislaufstörungen vermutlich ganz im Vordergrund stehen. Mit großer Wahrscheinlichkeit ist das Agens selbst im perifokalen Ödem nicht enthalten. Die technische Unmöglichkeit, die perifokale Ödemflüssigkeit ganz isoliert zu gewinnen und aus dem Gewebe zu entnehmen, zwang nun dazu, für ihre Untersuchung auf die Bestimmung der UV-Extinktion in der Mikrocuvette zu verzichten und für die ultraviolett-mikrophotographischen und ultraviolett-mikrospektrographischen Analysen nur das fixierte histologische Schnittpräparat heranzuziehen. Das konnte um so eher geschehen, als sich in anderen Fällen eine weitgehende Übereinstimmung der Ergebnisse bei verschiedenem methodischem Vorgehen fand. Die Ödemflüssigkeit aus solchen Gewebeproben, also aus den Randbezirken von akuten Entzündungsherden, zeigt Abb. 4. Auf diesen UV-Mikrophotogrammen sieht man, daß der Ödemflüssigkeit bei den Wellenlängen 2537 Å, 2804 Å und 5461 Å eine stärkere Extinktion fehlt (die Aufnahmen bei 3126 Å und 3660 Å sind aus Platzgründen in der Serie nicht enthalten). Diese Befunde bestätigen in gewisser Hinsicht die Ergebnisse von EPPINGER. EPPINGER hatte — wie auch andere Untersucher — nachgewiesen, daß eine pathologisch veränderte Gewebsflüssigkeit eiweiß-



reich sei, aber er konnte seinerzeit nur *vermuten*, daß die normale Gewebsflüssigkeit, die sich rein und isoliert nicht beschaffen ließ, eiweißfrei sei.

Stellt man diesem Stadium einer serösen Entzündung im Unterhautbindegewebe ein chronisches mechanisches Stauungsödem aus der gleichen Region gegenüber, dann sind schon die auf die gewöhnliche Weise erkennbaren histologischen Veränderungen ganz ähnliche. Auch hier findet sich eine optisch fast klare geronnene Ödemflüssigkeit von wechselndem Eiweißgehalt zwischen den Muskelfasern, die sich ebenfalls mit Eosin nur schwach rötlich färbt, kein färberisch nachweisbares

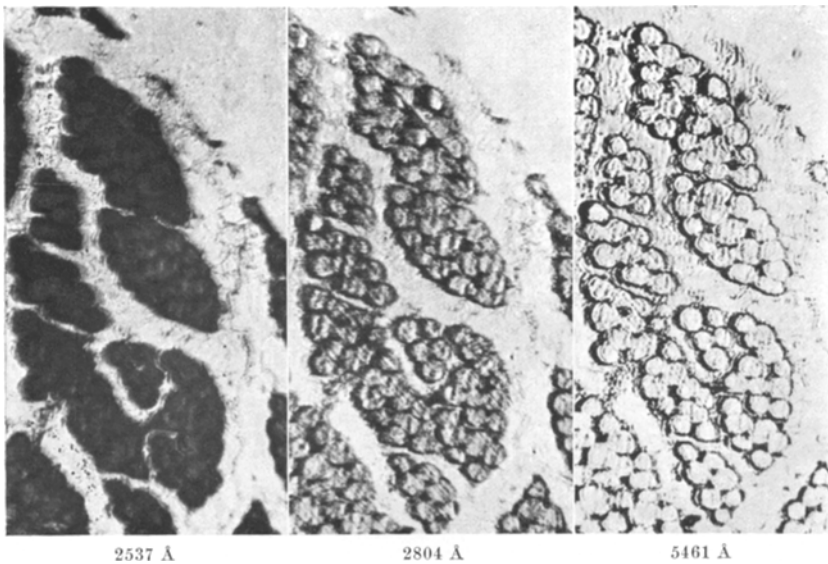


Abb. 4. Reflexionsoptische Mikrophotogramme bei den Wellenlängen 2537 Å, 2804 Å und 5461 Å (198). Muskelgewebe vom Rücken eines Meerschweinchens, das vor 24 Std Dichlordiäthylsulfid erhalten hatte. Die Gewebeprobe entstammt der Umgebung des experimentell erzeugten Entzündungsherd in der Unterhaut. Auf dem rechten Photogramm, im sichtbaren Licht, treten die Umrisse der quergeschnittenen Muskelfasern nur durch Lichtbeugungserscheinungen hervor, auf dem mittleren und linken Photogramm, im kurzwelligen Ultraviolett, zeigen sie deutliche Absorption. Man sieht, daß die UV-Absorption, die hier als Schwärzung in Erscheinung tritt, besonders auf dem linken Bild, bei  $\lambda = 2537 \text{ Å}$ , sehr beträchtlich ist. Zwischen den Muskelfasern liegen breite Straßen von entzündlichem Ödem, das im gewöhnlichen histologischen Schnitt optisch leer aussieht und auch hier bei keiner der geprüften Wellenlängen (2537 Å, 2804 Å, 3126 Å, 3660 Å, 5461 Å) UV-Strahlung bzw. sichtbares Licht absorbiert (die Aufnahmen bei 3126 Å und 3660 Å wurden weggelassen, um das Wesentliche stärker hervorzuheben). Fixierung: Lanthanacetat-Essigsäure. Einschuß: Glycerin. Filter: 5461 Å: BG 7 3 mm, GG 11 3 mm. 2804 Å: Nickelsulfat 51:100 (30 mm) + Pikrinsäure 63 mg:1000 ml (10 mm) + UG 5 3 mm. 2537 Å: Chlor + Brom  $1\frac{1}{2}$  at (50 mm) + Nickelsulfat 51:100 (30 mm) + UG 5 3 mm. Bezüglich der anderen Filter siehe die Arbeiten des Verfassers 1952c, d. Quecksilberhochdrucklampe HQE 42. Die UV-Mikrophotogramme wurden angefertigt mit einem Zeiß-Winkel-GF-Mikroskop<sup>1</sup>, einer eigens angefertigten Spiegelaufsetzkamera<sup>1</sup> und der Contax. Vergrößerung etwa 120fach.

<sup>1</sup> Zur Verfügung gestellt von Zeiß-Winkel.

Fibrin und auch keine Zellen enthält. Perivaskuläre Zellansammlungen fehlen ebenso. Die Muskelfasern sind allerdings, jedenfalls bei einem chronischen, sehr hochgradigen, mechanisch bedingten Ödem, herdwweise in gewisser Hinsicht geschädigt: sie sind unregelmäßig dick, teilweise deutlich atrophisch, häufig unterbrochen, ihre freien Enden sind zu schmalen Fäden ausgezogen oder auch plump und birnförmig auf-



Abb. 5. Chronisches mechanisches Stauungsödem bei einem Fall von Myxosarkom des Beckens (35jährige Frau, Sekt.-Nr. 754/51) mit hochgradiger Schwellung des ganzen linken Beines. Spiegeloptisches UV-Mikrophotogramm bei  $\lambda = 2804 \text{ \AA}$  (221). Man erkennt die stark atrophischen, bizarr geformten Muskelfasern, zwischen denen sich die Ödemflüssigkeit ausgebreitet hat. Die Ödemflüssigkeit absorbiert bei keiner der untersuchten Wellenlängen UV-Strahlung. Der Übersichtlichkeit halber wird hier nur die Aufnahme bei  $2804 \text{ \AA}$  wiedergegeben, bei der die Form der Muskelfasern (zufällig) am besten zum Ausdruck kommt. Filter und Aufnahmetechnik wie in Abb. 4. Vergrößerung etwa 300fach.

getrieben. Vom wechselnden Kaliber abgesehen sind andere, eigentlich degenerative Veränderungen im Inneren der einzelnen Muskelfasern nicht zu sehen, die Querstreifung und der Aufbau aus feinen Längsfibrillen ist überall erhalten, vacuoläre oder hyaline degenerative Umwandlungen fehlen. Das spricht dafür, daß dieses Stauungsödem lediglich mechanische Wirkungen oder Wirkungen infolge verschlechterter Diffusion von Sauerstoff oder Nährstoffen ausgeübt, aber keine direkte fermentative Schädigung bewirkt hat. Ein derartiger Befund ist an sich gut bekannt, so daß auf einen photographischen Beleg bei normaler histologischer Färbung verzichtet werden kann, zumal die gestaltlichen Veränderungen der Muskelfasern in dem UV-Mikrophotogramm der obigen Abb. 5 hinreichend zum Ausdruck kommen.

In den späteren verschiedenen Phasen der experimentellen örtlichen Entzündung wurden nun sowohl UV-Mikrophotogramme wie auch UV-Mikrospektrogramme hergestellt, die letztgenannten Aufnahmen nicht nur vom Schnittpräparat, sondern auch von unmittelbar entnommenen, unfixierten entzündlichen Ödemen. An dieser Stelle sollten zunächst nur die mikrophotographischen Befunde besprochen werden. So zeigt Abb. 6 ein UV-Mikrophotogramm von einer weiter fortgeschrittenen serösen Entzündung. Das Gewebe wurde 10 Std nach Beibringung von Dichlordiäthylsulfid entnommen und in gleicher Technik wie oben untersucht. Der Unterschied gegenüber dem perifokalen Ödem in Abb. 4 ist offensichtlich. Es sei hier nochmals betont, daß die Gewebeprobe in der folgenden Abb. 6 zwar von einem Tier stammt, das absolut *früher* getötet wurde als zum Nachweis der zeitlich früheren Phasen in Abb. 4, daß die Entwicklung der serösen Entzündung aber mit Sicherheit dort noch nicht so weit fortgeschritten war wie bei diesem Tier. Sowohl zu diesem Zeitpunkt des Ablaufes der serösen Entzündung wie auch in den verschiedenen anderen Stadien wurden stets mehrere UV-Mikrophotogramme angefertigt, um sie, wie beschrieben, durch Vergleich auswerten zu können. Von der Wiedergabe aller Aufnahmeserien kann wohl abgesehen werden; Abb. 6 zeigt eine charakteristische Phase an Hand eines einzelnen UV-Mikrophotogramms.

Man kann schon aus den bisher diskutierten UV-Photogrammen mit gewisser Annäherung ableiten, daß ein densitometrisch erhaltenes Absorptionsdiagramm im wesentlichen die Extinktionseigenschaften von Eiweißkörpern aufweist. Deren Extinktion setzt sich vorwiegend aus den Extinktionswerten der in ihnen enthaltenen aromatischen Aminosäuren zusammen. Während somit der Verlauf der Absorptionskurve kennzeichnend ist für eine bestimmte Gruppe von Substanzen, gibt die Höhe der Absorptionskurve ein Maß ab für die *Menge* der absorbierenden Substanz. Auf eine derartige quantitativ-analytische Aussage, die eine Dickenmessung des ohnehin nicht planparallel zu schneidenden Präparates voraussetzen würde, die ihrerseits wiederum kaum ausreichend exakt durchzuführen ist, wurde hier verzichtet.

Das histologische Präparat in Abb. 6 stammte von einer 10 Std lang bestehenden experimentellen serösen Entzündung. Zu diesem Zeitpunkt ist, wenn man nur das Ödem im histologischen Präparat betrachtet, noch kein besonderes Merkmal vorhanden, das dieses (entzündliche) Ödem von einem einfachen, mechanisch bedingten Stauungsödem mit Sicherheit abzugrenzen erlaubt. Das Ödem hier ist frei von Zellen, optisch fast leer und bis auf einzelne diffuse wolkige Zusammenballungen homogen. Es färbt sich mit Eosin leicht rötlich, mit Azan und mit Massons Trichromfarbstoff teils schwach rötlich, teils bläulich, wobei sich die verschieden gefärbten Anteile innig miteinander verflechten.

Man muß allerdings bedenken, daß das seröse Exsudat aus dieser Phase, obwohl die Färbung mit Gentianaviolett nach WEIGERT negativ ausfiel, doch vielleicht schon Fibrin enthalten könnte. Fibrin (und auch Fibrinogen) enthalten nach BERGMANN-NIEMANN und LÖFFLER-WUNDERLY-WUHRMANN bis 5% Tryptophan und außerdem noch relativ reichlich Tyrosin, die beide ausgesprochene UV-Absorption mit einem

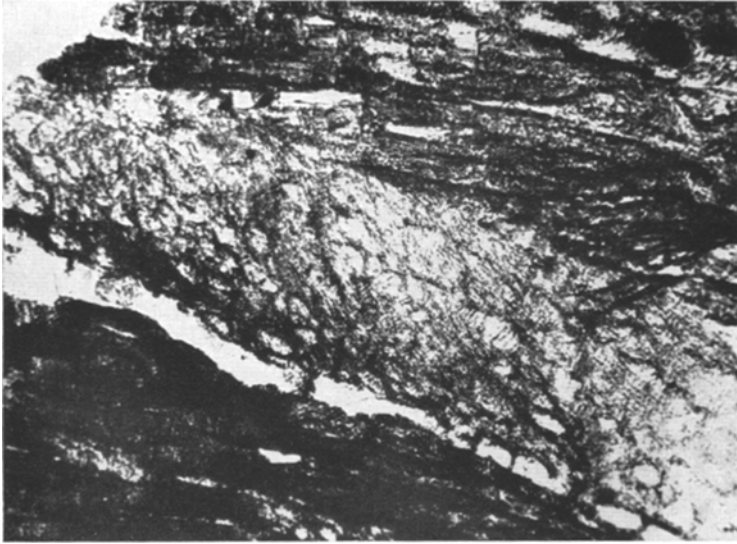


Abb. 6. Spiegeloptisches UV-Mikrophotogramm, aufgenommen bei 2804 Å (221). Unterhautbindegewebe und Zwischengewebe der Skelettmuskulatur von einem Meerschweinchen, das 10 Std nach Beibringung von Dichlordiäthylsulfid verendete. Die Muskelfasern sind auseinandergedrängt durch eine breite Straße von entzündlichem Ödem, das wiederum im gewöhnlichen H.-E.-Präparat optisch fast leer aussieht, hier aber deutlich UV-Strahlung absorbiert und auf dem photographischen Positiv schwarz wird. Kleinere Bezirke ähnlichen Exsudates liegen zwischen den Muskelfasern am unteren Bildrand. Filter und Aufnahmetechnik wie in Abb. 4 und 5: einfaches sphärisches Spiegelsystem (vgl. 1952 d, g). Vergrößerung etwa 280fach. (Aus Verh. Ber. dtsh. Ges. Path. 36, 1952.)

Maximum bei etwa 2789 Å aufweisen (CASPERSSON, GROH, GUTHMANN-SCHWERIN-STÄHLER, KRATKY-SCHAUENSTEIN). Übereinstimmend damit sahen WILKE und KIRCHER auch *einzelne* Fibrinfasern zwischen 2750 Å und 2800 Å maximal absorbieren, und SCHAUENSTEIN und Mitarbeiter stellten fest, daß diese 2700 Å-UV-Absorption im Verlauf der Polymerisationsvorgänge der Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung eintritt. Die mit dem KÖHLERSchen Mikroskop erhaltenen UV-Mikrophotogramme von WILKE und KIRCHER unterscheiden sich insofern von den in Abb. 6 wiedergegebenen Befunden, als *hier* noch eine diffuse Extinktion zwischen den einzelnen fädigen Gebilden hinzukommt. Das spricht dafür, daß im serösen Exsudat, wenn etwa doch schon (im Schnittpräparat geronnenes) Fibrin beigemischt sein sollte, außerdem noch ein anderer ultra-

violett-absorbierender Körper vorhanden ist, der in dieser Arbeit allein zur Diskussion steht. Bezüglich der Bedeutung des Fibrins für den Ablauf der örtlichen Entzündung vgl. WU, HUGHES und W. W. MEYER (1950).

*Die Auswertung der bei verschiedenen Wellenlängen aufgenommenen Ultraviolett-mikrophotogramme von der experimentellen serösen Entzündung und vom chronischen Anasarka erlaubt also den ersten orientierenden Schluß, daß im entzündlichen Ödem zu einem bestimmten Zeitpunkt irgend-ein Eiweißkörper morphologisch nachweisbar auftritt, der das entzündliche Ödem vom mechanischen Ödem zu unterscheiden gestattet. Dieser Schluß läßt sich, wie im folgenden ausgeführt wird, durch die ultraviolett-mikro-spektrographische Analyse des serösen Exsudates, durch die Testung des Gesamtextraktes an zweiten Versuchstieren und durch die elektrophoretische Trennung in verschiedene Fraktionen der Ödemflüssigkeit bei der serösen Entzündung und deren Testung bestätigen.*

b) Neben dem einfachen Vergleich von Photogrammen kann als weiteres Verfahren der Auswertung an 2. Stelle die Übertragung des ganzen Bildes aus dem unsichtbaren UV-Spektralbereich in das sichtbare Spektrum erwähnt werden. Dieses Verfahren, von BRUMBERG und von LAND und Mitarbeitern begründet und ausgebaut, aber auch schon von VALLEBONA (zit. nach SANQUIRICO) mitgeteilt, wurde jeweils unabhängig davon in zum Teil anderer Art von DONOVAN, von BENSLEY und vom Verfasser entwickelt (1951 b, c). Das Ergebnis ist stets ein farbiges Mikrophotogramm, das die Einzelheiten der Struktur so abbildet, wie sie im UV-Spektrum in Erscheinung traten. Darüber hinaus werden gleichzeitig die Intensitäten der UV-Extinktion bei den geprüften Wellenlängen wiedergegeben, und zwar kann das Ausmaß der UV-Absorption unmittelbar an der Farbsättigung und die Wellenlänge am Farbton abgelesen werden. Dieses Verfahren vermittelt an sich, was die UV-Extinktionen des Substrates angeht, keine prinzipiell neuen Erkenntnisse und ist demnach nur von praktischem, nicht aber von theoretischem Wert.

c) Bei der *densitometrischen* Auswertung von UV-Mikrophotogrammen wird der Grad der Schwärzung in der entwickelten photographischen Schicht (photoelektrisch) gemessen. Da es sich meist um kleine Ausschnitte handelt, läuft der Meßvorgang auf eine Mikrophotometrie mit sichtbarem Licht hinaus. Bei der Densitometrie von Mikrophotogrammen, die auf zusammenhängendem Kinonormalfilm aufgenommen wurden, braucht man Fehler, wie sie bei Platten durch individuelle Entwicklung entstehen könnten, nicht zu befürchten.

Der Umweg über die photographische Aufnahme wird vermieden bei der *Ultraviolett-Absorptions-Mikrospektrophotometrie*. Bei diesem Verfahren handelt es sich darum, die Durchlässigkeit von umschriebenen Bezirken in einem histologischen Präparat für UV-Strahlung bestimmter Wellenlänge — oder umgekehrt, die Absorption der UV-Strahlung durch diese Bezirke — zu messen. Unter den tatsächlichen Meßwerten für die Absorption verbergen sich aber oft auch uncharakteristische Phänomene der Lichtbeugung oder der Dispersion, die nach Möglichkeit ausgeschaltet werden sollen. Das ist oft schwierig, wenn nicht gar unmöglich (als Beispiel dazu vergleiche die Konturen der Muskelfasern auf dem rechten Photogramm in Abb. 4). Die Größe dieses Fehlers wächst exponentiell mit abnehmender numerischer Apertur des Mikroskopobjektivs. Ebenso wie bei der Mikrospektrographie, aber im Gegensatz zur UV-Mikrophotographie müssen also umschriebene Struktureinheiten — je kleiner, desto besser — aus dem Präparat herausgeblendet werden. Der einzelne Meßvorgang erstreckt sich demnach jeweils

nur auf ein umschriebenes Detail, innerhalb dessen die Absorption des monochromatisch gemachten Lichtes photoelektrisch gemessen wird. Diese Absorptionsmessung beruht ebenso wie jede Photometrie auf dem Vergleich der zu messenden Lichtintensität mit einem Normal. Der Vergleich kann entweder durch 2 aufeinanderfolgende oder 2 gleichzeitige Messungen geschehen. Die mikroskopische photoelektrische Absorptionsmessung hat den Vorteil, daß das Spektrum bis hinunter zum kurzwelligen UV kontinuierlich durchgemessen werden kann, daß Areale von 0,5 bis sogar  $0,1 \mu^2$  der Messung zugrunde gelegt werden können, und daß nach CASPERSSON der Meßfehler nicht mehr als 1% beträgt. Als Nachteil der photoelektrischen Absorptionsmessung steht dem gegenüber, daß der Einfluß der schädigenden UV-Strahlung nicht ausgeschaltet werden kann, da mit der Messung an einem Ende des spektralen Meßbereichs angefangen werden muß und sich die Extinktionswerte, wenn die Messungen am anderen Ende des Spektrums angelangt sind, infolge der Strahleneinwirkung geändert haben können. Zur graphischen Darstellung trägt man die Wellenlängen bzw. die „Filterschwerpunkte“ als Abszisse und die Absorptionswerte oder deren Logarithmen als Ordinate auf. Bei je mehr Wellenlängen die Absorption gemessen wird, desto zuverlässiger wird die Meßkurve. Eine Messung an nur einzelnen Orten ist nach CASPERSSON zwecklos; das gilt aber eigentlich dann nicht uneingeschränkt, wenn z. B. die Zahl der überhaupt in Frage kommenden Substanzen beschränkt und ihr Absorptionscharakter bekannt ist, so daß der Nachweis ein quantitativer oder sogar ein nur bestätigender oder ausschließender wird. Aus diesem Grund konnten für die vorliegenden Untersuchungen die wenigen Linien einer Quecksilberhochdrucklampe genügen; über andere Vorteile der Absorptionsmessung mit einem relativ linienarmen Emissionsspektrum siehe unten.

Als zweites wichtiges Verfahren neben der UV-Mikrophotographie wird jetzt die *Ultraviolett-Mikrospektrographie* besprochen. Bei der UV-Absorptionsmikrospektrographie wird das Präparat mit polychromatischem UV durchstrahlt, die fraglichen Einzelheiten aus der Präparatstruktur werden mit einem geeigneten Mikroskop vergrößert und in den Eingangsspalt eines UV-Spektrographen projiziert. Als Spektrograph kann grundsätzlich ein einfaches  $60^\circ$ -Quarzprisma oder besser ein festarmiger Spektrograph mit einem zweiteiligen CORNU-Quarzprisma nach STRAUBEL, das in der Achse und nahe der Achse frei von Doppelbrechung ist, oder ein Gitter dienen. Der Spektrograph zerlegt die Strahlung nach Passage des Präparates in ihre spektralen Anteile, d. h. er entwirft zahlreiche, nebeneinander stehende Bilder des Eingangsspalt es bzw. des in den Eingangsspalt projizierten Bildes des Präparatausschnittes auf die Bildebene, und zwar zerlegt je nach der Wellenlänge. Im Zusammenhang ergeben diese Bilder ein „Spektrum“. Das Prinzip der Methode ist von der makroskopischen Absorptionsspektralanalyse gut bekannt; die Anwendung auf mikroskopische Verhältnisse, die mit der Konstruktion von Reflexions-Mikroskop-Objektiven überhaupt erst möglich wurde, zeigt Abb. 7.

Schließlich wird das Spektrogramm photographisch aufgefangen; am einfachsten gelingt das mit der Kleinbildkamera, bei der auf einem Mattscheibenadapter zunächst (bei weitem Eingangsspalt) auf Schärfe

des Bildes und dann (bei sehr engem Eingangsspalt) auf Schärfe der Emissionslinien eingestellt wird. Erfahrungsgemäß treten Absorptionsphänomene im Spektrogramm, jedenfalls bei einer Strahlungsquelle mit relativ wenigen Emissionslinien, deutlicher in Erscheinung, wenn der Eingangsspalt des Spektrographen nicht zu eng zugezogen wird, obwohl dann eine völlige Homogenität innerhalb der einzelnen Linien nicht zustande kommen kann. Es erscheinen vielmehr reelle Bilder des

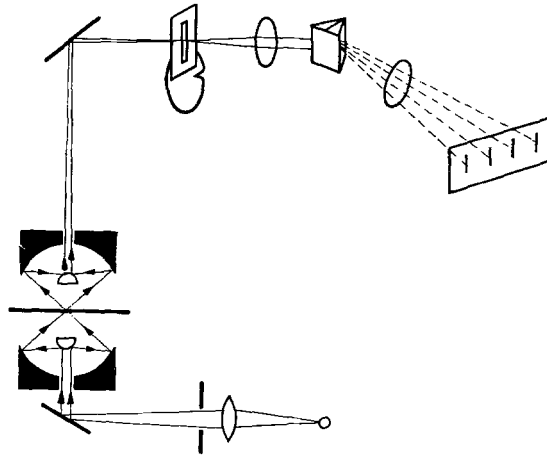


Abb. 7. Schematische Darstellung der UV-Absorptionsmessung mit Hilfe von Spiegelmikroskop und Prismenspektrograph (aus BARER-HOLIDAY-JOPE). Man sieht unten rechts die Lichtquelle. Die (polychromatische) UV-Strahlung gelangt nach links in ein Reflexionsmikroskop, das 2 identische Spiegelsysteme als Kondensor und Objektiv besitzt. Der in den Eingangsspalt des Prismenspektrographen projizierte Ausschnitt aus dem histologischen Präparat wird nach Passage eines logarithmisch geteilten rotierenden Sektors spektral zerlegt.

Objektausschnittes innerhalb der Spektrallinien. Ein Wert von 0,1 bis 0,2 mm für die Breite des Eingangsspalt es ist z. B. gut brauchbar. Diese Technik hat sich auch BARER als zweckmäßig erwiesen; sie ist in der Astronomie seit langem üblich (vgl. dazu DIMITROFF und BAKER); die Möglichkeit ihrer Anwendung ist einer der Vorteile, den das Linienspektrum der Quecksilber-Hochdrucklampe vor dem Kontinuum der Wasserstoff-Hochdrucklampe bietet. Aus der Aufnahmekamera muß selbstverständlich das Objektiv entfernt werden (vgl. dazu die Arbeiten von GÖRLICH und KATZ und von STRAUB); sie wird in der Weise geringgradig gegen die optische Achse geneigt, daß der Teil des Filmbildchens, auf den die stärker abgelenkten kurzwelligeren UV-Strahlen gelangen, dem Spektrographenprisma näher gelegen ist als der Rest des Filmbildes. Als Aufnahmematerial genügt ein gewöhnlicher dünnschichtiger 17/10<sup>0</sup> DIN-Schwarzweißfilm, der etwa mit Rodinal 1:40 entwickelt wird, völlig; kontrastreicheres Repromaterial ist zu unempfindlich. Auf dem

Agfacolor-Umkehrfilm werden die UV-Linien gleichmäßig dunkelblau wiedergegeben, auf dem Negativfarbfilm hellgelb.

Zum Schluß muß noch erwähnt werden, daß sich die Registrierung der Mikrospektrogramme ebenso wie die der Mikrophotogramme auch ohne photographische Aufnahme, nämlich unmittelbar photoelektrisch, bewerkstelligen läßt. Dies Verfahren wird vorzugsweise im infraroten Spektralbereich geübt.

Zur Ermittlung des Absorptionsdiagramms aus den Spektrallinien verschiedener Spektren können wiederum mehrere Methoden verwendet werden. Ein Teil von ihnen beruht im Prinzip darauf, das Meßspektrum und das Bezugsspektrum — bei jeder Linie — in ihrer Helligkeit so einander anzugleichen, daß homologe Linienpaare gleichen Schwärzungsgrades aufgefunden werden können. Aus dem Grad der dazu erforderlich gewesenenen Lichtschwächung des einen Spektrums, meist des Bezugsspektrums, läßt sich dann leicht die Relation der Schwärzungsintensitäten aller gewünschten Linienpaare berechnen.

1. Die klassische Anordnung (der Spektrographie von Lösungen) arbeitete mit zahlreichen, einfachen Spektren von gesetzmäßig abgestuften Schichtdicken des absorbierenden Substrates, d. h. mit einem Satz verschieden tiefer Cuvetten. Bei der Spektrophotometrie und Spektrographie am histologischen Gewebeschnitt besteht die Möglichkeit des Gebrauches von abgestuften Konzentrationen oder Schichtdicken allerdings nicht.

2. Das zweite Verfahren ist in gewisser Weise ähnlich; es werden aber nicht die Konzentrationen oder Schichtdicken, sondern die Belichtungszeiten variiert. Damit ist dieses Verfahren, das ursprünglich auf HENRI zurückgeht, prinzipiell auch für Analysen am histologischen Präparat geeignet. Praktisch geht man so vor, daß zunächst vom Substrat *ein* einzelnes Spektrum aufgenommen wird. Die Bezugsspektren (Vergleichsspektren) werden von einer optisch „leeren“ Stelle des histologischen Präparates aufgenommen und enthalten also die optischen Eigenschaften des passierten Objektträgers, Einschlußmediums und Deckglases, die sich ebenfalls im Strahlengang des Spiegelmikroskops befinden, um damit jede Möglichkeit einer Fremddabsorption auszuschalten; sie werden mit abgestuften und meist verkürzten Expositionszeiten belichtet. Dann werden homologe Linien gleicher Schwärzung (auf Schwarzweißfilm) oder Linien gleicher Helligkeit und Farbtönung (auf Colorfilm) aufgesucht. Ihre Auswertung ist unter Berücksichtigung der Relation der Expositionswerte einfach. Es hat sich als zweckmäßig erwiesen, die Filmbildchen nach der Entwicklung zu zerschneiden und das Versuchsspektrum und die Bezugsspektren untereinander zu montieren. Eine derartige, für photometrische Auswertung bestimmte Montage zeigt Abb. 9.

3. Die genannten beiden Verfahren sind jetzt zugunsten der Aufnahme von Doppelspektren (Abb. 8) verlassen worden, von denen das Bezugsspektrum durch das auf einen gewünschten Bruchteil physikalisch geschwächte Licht erzeugt wird. Zur Lichtschwächung können rotierende Sektorenblenden oder Raster benutzt werden; Graukeile haben sich nicht bewährt. Man denkt sich das Einzelfilmbild der Länge nach in 2 Hälften geteilt; auf die eine Hälfte wird das Spektrum des Substrates, auf die andere das Bezugsspektrum projiziert. Die Struktureinzelheiten im histologischen Präparat werden in diesem Fall rechteckig und relativ schmal ausgeblendet, wobei das zu messende Detail unmittelbar neben eine optisch leere



Stelle zu liegen kommt, die das Bezugsspektrum liefert. Die hier benutzten Reflexionssysteme erlauben, die Größe des ausgeblendeten Feldes bis auf etwa  $10\mu \times 0,2\text{ mm}$  zu reduzieren. Der rotierende Sektor von SCHEIBE hat die Auswertung von Emissions- und Absorptionsspektrogrammen so wesentlich erleichtert, daß sie der Beurteilung der Gleichheit der Schwärzung der Partner eines GERLACH-SCHWEITZERSchen Linienpaares überlegen ist. Wenn das Bezugsspektrum durch den rotierenden Sektor beispielsweise auf 10% geschwächt wurde und dann Linien gleicher Helligkeit aufgesucht werden, dann entspricht die gewonnene Kurve unmittelbar einer Absorption von 90% des Lichtes der betreffenden Wellenlänge. Die Genauigkeit beträgt etwa 5—10%.

4. Sehr exakt kann das Absorptionsdiagramm schließlich mit Hilfe eines selbstregistrierenden Spektrallinienphotometers (SIEGBAHN-Photometers) ermittelt werden. Auf damit zusammenhängende Fragen kann hier nicht eingegangen werden.

5. Am Rande zu erwähnen ist endlich noch die kontinuierliche, selbstregistrierende Aufzeichnung von Schwärzungskurven auf optischem Wege, wie sie MICHLI in Anlehnung an die Zylinderlinsenmethode von LONGSWORTH und PHILPOT angegeben hat (vgl. dazu die Arbeiten des Verf. 1950a, b; 1952d).

Zusammenfassend kann man sagen, daß eine ganze Reihe von Verfahren existieren, um mit befriedigender Genauigkeit die Extinktionsverhältnisse von nur mikroskopisch erfaßbaren Struktureinzelheiten zu bestimmen, und zwar in mehr oder weniger eng gelegten Meßpunkten des sichtbaren Lichtes und der nicht sichtbaren elektromagnetischen Strahlung. Die gegenwärtig benutzten Geräte für derartige Messungen sind höchst umfangreiche und kostspielige Apparaturen; sie beruhen meist auf dem Prinzip der direkten photoelektrischen Anzeige oder zumindest der photoelektrischen Auswertung von Photogrammen oder Spektrogrammen und sind relativ bequem in ihrer Anwendung. Die rein photographische Absorptionsmessung und ihre rechnerische Auswertung nach dem Prinzip der abgestuften Belichtungszeiten sind in der Praxis umständlich, aber kaum weniger exakt als die photoelektrischen Methoden. Sie bedürfen nicht des außerordentlichen apparativen Aufwandes der UV-Mikrospektrophotometrie. Die vorliegende Arbeit soll überhaupt zeigen, daß es möglich ist, mit relativ einfachen Mitteln ein Arbeitsgebiet anzugehen, das an sich beträchtliche technische Voraussetzungen erfordert, und, wenn man die Ergebnisse kritisch auswertet, zu beinahe ebenso exakten Resultaten zu kommen wie auf dem anderen Weg. Wesentlich ist bei allen derartigen Improvisationen, die Grenzen der Leistungsfähigkeit der Geräte nicht zu überschreiten. Während der Meßvorgänge selbst kann sich das Gefühl dafür verlieren, da sich das Überschreiten der kritischen Grenze in der Art der Registrierung der Meßwerte in der Regel nicht von selbst offenbart.

Bei den optischen Geräten, insbesondere den Reflexionsobjektiven, die für die vorliegenden Untersuchungen benutzt wurden, handelt es sich keineswegs um Instrumente, die alle Wünsche bezüglich der Güte der optischen Abbildung befriedigen können. Bei der Konstruktion dieser Systeme ergab sich von selbst, daß auch die Fehlerbreiten bestimmt

werden mußten, die das Auflösungsvermögen dieser Objektive begrenzen. Bei Kenntnis dieser Größen war es demnach leicht, nur Substrate von solchen Dimensionen zu untersuchen, die sicher innerhalb der Toleranzgrenzen lagen. In der Praxis dieser Arbeit hieß das, daß nur solche Details der Struktur der Absorptionsmessung zugrunde gelegt wurden, deren Dimensionen *mit Sicherheit um etwa 1 Zehnerpotenz höher lagen als das rechnerisch und empirisch bestimmte Auflösungsvermögen dieser Reflexionsobjektive* zugelassen hätte. Es entfielen damit letzten Endes alle diejenigen Überlegungen und Rechenvorgänge, die CASPERSSON anwenden mußte, um seine UV-Apparatur bis an die Grenze ihrer Leistungsfähigkeit ausnutzen zu können.

Nach CASPERSSON handelt es sich darum, daß die letzte Genauigkeit eines mikrospektrophotometrischen oder mikrospektrographischen Meßvorganges nur gewährleistet sein kann, wenn die Bedingungen der förderlichen optischen Abbildung erfüllt sind. Ganz allgemein gilt also, daß bei der UV-Mikrospektrographie die gleichen Anforderungen an das Auflösungsvermögen und demnach an die numerische Apertur des Mikroskopobjektivs gestellt werden müssen wie bei der unmittelbaren bildlichen mikroskopischen Darstellung, und zwar gerade deshalb, weil eine Nichterfüllung dieser Bedingung nicht gleich ebenso sinnfällig zum Ausdruck kommt wie bei der Mikrophotographie. Das kleinste Detail einer mikroskopischen Struktur, dessen Absorption überhaupt gemessen werden kann, muß nach CASPERSSON mindestens 3—4mal größer sein als die Wellenlänge der Strahlung, bei der die Messung ausgeführt wird. Die ausführliche Behandlung der Frage des Zusammenhangs zwischen den optischen Eigenschaften sowohl des Mikroskops wie auch des Objekts selber und der Verwertbarkeit der Extinktionswerte ist in den Arbeiten von CASPERSSON 1936 und 1950 nachzulesen. Rechnungen, die sich besonders mit der optimalen Ausleuchtung des Eingangsspaltbes beschäftigen, finden sich bei LOOFBOUROW. Bezüglich anderer Einzelheiten vgl. auch HÖFERT und METCALF.

Abb. 8 zeigt die Verhältnisse bei der serösen Entzündung nach Ablauf von etwa 10 Std. Es handelt sich hier um die Aufnahme eines sog. Doppelspektrums, auf dem man oben das (Absorptions-) Spektrum des Substrates, d. h. das Emissionsspektrum der Strahlungsquelle abzüglich der Absorption im Substrat, und unten das reine Emissionsspektrum als Kontrolle sieht. Bei den dargestellten Emissionslinien einer Quecksilberdampfhochdrucklampe handelt es sich, von rechts nach links, um folgende: Im sichtbaren Licht zunächst die 2 eng zusammenliegenden Linien  $5770 \text{ \AA} + 5790 \text{ \AA}$  (orange) und  $5461 \text{ \AA}$  (grün) und die blaue Linie  $4358 \text{ \AA}$ . Dann folgen im UV die hier nicht auflösbare Doppelinie  $4047 \text{ \AA} + 4078 \text{ \AA}$ , die sehr starke Linie  $3650 \text{ \AA} + 3663 \text{ \AA}$ , in etwas weiterem Abstand und schwächer  $3341 \text{ \AA}$ , das wieder verhältnismäßig

kräftige Duplet  $3126 \text{ \AA} + 3132 \text{ \AA}$ , die beiden schwächeren Linien  $3020 \text{ \AA}$  und  $2967 \text{ \AA}$ , dann die schwachen, aber noch gut erkennbaren Linien  $2894 \text{ \AA}$  und  $2804 \text{ \AA}$ , bei denen bereits eine deutliche Absorption eingesetzt hat, die schwachen Linien  $2753 \text{ \AA}$  und  $2652 \text{ \AA}$  und die wiederum kräftige Linie  $2537 \text{ \AA}$ , teilweise in Selbstumkehr. Den Abschluß zum kürzesten

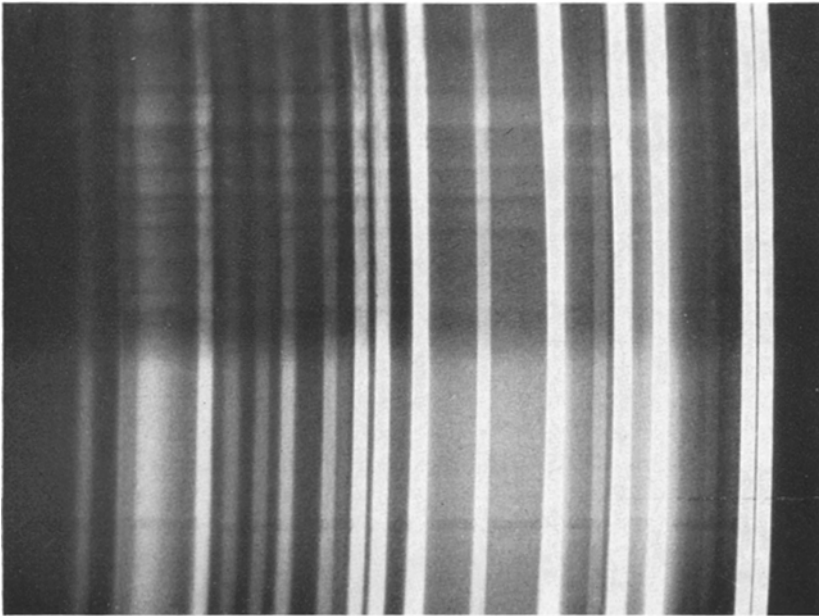


Abb. 8. UV-Mikrospektrogramm vom serösen Exsudat einer 10 Std lang bestehenden experimentellen örtlichen Entzündung (222). Das Spektrogramm wurde von dem entzündlichen Ödem in einem ungefärbten histologischen Schnittpräparat angefertigt. Das Präparat ist das gleiche, von dem das in Abb. 6 wiedergegebene UV-Mikrophotogramm stammt. Das UV-Spektrogramm des unfixierten, in der Mikrocuvette untersuchten Exsudates aus der gleichen Entzündungsphase ist mit diesem Spektrogramm identisch. Bezugsspektrum unten. Aufnahmetechnik: Lanthan-Essigsäure-Fixierung, Paraffinschnitt, Glycerineinbettung. Schnittdicke  $12 \mu$ . Newton-Spiegelobjektiv des Verfassers, Spektrograph der Fa. Steinheil. Adoxfilm KB 17 P. Contax.

UV bildet das Kontinuum bei  $2500 \text{ \AA}$  und eine weitere, noch jenseits davon liegende Emissionslinie.

Für die Auswertung von derartigen spektrographischen Aufnahmen zunächst folgende theoretischen Erläuterungen: Die Intensität der ultravioletten Strahlung, die aus dem Spiegelmikroskop bzw. aus dem Quarzspektrograph austritt und das Ausmaß der Absorption in der histologischen Struktur anzeigt, hängt mit den Veränderungen in der Photoschicht in bestimmter Weise zusammen: Je größer die Lichtmenge, die die Photoschicht erreicht, desto geringer war die Lichtabsorption im histologischen Schnitt und desto intensiver ist die photochemische

Wirkung auf die lichtempfindliche photographische Schicht. Das heißt, daß eine größere Lichtmenge eine stärkere Schwärzung eines silbersalz-haltigen (schwarzweißen) Negativfilms bewirkt. Der Grad der Schwärzung gibt also ein Maß für die Absorption ab, die im histologischen Präparat stattgefunden hat; Schwärzung der Photoschicht und Absorption sind gesetzmäßig miteinander verbunden. Die Auswertung der Absorptionsphänomene im Präparat erstreckt sich also auf die Auswertung von photochemisch bewirkten und durch photographisches Entwickeln und Fixieren nachweisbar gemachten Veränderungen in der Photoemulsion; sie wird wiederum durch Messung der Lichtabsorption in der Photoschicht vorgenommen. Bezeichnet man mit  $I_0$  die auf die entwickelte photographische Schicht auffallende Lichtmenge und mit  $I$  die von der Photoschicht durchgelassene Lichtmenge, so gibt der Bruch  $I:I_0$  direkt an, wieviel Prozent des auffallenden Lichtes durch die Photoschicht hindurchgelassen worden ist. Dieser Bruch hat bei starker Absorption im histologischen Präparat einen *kleinen* Wert und wird, als nicht besonders sinnfällig, nicht als Maß für die Absorption benutzt. Anschaulicher ist, jedenfalls bei Schwarzweißschichten, der reziproke Wert  $I_0:I$ ; dieser Wert ist groß, wenn die durchgelassene Lichtmenge  $I$  klein ist, d. h. also, wenn auch die Durchlässigkeit eines bestimmten Areals des histologischen Schnittes für Licht klein, oder — anders ausgedrückt — wenn die Lichtabsorption im histologischen Schnitt groß war. Da der Vorgang der Absorption durch eine Exponentialgleichung mathematisch formuliert ist, hat R. BUNSEN

$$\log \frac{I_0}{I} = E$$

als „Extinktion“ definiert; bei starker Absorption im Präparat ist auch deren Maß  $E$  groß, bei schwacher klein. Umgekehrt sind die Verhältnisse bei dem hier gelegentlich benutzten Agfacolor-Umkehrfilm, dessen Schicht direkt zum Positiv entwickelt wird.

Man muß weiterhin berücksichtigen, daß die stets vorhandene Fehlerbreite der technischen Apparatur keineswegs (bezüglich günstiger Toleranzwerte) in ihrem ganzen Meßbereich gilt, sondern nur in einigen optimal gelagerten mittleren Bereichen. Der endlich resultierende relative analytische Fehler hängt nach RINGBOM und GLICK-ENGSTRÖM-MALMSTRÖM nämlich in beträchtlichem Maße davon ab, welche Größe die Absorptionsmeßwerte im aktuellen Fall haben (vgl. dazu auch COMMONER, COLE, ROBINSON). Beispielsweise erhält man überhaupt nur zwischen 40 und 60% Absorption, d. h. zwischen 0,2 und 0,7 Extinktion, einigermaßen brauchbare Ergebnisse, deren Unschärfe etwa 3% beträgt, wenn die Toleranz des Gerätes höchstens 1% war. Bei einer Absorption von <40% oder >80% nimmt die Ungenauigkeit rasch

zu, besonders bei den Absorptionswerten von über 80%. Es ist dann notwendig, die Schichtdicken des Substrates, d. h. die Schnittdicken des histologischen Präparates so zu wählen, daß die Werte im angegebenen Rahmen bleiben.

Im allgemeinen wird zwar angenommen, daß die Lichtabsorption durch ein in sich homogenes Medium proportional dessen optisch wirksamer Dicke sei. Das gilt aber nur in gewisser Annäherung und nur bei sehr dünnen Schichten. Wenn man sich nämlich nach JOOS-KALUZA eine solche lichtabsorbierende Schicht in sehr zahlreiche, dünne, planparallele Schichten zerlegt denkt, dann schwächen zwar alle Schichten das Licht um den gleichen Prozentsatz. Da aber das Licht, das auf die hinteren Schichten fällt, bereits durch die vorderen Schichten geschwächt ist, absorbieren die hinteren Schichten, wenn auch den gleichen Bruchteil, so doch *absolut* weniger Licht. Die Lichtabsorption ist also bei dickeren Schichten geringer, als nach der vermuteten Proportionalität zwischen Schichtdicke und Absorption ursprünglich zu erwarten gewesen wäre.

Voraussetzung für die Photometrie von Photoschichten ist, daß die Schwärzungen oder Helligkeiten der in Frage kommenden Linien, einfach ausgedrückt, nicht zu stark und nicht zu schwach sind, daß sie also im geradlinigen, mittleren Teil der sog. typischen Schwärzungskurve liegen, damit die Schwärzungsdifferenz von der Höhe der Schwärzung unabhängig ist. Unter der typischen Schwärzungskurve versteht man eine bei allen bisher untersuchten Photoschichten und bei allen Arten von Licht gleiche Kurve, die man erhält, wenn die Logarithmen der Lichtmengen als Abszisse und die Schwärzungsgrade der Photoschicht als Ordinate in einem Koordinatennetz aufgetragen werden. Die Kurve verläuft etwa S-förmig und ist nur in ihrem mittleren Teil ungefähr linear. Die Auswertbarkeit der Kurve beginnt bei einem Wert  $s = 1$ , wobei  $s = 1$  nach der Formel  $s = \log(I_0:I)$  als *die* Schwärzung definiert ist, die gerade 10% des auffallenden Lichtes durchgelassen hat. Die Möglichkeit der Auswertung endet bei etwa  $s = 2$ , das 1% Durchlaß entspricht. Bei dem silber- und schwärzungsfreien Colorfilm ist eine ähnliche Rechnung bisher nicht bekannt; die Verhältnisse müßten hier ähnliche sein.

Aus den verschiedenen zeitlichen Phasen der experimentellen örtlichen Entzündung wurden nun zahlreiche UV-Mikrospektrogramme angefertigt, von denen die meisten Doppelspektren in der Art der Abb. 8 waren. Es ergab sich, daß alle Spektrogramme im Prinzip gleichartig waren. Schon im entzündlichen Ödem aus einer nur 1½ Std bestehenden experimentellen serösen Entzündung traten typische UV-Absorptionsphänomene in Erscheinung; nach 3 Std, 7 Std, 10 Std und 24 Std waren sie qualitativ nicht anders. Nur nahm das Ausmaß der UV-Absorption,

also die Höhe der Extinktionskurve über der Abszisse, allmählich zu; im Exsudat der 48 Std alten Entzündung war die UV-Extinktion am stärksten ausgesprochen, aber qualitativ gleichartig den früheren Phasen. Die Auswertung der Spektrogramme kann, wenn ein Spektrallinienphotometer nicht zur Verfügung steht, leicht nach der Methode von HENRI vorgenommen werden. Die erhaltenen Absorptionsdiagramme bestätigten die schon im vorhergehenden Kapitel „UV-Mikrophotographie“ erhobenen Befunde, daß nämlich die Form der Diagramme den Extinktionsdiagrammen von Polypeptiden oder Eiweißkörpern bzw. den darin enthaltenen aromatischen Aminosäuren entspricht.

Die bisher geschilderten Ergebnisse, soweit sie sich mit der gewöhnlichen Hellfeldmikroskopie, der UV-Mikrophotographie und der UV-Mikrospektrographie erhalten ließen, kann man in Kürze folgendermaßen beschreiben: Wenn im Tierversuch durch Dichlordiäthylsulfid eine Entzündung im Unterhautbindegewebe hervorgerufen wird, dann tritt im Zentrum des Entzündungsherdes zunächst ein rein seröses entzündliches Ödem in Erscheinung. Erst nach etwa 5 Std folgt eine zellige Reaktion. Das seröse Exsudat ist völlig frei von Zellen und mit histologischen Färbemethoden nicht als eine Ausschwitzung von besonderem Charakter zu erkennen, insbesondere ist die Fibrinfärbung nach WEIGERT noch negativ. Erst die dann einsetzende leukocytaire Infiltration und die schädigende Wirkung des entzündlichen Ödems auf das Parenchym lassen darauf schließen, daß es sich um ein typisches *entzündliches Ödem*, das Merkmal der serösen Entzündung, gehandelt hatte. Dieses entzündliche Ödem hat nun aber eine andere, mehr oder weniger spezifische und — bei dieser Versuchsanordnung — auf eine seröse Entzündung hinweisende Eigenschaft, die sich mit optischen Mitteln nachweisen läßt: *es absorbiert, wie man ultraviolett-mikrophotographisch und ultraviolett-mikrospektrographisch erfassen kann, UV-Strahlung zwischen 2500 Å und 2894 Å in charakteristischer Weise*. Dieses Ergebnis läßt daran denken, daß zu einem bestimmten Zeitpunkt im entzündlichen Ödem ein bestimmter chemischer Körper auftreten oder ein bestimmter Aggregatzustand eintreten muß, der dem entzündlichen Ödem diese optischen Eigenschaften verleiht. Damit ist ein grundsätzlicher Unterschied gegenüber dem akuten und ebenso auch gegenüber dem chronischen (mechanisch bedingten) Stauungsödem gegeben. Besonders bemerkenswert ist, daß sich die für das entzündliche Ödem relativ charakteristische UV-Absorption schon sehr frühzeitig nachweisen läßt. Sie war bereits nach 1½ Std, im frühesten dazu entnommenen Entzündungsherd, vorhanden. Um nun die noch früheren Phasen der serösen Entzündung erfassen zu können, mußte dazu übergegangen werden, das Ödem nicht aus dem Entzündungsherd selbst, sondern aus seiner unmittelbaren Nachbarschaft zu untersuchen. Das ist aus prinzipiellen Gründen nur am histo-

logischen Schnitt, nicht in vitro, möglich und wurde oben bereits ausführlich besprochen.

In welcher Weise dieser fragliche ultraviolett-absorbierende Körper mit dem entzündungsauslösenden Agens zusammenhängt, dafür könnten folgende Möglichkeiten in Frage kommen: 1. Gegen die Annahme, daß es sich unmittelbar um Lost selbst handelt, spricht folgendes: Die UV-

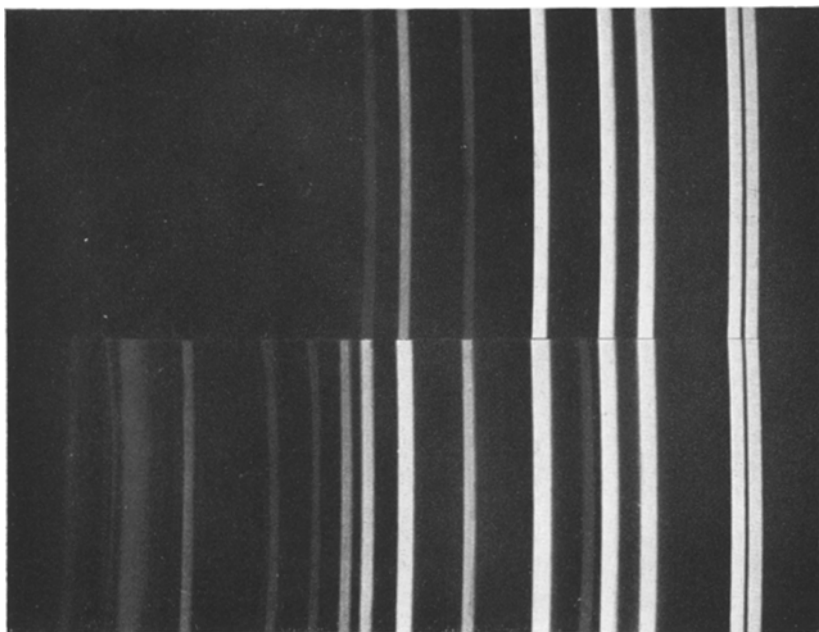


Abb. 9. Absorptionsmikrospektrogramm von reinem Dichlordiäthylsulfid bei Durchstrahlung mit der Quecksilberhochdrucklampe H QE 42. Bezugsspektrum unten. Man erkennt, daß sehr starke UV-Absorption im kurzwelligen Ultraviolett (links), unterhalb von etwa  $\lambda = 2900 \text{ \AA}$ , eingetreten ist. Aufnahmetechnik: Spiegelsystem wie in Abb. 3, Steinheil-Quarzspektrograph.

Absorption von reinem Lost liegt nach den Messungen des Verfassers zwar auch unterhalb von  $2900 \text{ \AA}$  (Abb. 9); der Verlauf der Extinktionskurve ist aber ein anderer. Die Kurve geht bei etwa  $2800 \text{ \AA}$  sogleich hoch, ohne die Einsattelung zu zeigen, die für cyclische Aminosäuren charakteristisch ist. Außerdem darf man annehmen, daß das injizierte Dichlordiäthylsulfid, wenn es so innig mit dem Gewebe in Berührung kommt wie hier, rasch in Thiodiglykol und Salzsäure gespalten wird; sollte es so rasch nicht gespalten werden, dann müßte das Ausmaß der UV-Extinktion (jedenfalls bei zunächst gleichbleibender Form der Kurve) allmählich abnehmen. Das war aber nicht der Fall. Die UV-Extinktion, und zwar die Extinktion mit einem für Eiweiße bzw. für cyclische Aminosäuren charakteristischen Diagrammverlauf, nahm vom  $1\frac{1}{2}$  Std-Stadium

an langsam zu. Außerdem wurde die biologische Wirksamkeit der Ödemflüssigkeit, wie unten noch ausgeführt wird, mit zunehmendem Alter der serösen Entzündung geringer; dem serösen Exsudat haben sich immer mehr Eiweiße beigemischt, die nicht als eigentlich wirksame Komponenten angesehen werden können. Endlich spricht auch die Art der Wanderung im elektrischen Feld für die Eiweißnatur des fraglichen Körpers und ebenso die Anfärbbarkeit auf dem Papierelektropherogramm mit Neucoccin, die der anderer Eiweißkörper entsprach. Über die Möglichkeit einer Eiweißkomplexbildung siehe unten!

Für die ultraviolett-spektrographische Analyse wurde eine kleine Menge Dichlordiäthylsulfid in etwa 0,5 mm Schichtdicke auf einen Quarzobjektträger gebracht und, wie beschrieben, eine Serie von UV-Mikrospektrogrammen aufgenommen. Um bei dem relativ hohen Brechungsindex von  $n_D = 1,53$  für reines Lost keinen Verlust an Strahlung zu erhalten, der fälschlicherweise eine Absorption vortäuschen könnte, wurden in diesem Fall keine Doppelspektren aufgenommen, sondern die Bezugsspektren nachträglich mit gleichen Expositionszeiten auf den gleichen Film photographiert und zusammen montiert. Das Ergebnis zeigt Abb. 9.

2. Zweitens könnte Dichlordiäthylsulfid unmittelbar mit dem Gewebe-eiweiß eine Komplexverbindung eingegangen sein. Die UV-Absorptionseigenschaften dieser Komplexverbindung würden den hier aufgefundenen Extinktionswerten der Ödemflüssigkeit ganz weitgehend entsprechen, da die Extinktionswerte für Eiweißkörper im allgemeinen gleiche sind. Die Bildung eines Lost-Eiweißkomplexes hatte schon WEIDNER angenommen. Gegen die Annahme einer solchen Komplexverbindung spricht aber die Tatsache, daß die UV-Extinktion im Laufe der serösen Entzündung zunimmt und sprechen auch die Ergebnisse der Messungen von Viskosität, Brechungsindex, optischer Drehung, Trübung, Gehalt an freiem Amino-N und des  $p_H$  von LANG.

In den folgenden Kapiteln wird über die *elektrophoretische Analyse der Ödemflüssigkeit* und über die Prüfung ihrer biologischen Wirksamkeit berichtet. Für die Prüfung auf biologische Wirksamkeit wurde auf 2 Wegen vorgegangen. Erstens handelte es sich um die Frage, ob die ultraviolett-absorbierende Komponente im serös-entzündlichen Exsudat nur ein Begleitprodukt sei, d. h. ob das entzündliche Exsudat aus der Phase, in der im Exsudat UV-Absorption eintritt, mehr eine Nebenerscheinung im Ablauf der serösen Entzündung darstellt — oder ob die Ödemflüssigkeit selbst gewissermaßen eine Voraussetzung dafür ist, die von sich aus die zeitlich dann folgenden Prozesse überhaupt erst bedingt. Es fragt sich also, ob der *primäre Reiz, der das Gewebe getroffen hat, in den Zellen soweit nachwirkt, daß von dort aus auch die späteren Phasen der Entzündung bewirkt werden, oder ob das entzündliche Ödem in dieser Kausalkette*



ein Glied darstellt, ohne das die späteren Phasen nicht ablaufen können. Wenn diese Alternative zugunsten des zweiten Punktes entschieden wäre, dann würde es sich um das Problem handeln, den für diesen Vermittler-vorgang verantwortlichen chemischen Körper, wenn möglich, zu isolieren.

Aus den Untersuchungen von MENKIN und Mitarbeitern und von O. WESTPHAL und Mitarbeitern ist nun an sich längst bekannt, daß tatsächlich einzelne chemische Substanzen für diese Vermittlerrolle in Frage kommen. Nach MENKIN ist es sogar so, daß der relativ uniforme Ablauf von Entzündungsprozessen nach einem äußeren Reiz dadurch zu erklären ist, daß auch bei differenten äußeren Reizen stets nur eine begrenzte Anzahl von (sekundären) Wirkstoffen in Funktion tritt, die die weiteren Phänomene auslösen. Damit ist allerdings nicht erklärt, warum je nach dem äußeren Reiz (Hitze, Kälte, Strahlen, Erreger der verschiedensten Art) einmal eine seröse, einmal eine eitrige und einmal eine hämorrhagische Entzündung zustande kommt. Die Analysen von MENKIN erstreckten sich bislang nur auf wenig unterschiedliche Formen experimenteller Entzündungen. Mit der Isolierung der in der Einleitung aufgezählten Wirkstoffe hat MENKIN gewissermaßen auf das *Gemeinsame* in den vielen möglichen Formen von Entzündungen hingewiesen; es fehlt eine Analyse der Wirkstoffe, die nun gerade das *Verschiedenartige* der einzelnen Entzündungsformen bedingen, das pathologisch-anatomisch gut bekannt ist. Die Untersuchungen von WESTPHAL erstrecken sich demgegenüber vor allem auf die primären (bakteriellen) Reizstoffe, die am Anfang der ganzen Reaktionskette stehen. Vielleicht könnten von hier aus die Faktoren bestimmt werden, die einzelne Entzündungsabläufe in bestimmter Form modifizieren. Klar erscheint jedenfalls schon, daß der Unterschied, ob eine umschriebene *örtliche* Entzündung oder eine Entzündung mit ausgeprägten *Allgemeinerscheinungen* zustande kommt, *nicht* auf generellen Unterschieden im Charakter dieser Wirkstoffe beruht, sondern im Auftreten von zusätzlich wirkenden Körpern, beispielsweise von Hyaluronidase (WESTPHAL, KEIDERLING und WESTPHAL; vgl. auch R. L. MAYER).

Auch die vorliegende Studie kann zu der Frage, wie die spezifischen Charaktere einzelner Entzündungsformen zustande kommen, keinen Beitrag liefern; denn, wie ausgeführt, handelt es sich hier um Untersuchungen, die mit einer ganz bestimmten Versuchstechnik unternommen wurden und die zu gleichbleibend reproduzierbaren, also uniformen, Ergebnissen geführt haben, aus denen zunächst keine Allgemeingültigkeit für andere Entzündungsformen abgeleitet werden kann.

Für die Bestimmung der biologischen Wirksamkeit wurde folgendermaßen verfahren: Die Ödemflüssigkeit, die sogleich nach der Entnahme aus dem Gewebe bei  $-30^{\circ}$  C eingefroren und einige Tage, mindestens aber 24 Std bei dieser Temperatur belassen wurde, wurde zum Teil im ganzen, also ohne Fraktionierung, Mäusen

subcutan an der Außenseite eines Oberschenkels eingespritzt. Für diese Versuche, einschließlich der Kontrollen, dienten insgesamt 30 Mäuse von durchschnittlich 25 g Gewicht. Das betroffene Gewebe wurde in verschiedenen Zeitabständen, zwischen 12 Std und 4 Tagen, nach Tötung der Tiere in Narkose, entnommen, in 10%igem Formol fixiert, in Paraffin eingebettet und mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Es zeigte sich, daß die Extrakte aus den einzelnen Phasen der experimentellen örtlichen Entzündung von durchaus verschiedener biologischer Wirksamkeit waren. Die Extrakte für diese Testversuche stammten in erster Linie von den Kaninchen, bei denen der entzündliche Prozeß 3, 5, 7, 10, 24 und 48 Std lang im Gange war. Allgemein trat bei den Testtieren nach Ablauf von 10 Std eine mehr oder weniger starke Schwellung an der Injektionsstelle auf, die die Tiere in ihrem Allgemeinbefinden offenbar nicht behinderte. Nach 2 Tagen war äußerlich kaum noch eine Veränderung zu sehen, mit Ausnahme der Mäuse, die die Ödemflüssigkeit aus der 3 Std bestehenden experimentellen Entzündung erhalten hatten. Bei diesen Mäusen verliefen alle Erscheinungen schwerer als bei den anderen Tieren; bei den Kontrolltieren, die physiologische NaCl-Lösung injiziert erhalten hatten, entwickelten sich überhaupt keine Veränderungen.

Zur histologischen Untersuchung kamen Gewebeproben dieser Mäuse, die nach Ablauf von 12 Std, 24 Std, 2 Tagen, 3 Tagen und von 5 Tagen entnommen waren. Es ergab sich, daß bei allen Tieren, mit Ausnahme der Kontrollen, die Kochsalzlösung erhalten hatten, *geringfügige* entzündliche Veränderungen an der Injektionsstelle aufgetreten waren. Die Injektionsstelle selbst wurde vorher durch Betupfen mit einem Farbstoff kenntlich gemacht. Es fanden sich hyperämische Gefäße, geringgradige ödematöse Verquellungen des subcutanen Bindegewebes und, bei den nach 24 Std und später entnommenen Gewebeproben, im ganzen geringgradige leukocytaire Infiltrate um die Gefäße herum. Auf die Wiedergabe der genaueren Versuchsprotokolle darf wohl wiederum verzichtet werden. Wichtig ist nur, daß bei den Versuchstieren, die Extrakt der 3 Std-Entzündung erhalten hatten, auch die histologisch nachweisbaren Veränderungen *wesentlich schwerer* waren. Bei diesen Tieren bestand ein ausgesprochenes, sulziges Ödem des Unterhautbindegewebes vom Charakter der serösen Entzündung. In der Nachbarschaft des eigentlichen Entzündungsherdens waren die Gefäße wiederum stark hyperämisch, einzelne quergeschnittene Muskelfasern waren auseinandergedrängt; offenbar war im Zentrum der Herde eine eiweißreichere Flüssigkeit in das Gewebe eingelagert und perifokal eine eiweißarme Flüssigkeit aus den Gefäßen ausgetreten (Abb. 10). Die Veränderungen nach Injektion der Gesamtextrakte aus den späteren Entzündungsphasen erwiesen sich auch bei der histologischen Kontrolle als wesentlich geringer.

Manches könnte nun zunächst daran denken lassen, daß diese bei den Test-Versuchstieren hervorgerufenen entzündlichen Erscheinungen unmittelbar auf die Wirkung von Dichlordiäthylsulfid zurückgeführt werden könnten. Dagegen sprechen aber, wie oben ausgeführt, erstens die Befunde der UV-Absorptionsmessungen und weiterhin die Ergebnisse der elektrophoretischen Analysen. Außerdem schließt die Tatsache,

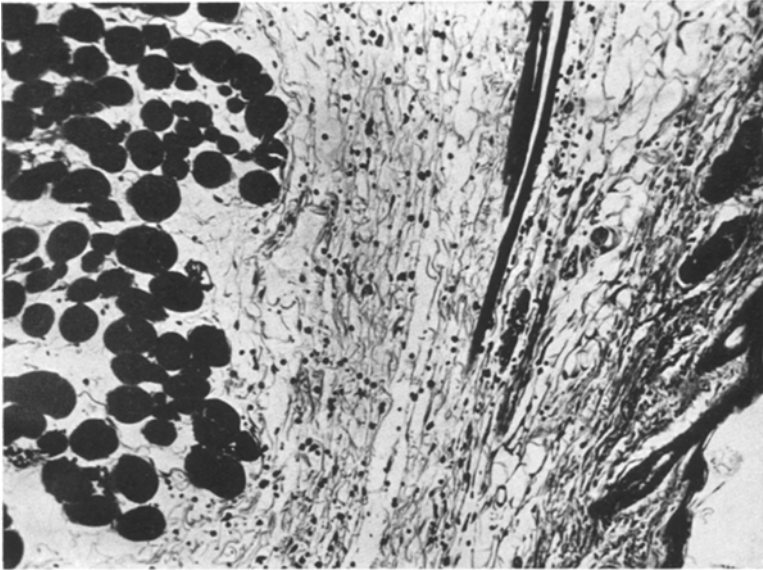


Abb. 10. Unterhautbindegewebe und Muskulatur des Oberschenkels von einer Maus, die 48 Std vorher eine geringe Menge der Ödemflüssigkeit einer 3 Std lang bestehenden serösen Entzündung injiziert erhalten hatte. Man sieht die Verquellung der Bindegewebsfasern durch ein entzündliches Ödem, das im Zentrum des Entzündungsherdes optisch dichter aussieht als in dessen Umgebung, in der es nur zum Auseinanderweichen einzelner, hier quergeschnittener Muskelfasern gekommen ist (links im Bild). Formolfixierung. Paraffinschnitt. H.-E.-Färbung. Zeiß-Winkel-Neofluar 6,3  $\times$ , Photookular 12  $\times$ . Silbereosinplatte, Gelbfilter. Vergrößerung etwa 150fach.

daß gerade die 3 Std-Extrakte die biologisch wirksamsten waren, *nicht* die Annahme aus, daß nicht Dichlordiäthylsulfid, sondern ein sekundärer Wirkstoff für die Entzündungserscheinungen ursächlich verantwortlich ist. Denn, da ja ein jeder entzündliche Prozeß früher oder später spontan zur Abheilung kommt, muß die Menge oder die Wirksamkeit von Entzündungswirkstoffen am größten relativ frühzeitig sein und späterhin absinken.

In einem zweiten Vorgang wurde die Ödemflüssigkeit bei der experimentellen serösen Entzündung nun mit Hilfe der Papierelektrophorese untersucht und in einzelne Fraktionen zerlegt, die man bei dieser Methode der Elektrophorese leicht getrennt erhalten kann.

Es ist hier nicht der Ort, um die sehr zahlreichen Arbeiten anzuführen, die sich mit der Technik der Papierelektrophorese beschäftigen. Während die Papierchromatographie auf der Tatsache beruht, daß die einzelnen Aminosäuren, Zucker und viele andere chemische Substanzen, auf Filterpapier aufgebracht und nach einer oder zwei Richtungen hin „entwickelt“, verschieden schnell wandern und daraus identifiziert werden können, handelt es sich bei der Papierelektrophorese darum, das Stoffgemisch im elektrischen Feld wandern zu lassen. Höhermolekulare Peptide und Eiweißkörper werden dank ihrer unterschiedlichen elektrischen Ladung verschieden schnell mitgeführt. Bezüglich genauerer Arbeitsvorschriften für die Papierelektrophorese sei auf die Arbeiten von TURBA-ENENKEL, CRAMER, H. H. SCHUMACHER, WIELAND, DENT und auf die Vorschrift der Fa. Schleicher & Schüll hingewiesen.

In einem abgeschlossenen Glastrog ist in wasserdampfgesättigter Atmosphäre ein etwa 25 cm langer und 3 cm breiter Streifen Filterpapier 2043b (Schleicher & Schüll) ausgespannt, dessen beide Enden in Veronalnatrium-Natriumacetat-Puffer von MICHAELIS eintauchen. Bei diesem Puffer wird eine aus 5,1 g Natriumacetat (+1,5 H<sub>2</sub>O), 5,9 g Veronal-Natrium und 190 ml CO<sub>2</sub>freiem destilliertem Wasser bestehende Stammlösung mit 80 ml 8,5%iger NaCl-Lösung, 40 ml n/10 HCl und 680 ml Aqua dest. versetzt und damit auf p<sub>H</sub> 8,65 eingestellt. Die p<sub>H</sub>-Werte wurden mit Indicatorlösungen colorimetrisch und mit der Glaselektrode<sup>1</sup> kontrolliert. Der waagerechte mittlere Teil des Streifens ist frei schwebend ausgespannt. Die Ödemflüssigkeit wurde in der Regel ohne vorherige Präparation, zum Teil aber auch im Verhältnis 2:3 mit Pufferlösung verdünnt, strichförmig quer auf das mit Pufferlösung befeuchtete Filterpapier aufgetragen. Wenn eine Gleichspannung von 110 Volt über unpolarisierbare Elektroden an dieseitlichen Tröge angelegt wird, stellt sich zunächst eine Stromstärke von etwa 6,3 mA ein; am Ende der Versuche wurden 11 mA gemessen. Nach 15 Std waren die Fraktionen des Gemisches etwa 3—5<sup>1</sup>/<sub>2</sub> cm weit auseinandergezogen. Die Papierstreifen wurden zum Teil im ganzen mit Neucocin (Agfa) gefärbt, um die Eiweißkörper sichtbar zu machen; zum Teil wurden sie der Länge nach zerschnitten, auf einem der schmalen Streifen die Fraktionen wieder mit Neucocin gefärbt und der korrespondierende, nicht weiter vorbehandelte Streifen dazu benutzt, um einzelne Anteile, die mit den getrennten Eiweißfraktionen beladen waren, herauszuschneiden und mitsamt dem Trägerpapier, also ohne zu eluieren, Ratten subcutan zu implantieren.

Die Färbung mit Neucocin gestaltet sich nach MICHL wie folgt: Das Farbbad enthält 50 ml 96%igen Äthylalkohol, 25 ml Eisessig und 25 ml Wasser und ist mit Neucocin kalt gesättigt. Der Papierstreifen bleibt 5 min im Farbbad, wird 5 min in 96%igem Äthanol gewaschen und gelangt dann für 5—30 min in eine Waschflüssigkeit, die aus 50 ml 96%igem Äthanol, 40 ml Wasser und 10 ml Eisessig besteht. Zum Schluß behandelt man nochmals mit 96%igem Äthanol und trocknet.

Für die elektrophoretische Auftrennung wurde in erster Linie die Ödemflüssigkeit benutzt, die sich bei den Testversuchen als die biologisch wirksamste erwiesen hatte. Das war die Ödemflüssigkeit von der 3 Std bestehenden serösen Entzündung. Das Ergebnis der Papierelektrophorese zeigt Abb. 11. Die Umzeichnung um die photographische Wiedergabe des Papierstreifens in dieser Abbildung kann zunächst unberücksichtigt bleiben. Auf dem Streifen ist links durch eine Linie die Auftragsstelle des Eiweißgemisches markiert worden; nach Einwirkung des elektrischen Stromes ist an diesem Ort keine färbbare Fraktion zurück-

<sup>1</sup> Messungen von Frau Dr. E. MEYER-ARENDT.

geblieben. Ein Abhängen von neucoccin-färbbaren Bestandteilen ohne elektrische Ladung oder eine Denaturierung von Eiweißkörpern, soweit sie an einer Minderung der Beweglichkeit im elektrischen Feld kenntlich würde, ist also nicht eingetreten. Die am weitesten rechts befindliche Fraktion, die also die größte Wanderungsgeschwindigkeit aufweist, färbt sich mit Neucoccin mit Sicherheit am stärksten an; ihre Menge ist demnach, wenn man eine proportionale Abhängigkeit zwischen Substanzmenge und Färbungsintensität unterstellen will, größer als die der anderen Fraktionen. Hinter dieser ersten Fraktion, weiter links, sieht

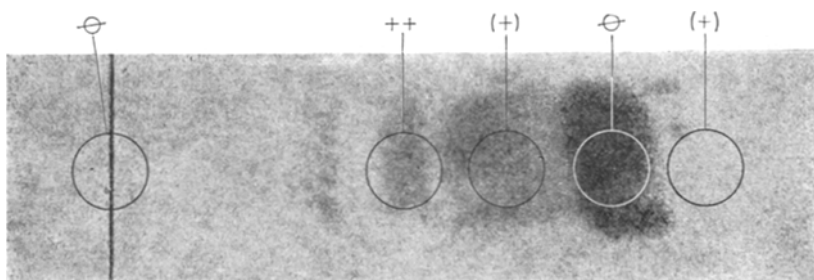


Abb. 11. Papierelektropherogramm der Ödemflüssigkeit von einer 3 Std bestehenden experimentellen serösen Entzündung. Die quantitative Verteilung der Eiweißfraktionen entspricht ungefähr der Zusammensetzung der Serumeiweißkörper. Man erkennt rechts eine rasch wandernde, relativ große Eiweißfraktion, welcher (nach links) mehrere kleine, langsamer wandernde Fraktionen folgen. Ganz links die Auftragstelle des Eiweißgemisches am Beginn des Versuches. Durch eingezeichnete Kreise ist die biologische Wirksamkeit einzelner Fraktionen auf dem Pherogramm, soweit sie an zweiten Versuchstieren getestet wurden, markiert worden. Es bedeuten: ++ sehr deutliches Ödem; (+) geringes Ödem; ⊖ keine Wirkung. Filterpapier SS 2043b. Michaelis-Puffer pH 8,6. Spannung 110 V. Stromstärke ~ 8 mA. Trenndauer 15 Std.

man noch, mehr oder weniger deutlich, 2—4 andere Fraktionen, die durch schwache Anfärbung mit Neucoccin hervortreten.

Dieses Ergebnis der elektrophoretischen Analyse hat sehr große Ähnlichkeit mit der Zusammensetzung der Eiweißkörper des Blutserums, soweit sie sich durch Papierelektrophorese ermitteln läßt. Man könnte demnach die am stärksten vertretene Fraktion, rechts, als Eiweiße vom Typ der Albumine bezeichnen, während die elektrischen Ladungen der dann folgenden Fraktionen den Eigenschaften der verschiedenen Serum-Globuline ähneln würde. Es könnte sich also, sofern man den Ergebnissen der elektrophoretischen Untersuchung folgen will, bei der Ödemflüssigkeit der 3 Std bestehenden serösen Entzündung zunächst einfach um ein eiweißreiches Filtrat der Blutflüssigkeit handeln. Nun ist aber Eiweißreichtum noch kein ausreichendes Kriterium für die Eigentümlichkeiten des entzündlichen Ödems bei der serösen Entzündung. Das heißt, daß, auch wenn die Ödemflüssigkeit bei der serösen Entzündung ganz vorwiegend aus Eiweißkörpern des Blutplasmas bestehen würde, damit noch nicht das charakteristische Merkmal des entzündlichen Ödems gegeben ist.

Es ließe sich einwenden, charakteristisch für das entzündliche Ödem sei bereits die Tatsache, daß überhaupt ein eiweißreiches Filtrat des Blutplasmas durch die Gefäßwände hindurchgetreten sei, denn beim akuten und beim chronischen mechanischen Stauungsödem, deren Ödemflüssigkeiten keine Eiweiß-UV-Extinktion aufweisen, sei das nicht der Fall; das Kriterium für die seröse Entzündung könne daher unmittelbar die abnorme Durchlässigkeit der Gefäßwände sein. Das Problem würde sich damit zu einem Permeabilitätsproblem verschieben. Nun gibt es aber ohne Zweifel pathologisch-anatomische Zustände, Rupturen kleiner Gefäße, Folgen von Luftembolie, auf anderen als entzündlichen Ursachen beruhende Permeabilitätsstörungen von Gefäßen, bei denen sich eiweißreiche Blutflüssigkeit ins Gewebe ergießt. Damit entsteht aber keineswegs schon eine *seröse Entzündung*. Zweitens ist sicher, daß eine seröse Entzündung nicht nur beispielsweise perifokal um einen Bezirk akuter heftiger Entzündung, sondern auch weiter entfernt von diesem Entzündungsherd eintreten kann, und daß sich ein wirksames Agens, das zur serösen Entzündung führt, auch auf weitere Versuchstiere übertragen läßt. Das läßt vermuten, daß es *humorale Mechanismen* sind, die ursächlich eine Rolle spielen und den Entzündungsprozeß *auslösen*. Den *Ablauf* des Prozesses können auch Störungen der Gefäßpermeabilität steuern.

An zweiter Stelle wurden nun die durch Papierelektrophorese gewonnenen Einzelfractionen der Ödemflüssigkeit einzeln an zweiten Versuchstieren auf biologische Wirksamkeit geprüft. Das geschah, wie bereits angedeutet, durch subcutane Implantation von substratbeladenen Stückchen Filterpapier, die nach der elektrophoretischen Trennung einfach aus dem Papierstreifen ausgeschnitten wurden, nachdem man sich an Hand von (gefärbten) Parallelstreifen über die örtliche Verteilung der Substanzen auf dem Filterpapier orientiert hatte. Für diese Testversuche wurden 6 Ratten, denen je 2 Papierstückchen an verschiedenen Stellen implantiert wurden, und 3 Mäuse benutzt. Kontrolltiere erhielten teils ganz unbehandeltes Filterpapier der gleichen Sorte, teils Stückchen aus Filterpapier implantiert, das den Trennungsgang mitgemacht hatte, aber nicht mit Eiweißbestandteilen beladen war. Die Einpflanzung geschah stets in das subcutane Bindegewebe am Rücken der Tiere. Die Tiere wurden zum größeren Teil nach 24 Std, der Rest nach 3 Tagen durch Chloroform getötet. Die ausgeschnittenen Gewebeproben wurden mit Formol fixiert, in Paraffin eingebettet und auf die gebräuchliche Weise histologisch untersucht. Es ergab sich zunächst, daß sich *nach 3 Tagen* am Ort des implantierten Papierstückchens stets ein mehr oder weniger großer eitriger Absceß gebildet hatte, der histologisch aus leukocytär durchsetzten Resten des Filterpapiers und zelligem Detritus, beginnender Demarkation zum Rande hin und aus einzelnen

eitrigen Einschmelzungen in der Umgebung bestand. Diese Veränderungen traten ebenso bei den Kontrollen auf. Eine bakterielle Infektion kann also nicht ausgeschlossen werden. Für die Beurteilung der Wirksamkeit der elektrophoretisch gewonnenen Einzelfractionen waren die Veränderungen nach 24 Std wesentlich besser geeignet.

Während sich bei der nach 3 Tagen eintretenden eitrigen Entzündung und Einschmelzung zwischen der Wirkung der verschiedenen eiweißbeladenen Papierstückchen und der Kontrollen kein Unterschied bemerkbar machte, traten nach 24 Std sehr beträchtliche Differenzen in der Wirksamkeit der einzelnen Eiweißfraktionen in Erscheinung. Ein Teil der Eiweißfraktionen erwies sich als praktisch wirkungslos; bei ihnen kam es nur zu einer sehr geringen ödematösen Aufquellung und leukocyitären Infiltration des Bindegewebes. Auch bei den Kontrollen traten, von uncharakteristischer beginnender Fremdkörperreaktion abgesehen, keine besonderen Erscheinungen auf. Andererseits entstanden aber bei einem Teil der Eiweißfraktionen ganz erhebliche, örtlich auf die Implantationsstelle beschränkte Ödeme. Dabei war es zunächst bemerkenswert, daß diese Ödeme ein anderes Aussehen zeigten als das Ödem, das durch den *Gesamtextrakt* (bei den Mäusen) hervorgerufen wurde. Während dort die Veränderungen recht ähnlichen waren, die primär, bei den Kaninchen und Meerschweinchen, unmittelbar durch Dichlordiäthylsulfid erzielt wurden, war dies bei den Versuchstieren, an denen die einzelnen Eiweißfraktionen getestet wurden, nicht der Fall. Hier trat kein eigentlich sulziges, sondern ein mehr wäßriges, offenbar eiweißarmes, leicht abfließendes Ödem in Erscheinung, das durch 10%iges Formol nur schlecht fixiert wurde.

Die Veränderungen nach 24 Std bestanden demnach nur in zweierlei Reaktionsformen, entweder einem mehr oder weniger deutlichen Ödem der beschriebenen Art oder in dessen Fehlen. Wenn man die an den Testtieren hervorgerufenen Erscheinungen der örtlichen Lage der einzelnen, durch Papierelektrophorese getrennten Fraktionen zuordnet, dann erhält man ein Ergebnis, wie es in Abb. 11 dargestellt ist. Man erkennt, daß die stärkste, zu ausgesprochenem Ödem führende Wirkung offenbar von einer Fraktion ausgeht, die im elektrischen Feld langsamer wandert als die Albumine, und die man mit gewissem Vorbehalt als eine der Globulinfraktionen ansprechen dürfte. Die sog. Albuminfraktion selbst erwies sich als unwirksam. Ebenfalls keine Wirkung hatten Papierstückchen, die von der Auftragstelle des Eiweißgemisches (ganz links) und von einer weit entfernten und überhaupt nicht mit Eiweiß in Berührung gekommenen Stelle herausgeschnitten wurden. Bei dem Effekt, den eine anscheinend noch *vor* den Albuminen wandernde Fraktion zeigte (ganz rechts), könnte es sich um einen Fehler im Versuch gehandelt haben; aber auch eine elektrophoretische

Wanderung beispielsweise direkt von Bakterien läßt sich nicht völlig ausschließen.

Die Veränderungen, die durch Testung der elektrophoretisch erhaltenen Fraktionen an zweiten Versuchstieren hervorgerufen wurden,

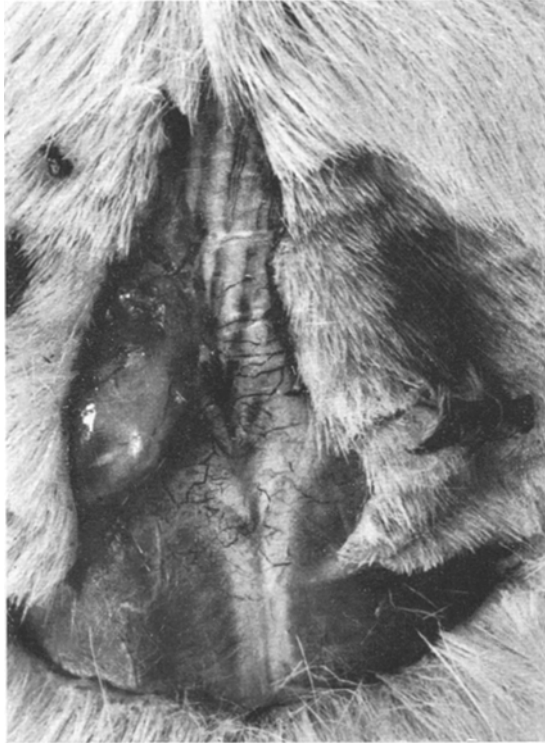


Abb. 12. Örtlich umschriebenes, deutliches Ödem in der Unterhaut des Rückens bei einer Ratte, der 24 Std vorher ein Stückchen Filterpapier implantiert wurde, das mit einem Eiweißkörper mit den elektrischen Wanderungseigenschaften der Globuline beladen war.

Man erkennt links, unter der J-förmig eingeschnittenen Haut, das blasenförmig aufgetriebene, flüssigkeitsreiche Unterhautbindegewebe.

waren teilweise schon makroskopisch deutlich zu sehen. Abb. 12 gibt ein Beispiel von der Wirkung einer offenbar als Globulin wandernden Eiweißfraktion. Es handelt sich um eine 24 Std vorher operierte Ratte, der an der linken Rückenseite ein kleines Stück Filterpapier mit dieser Fraktion implantiert wurde. Abb. 13 zeigt die Verhältnisse im histologischen Präparat.

Es muß hier noch einmal die Frage erörtert werden, ob es sich bei diesem elektrophoretisch abgetrennten wirksamen Bestandteil der Ödemflüssigkeit um Dichlordiäthylsulfid handeln könne. Die Beobachtung, daß der wirksame Bestandteil in charakteristischer Weise im elektrischen



Feld wandert, könnte allenfalls dafür sprechen, daß Dichlordiäthylsulfid mit einem bestimmten Eiweiß des Blutserums eine Komplexverbindung eingegangen ist. Diese Annahme ist aber nach den schon angeführten Untersuchungen von K. LANG nicht berechtigt. Auch eine Eiweiß-*Denaturierung* durch die bei der Lostspaltung freiwerdende HCl ist nicht wahrscheinlich, denn hierbei hätten sich das  $p_H$  der Ödemflüssigkeit und

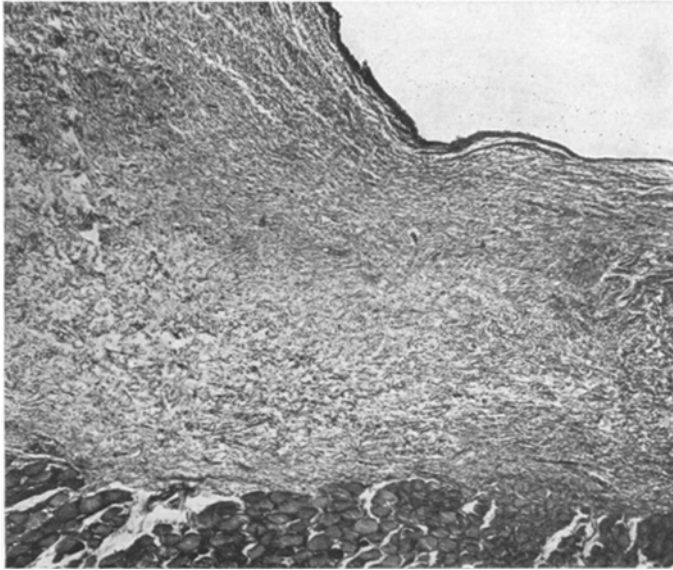


Abb. 13. Mächtiges Ödem im Unterhautbindegewebe einer Ratte am Ort der Implantation von substratbeladenem Filterpapier. Rechts oben die Zone beginnender eitriger Einschmelzung um das Filterpapier herum. Darunter das ödematös aufgequollene subcutane Bindegewebe. Ganz unten Teile der Rückenmuskulatur. Zeiß-Opton-Planachromat 2,5 ×; Photookular 9 ×. Silbereosinplatte. Gelbfilter. Vergrößerung etwa 70fach.

damit die Bedingungen für die Elektrophoresephänomene verändert; zweitens hätte sich eine Eiweißausflockung vermutlich im Verlust der Wanderungsfähigkeit bestimmter oder aller Fraktionen bemerkbar gemacht.

Diese Befunde, die bisher ausführlich vom Methodischen her und zum Teil auch schon in ihren Schlußfolgerungen diskutiert wurden, müßten jetzt den Ergebnissen gegenübergestellt werden, die seit langen Zeiten und in außerordentlich großer Zahl über die Entzündung zusammengetragen worden sind. Eine derartige ausführliche Übersicht würde erkennen lassen, ein wie kleines Teilgebiet aus dem Entzündungskomplex hier überhaupt nur bearbeitet wurde; sie würde aber gleichzeitig zeigen, wie wesentlich die Ausarbeitung der rein technischen Fragen für dies Problem gewesen ist. Das gilt vor allem in bezug auf die korrekte Interpretierbarkeit der erhobenen Befunde und im besonderen

im Hinblick auf ältere, rein pathologisch-anatomische Betrachtungen über diesen Gegenstand. Der Verfasser nimmt bewußt davon Abstand, die, soweit das überhaupt möglich wäre, gesamte ältere Literatur zur Entzündung anzuführen, mehr oder weniger kritisch zu besprechen oder auch nur einfach aufzuzählen, und hat auch von der neueren Literatur nur das ausgewählt, was unbedingt erforderlich ist, um die Einordnung der hier erhobenen Befunde in das Bekannte möglich zu machen.

Ganz allgemein hat man beim Studium der Literatur gelegentlich den Eindruck, daß die gründliche Analyse eines Teilprozesses dazu verleitet, diesen als den Kardinalprozeß anzusehen und darauf Hypothesen aufzubauen. Dieser Eindruck könnte leicht auch bei der vorliegenden Untersuchung entstehen, wenn nun aber auch alles, was aus dem Schrifttum über Entzündung bekannt ist, nur daraufhin geprüft würde, wie es sich mit den hier beschriebenen Befunden korrelieren ließe. Die Bedeutung dieser Befunde ist viel zu umschrieben, als daß dieser Versuch gerechtfertigt sein könnte. Ihr Wert liegt wahrscheinlich nur auf 2 Gebieten: 1. Im Nachweis einer einzigen wirksamen Komponente, die bei einer ganz bestimmten Form von Entzündung und bei einer ganz bestimmten Versuchsanordnung offenbar eine Rolle spielt, ohne daß zunächst mehr über die allgemeine Gültigkeit dieses Phänomens ausgesagt werden könnte; und 2. in der Besprechung der technischen Verfahren, die überhaupt erst die Gewähr dafür bieten, daß zahlreiche Voraussetzungen in einer Weise eingehalten werden, die zu verwertbaren Ergebnissen führen kann.

Das ganze Problem ist an sich schon sehr alt. Es beginnt praktisch mit der Auseinandersetzung zwischen ROKITANSKYS Krasenlehre und der Cellularpathologie von R. VIRCHOW, in der VIRCHOW sich durchsetzte. Es folgen die Beobachtungen von COHNHEIM, der bereits auf die Rolle der Capillarschädigung bei der Entzündung hinweist, und die von RINDFLEISCH. Mit ASCHOFF trat die funktionale Betrachtung der der Entzündung innewohnenden Regulationsvorgänge weiter in den Vordergrund. Konsequenterer Versuche, um bestimmte einzelne Wirkstoffe aufzufinden, gehen bis 1911 zurück. Damals hatte DOLD das Phlogistin für die Phänomene der Entzündung verantwortlich gemacht. Späterhin begründeten EBBECKE, FREUND, LEWIS die Lehre von den H-Körpern als Capillargiften bei der Entzündung; TÖRÖK, ZIPF, MOON, HEINLEIN, BIER, ROCHA e SILVA und kürzlich MÜNCH nahmen zu ihr Stellung. Nach OPIE ist die Entzündung eine Antigen-Antikörperreaktion. KROGH betonte die Bedeutung der Capillarnerven und EPPINGER die von Histamin und besonders von Allylformiat für die Erscheinungen des Entzündungsprozesses. Nach EPPINGER steht (bei der Histaminvergiftung) die Capillarläsion an erster Stelle, ihr folgt die Albuminurie ins Gewebe. Stärker physikalisch orientierte Untersuchungen, die sich besonders mit osmotischen und onkotischen Veränderungen und mit Verschiebungen der Wasserstoffionenkonzentration beschäftigen, stammen vor allem von SCHADE; methodische Fortschritte dazu brachte jüngst FRUNDER. Das  $p_H$  spielt nach HEINLEIN aber wohl erst im weiteren Verlauf der Entzündung eine Rolle. Fermentative Besonderheiten des entzündlichen Exsudates hat MASSHOFF nachgewiesen. Die Dysorie von SCHÜRMANN, unter der eine erhöhte Permea-

bilität der Capillaren mit Plasmaaustritt ins Gewebe verstanden wird, muß begrifflich weiter gefaßt werden als der Ausdruck seröse Entzündung. Modernerer histochemischer Methoden bedienten sich beispielsweise ALTSHULER-ANGEVINE, RUBEL, SHWARTZMAN-GEIBER; Übersichten über das Thema geben W. FREI, W. W. MEYER, RÖSSLE 1944 und EPPINGER 1949; hingewiesen sei auch auf die Referate und Beiträge zur Entzündung, besonders die von LUBARSCH, RÖSSLE, SCHADE, SIEGMUND, in den Verhandlungsberichten der dtsh. Gesellschaft für Path. 1923. Schließlich muß auf die bekannte Monographie von ZINCK und auf die Analyse der Bluteiweißwerte bei akuten Entzündungen von STACEY aufmerksam gemacht werden.

Die wichtigsten Untersuchungen, an die sich die vorliegende Arbeit in ihrer speziellen Fragestellung anschließt, sind die pathologisch-anatomischen Beobachtungen von RÖSSLE und die biochemischen Analysen von VALY MENKIN.

Eine Zusammenfassung der grundlegenden Arbeiten von RÖSSLE wurde bereits in der Einleitung vermittelt. Überhaupt *gegen* die Berechtigung des Begriffes der serösen Entzündung wandte sich GLOGGEN-GLASSER. Weiterhin wird als Kriterium für die seröse Entzündung nicht einfach, wie ZOLLINGER meint, unter anderem die Bildung lediglich eines zellfreien Exsudates angesehen, sondern gerade die Bildung eines besonderen, nämlich fermentativ in bestimmter Weise äußerst wirksamen Exsudates. Für die *Einteilung* verschiedener Formen von seröser Entzündung kann man einem Vorschlag von W. DOERR folgen. DOERR unterscheidet 3 Formen der serösen Entzündung: 1. die primär dyshorische, seröse Entzündung im engeren Sinne, 2. die primär celluläre, vom ortständigen Gewebe ausgehende, seröse Entzündung, und 3. die zunächst nicht entzündliche Zelldegeneration mit eiweißarmem Erguß. Nun fragt es sich aber, ob die unter (1) genannte klassische seröse Entzündung, damit sie überhaupt dem Anspruch auf Benennung als „Entzündung“ genügt, nicht auch so weit von den Leistungen des ortständigen Gewebes abhängen muß, daß man sie mit der unter (2) genannten Form zusammenfassen sollte, zumal primär und ausschließlich vom Kreislauf abhängige Phänomene, wie noch ausgeführt wird, vom Entzündungsbegriff abgetrennt werden könnten. Theoretisch müßte es fernerhin Formen von seröser Entzündung geben, bei denen *keine* Bluteiweißkörper in das Gewebe austreten, sondern nur ein eiweißartiger Wirkstoff am Ort der Entzündung produziert wird. Die Menge des entzündlichen Ödems müßte hier, da im Normalfall die Serumeiweiße ja den größten Teil des Eiweißbestandes der Ödemflüssigkeit ausmachen, außerordentlich klein sein. Diese Annahme ist wohl nur hypothetisch. Zweifellos aber kann die Konzentration der Wirkstoffe im entzündlichen Ödem bei verschiedenen Formen von Entzündungen eine verschiedene sein.

MENKIN geht davon aus, daß *die geschädigte Zelle* bei der Entzündung der eigentliche Startpunkt für das Auftreten zahlreicher Wirkstoffe ist, die ein ganzes Register von Kreislaufstörungen, cellulären Reaktionen

und Fernwirkungen nach sich ziehen. Die einzelnen Wirkstoffe, die durch stufenweise Sättigung mit Ammonsulfat, fraktioniertes Zentrifugieren und Dialyse getrennt erhalten werden können, wurden schon in der Einleitung dieser Arbeit aufgeführt.

Beim Leukotaxin handelt es sich um ein kristallisierbares, thermostabiles, offenbar einfaches Polypeptid, jedenfalls einen Proteinkörper oder ein Abbauprodukt, der noch bei einer Verdünnung von  $10^{-6}$  schwere Kreislaufstörungen und eine Auswanderung von Leukocyten bewirkt. Wahrscheinlich wird Leukotaxin lokal gebildet; es hat keine pharmakologischen oder chemischen Beziehungen zu den Histaminkörpern und keinen Einfluß auf die Leukocytenzahl im strömenden Blut. HEINLEIN hat Leukotaxin in etwas anderer Weise aufgearbeitet und ganz ähnliche Wirkungen gesehen. Zu ebenfalls gleichem Ergebnis, daß nämlich aus dem Cytoplasma geschädigter Zellen stammende Substanzen die Permeabilitätsstörungen und die Leukocytendiapedese bei der Entzündung bewirken, kamen MOON und TERSHAKOVIC wie auch PASQUALI und MORONE. Nach SPECTOR handelt es sich dabei allerdings nicht um ein Phänomen, das auszulösen nur ganz bestimmte Eiweißkörper oder deren Abbauprodukte in der Lage sind, sondern um eine mehr allgemein verbreitete Fähigkeit, die viele Peptide besitzen. Offenbar ist deren biologische Wirksamkeit abhängig von ihrer Kettenlänge; so zeigte sich, daß Peptide mit durchschnittlich 8—14 Aminosäureresten und einem geschätzten Molekulargewicht von 6000 zu Permeabilitätserrhöhung und Endothelschwellung der Capillaren und Leukocytenemigration führen können, während Peptide mit einer durchschnittlichen Kettenlänge von 5 Aminosäuren in den Untersuchungen von SPECTOR nur Leukocytenemigration und Endothelschwellung, nicht aber stärkere Permeabilitätssteigerung verursachten. — Der Leucocytosis promoting factor besteht aus einer thermolabilen Komponente vom Typ der Pseudoglobuline, die elektrophoretisch (nach DILLON-COOPER-MENKIN) als  $\alpha_1$ - oder  $\alpha_2$ -Globulin wandert, mit angehängter spezifischer Polypeptidgruppe, und aus einer thermostabilen Komponente, offenbar einem Glycoprotein. Möglicherweise bestehen Beziehungen zum Leukerethin von R. ABDERHALDEN. — Beim Necrosin handelt es sich um ein lösliches Eiweiß, das nur aus der sauren Euglobulinfraktion isoliert werden kann, proteolytisch wirkt und wahrscheinlich auch eine Collagenase enthält. Necrosin bedingt eine Eiweißkoagulation in der Nachbarschaft des Entzündungsherd und dichtet ihn damit gegen die Umgebung ab; es verursacht, parenteral gegeben, mannigfache Fernwirkungen, beispielsweise Leber- und Nierenschäden, hämorrhagische Exsudation der serösen Häute und hämorrhagische Infarzierungen des Magen-Darmkanals. — Das Glycopeptid Pyrexin kann aus der Euglobulinfraktion als unlösliche Komponente isoliert werden. — Unter den Wirkstoffen, die den Abbau

der im Blut kreisenden Leukocyten bewirken, fanden sich ein thermostabiles, in sauren Exsudaten vorkommendes Polypeptid, der Leucopenie factor, und eine thermolabile Substanz aus alkalischen Exsudaten, die der Pseudoglobulinfraktion zugehört, das Leukopenin.—Neben diesen Wirkstoffen wurden zahlreiche weitere aus entzündlichen Exsudaten isoliert, deren allgemeine Bedeutung noch nicht immer sichergestellt ist, z. B. von MENKIN ein Faktor, der das Gewebewachstum bei der Regeneration fördert, und von KEIDERLING und WESTPHAL ein Faktor, der einen Abfall der Eosinophilen im Blut bewirkt.

Das eigentliche Wesen der Entzündung besteht nach MENKIN also im Auftreten einer ganzen Serie von (sekundären) Wirkstoffen, die im einzelnen isoliert und charakterisiert werden konnten. Zu diesen grundlegenden Arbeiten von MENKIN nehmen die vorliegenden Untersuchungen, wie erwähnt, allerdings nicht Stellung. Sie beziehen sich nur auf ein einziges Phänomen, das möglicherweise durch einen einzelnen bestimmten Wirkstoff hervorgerufen wurde. Der Nachweis dieses Wirkstoffes bereits im histologischen Präparat war mit Hilfe von UV-Extinktionsmessungen *nicht* möglich. Es ist wahrscheinlich, daß, selbst wenn die UV-Absorptionseigenschaften auch *in vitro* hätten bestimmt werden können, diese Eigenschaften nicht so charakteristisch wären, daß sie zur Definition dieses Wirkstoffes ausgereicht hätten, da es sich bei den meisten der MENKINSchen Substanzen um Proteine oder Polypeptide handelt, deren Absorptionseigenschaften untereinander ähnliche sind, da sie auf die Absorptionen der in ihnen enthaltenen Aminosäuren zurückgehen. Allerdings ist an dieser Stelle der wichtige Befund von O. WESTPHAL (1952a, b) zu erwähnen, daß gerade die (in bestimmter Beziehung) wirksamen Peptidfraktionen, die sich elektrophoretisch trennen ließen, im Gegensatz zu den unwirksamen Peptidfraktionen reichlich aromatische Aminosäuren enthielten. Da ja der Gehalt an aromatischen Aminosäuren in erster Linie für die UV-Absorptionseigenschaften der Polypeptide und Eiweißkörper in Betracht kommt und also, neben einem möglichen Einfluß der Aggregation der Teilehen, die Absorption von Eiweiß die Summe der Absorption ihrer Aminosäuren ist, stützt dieser Befund von WESTPHAL die hier diskutierten Ergebnisse in guter Weise.

Die Beobachtungen und Arbeitshypothesen von MENKIN beleuchten den Komplex des Entzündungsprozesses von der humoralen Seite. Zweifellos gibt es andere Betrachtungsweisen. Von Bedeutung ist in diesem Zusammenhang beispielsweise die RICKERSche Lehre. Da sich aber die vorliegenden Untersuchungen nur auf eine sehr kleine Phase im Ablauf des entzündlichen Prozesses erstrecken und keinen Anspruch darauf erheben, alle Vorgänge bei der Entzündung verständlich machen zu können, kann man auf Grund *dieser* Untersuchungen keinesfalls sagen,

*daß eine der Theorien von SCHADE, RICKER, EPPINGER, SPERANSKY, RÖSSLE oder MENKIN für diese Fragestellung hier an Bedeutung einer anderen dieser oder auch fremden Theorie überlegen sei. Bei der Frage allerdings, welcher der in diesen Theorien vertretenen Mechanismen kausal am Anfang des Prozesses steht, könnte das aber wohl anders sein. Es ist möglich, daß hier gewisse chemische oder besser: humorale Vorgänge zeitlich vor nervösen oder Kreislaufvorgängen ablaufen.*

Im statistischen Mittel müssen Kausalität und zeitliche Folge von Phänomenen parallel gehen, nicht aber in dem individuellen Rahmen beispielsweise von histologischen Präparaten. Die Betrachtung liefe also, wie stets, darauf hinaus, zwischen den sichtbaren Phänomenen an sich und ihrer kausalen Bedeutung zu unterscheiden. Wahrscheinlich sind es prinzipielle Gründe, die zu einer scheinbaren Inkongruenz zwischen dem Sichtbarwerden und der Bedeutung z. B. der Kreislaufstörung oder der cellulären Leistungen bei der serösen Entzündung führen; nämlich die, daß die Reagibilität des Kreislaufapparates eine viel größere ist als das Reaktionsvermögen der Zelle, jedenfalls soweit wir beides mit den heutigen Methoden erfassen können.

Zweifellos ist das rasch einsetzende Ödem, das in den frühesten Phasen der experimentellen örtlichen Entzündung und zwar gelegentlich allein als Folge der mechanischen Schädigung des Gewebes einsetzt, durch Kreislaufstörungen bedingt. Ebenso sicher vermischen sich in den späteren Phasen der reinen serösen Entzündung kreislaufbedingtes und eigentlich cellulär bedingtes entzündliches Ödem miteinander. Es ist eine Frage der Definition, was man unter „Entzündung“ verstehen will. Versteht man darunter die Erscheinungen eines Prozesses, der durch nachwirkende Schädigung des Gewebes ausgelöst werden und wiederum zu nachwirkenden Schädigungen des Gewebes führen kann, dann müssen damit seine Erscheinungen auch von Zellschädigungen erst ausgehen. Denn nur von diesen lassen sich nach den heutigen Kenntnissen jene Substrate ableiten, die eigentlich zu den wesentlichen nachwirkenden Schädigungen führen können. Daß Kreislaufstörungen an sich aber in weitem Maße begünstigend oder hemmend auf zahlreiche Lebensvorgänge, also auch auf den Prozeß der Entzündung einwirken können, braucht nicht besonders erwähnt zu werden. Wenn also Phänomene der Strombahn auch nicht zwingend in der Kausalkette des Entzündungsprozesses vorhanden sein müssen, so sind sie doch meist mit der Entzündung vergesellschaftet und eins ihrer, vor allem klinisch ins Auge fallenden, Kardinalsymptome. Sie sind unmittelbar vom entzündlichen Prozeß abhängig, entweder als funktionelle Störung der Strombahn und des Stromflusses oder als unmittelbar morphologisch wirksam gewordene Beeinträchtigung der Gefäßwand. Daß weiterhin auch von hier aus z. B. hypoxämische Veränderungen am Gewebe (BÜCHNER,

ALTMANN) eintreten können, die ihrerseits den Entzündungsprozeß erst unterhalten, ist vorstellbar. Dieser Mechanismus dürfte aber, da ihm die durchgreifende Wirkung der sog. primären Reizstoffe bei der Entzündung fehlt, sicher eine viel kleinere Rolle im Ablauf der Entzündung spielen.

Soweit könnte die Bedeutung der Störungen der Gefäßpermeabilität eine unbestrittene Rolle spielen. Man könnte EPPINGER auch noch weiter folgen, wenn man nämlich annimmt, daß die bei verschiedenen pathologischen Prozessen einsetzende sog. Albuminurie ins Gewebe ausschließlich von Störungen der Capillarpermeabilität abhängt. Das hat aber kausal nicht zwingend etwas mit dem Begriff der serösen Entzündung zu tun. Die Capillarschädigung ist sowohl für die Bildung eines eiweißarmen Ödems verantwortlich wie auch für das Auftreten der eiweißreichen Ödemflüssigkeit, jedenfalls soweit es sich bei den in ihr enthaltenen Eiweißkörpern um die Eiweißkörper des Blutserums handelt. Das Enthaltensein *dieser Serumeiweißkörper* ist nun aber gerade *nicht* das Kriterium für das entzündliche Ödem bei der serösen Entzündung. Man findet sie eben bei *jeder* Plasmorrhagie ins Gewebe. *Charakteristisch für die Ödemflüssigkeit bei der serösen Entzündung sind vielmehr andere Eiweißkörper im entzündlichen Ödem, wenngleich sie an Masse hinter den durchgewanderten Serumeiweißkörpern zurücktreten. Diese charakteristischen Eiweißkörper, die vermutlich erst die weitgehende Selbstreproduzierbarkeit des Entzündungsvorganges bedingen, lassen sich ultraviolett-mikrophotographisch oder mikrospektrographisch unmittelbar allerdings nicht nachweisen, da sie sich in den mit diesen Methoden erfaßbaren physikalischen Konstanten nicht von anderen Eiweißkörpern unterscheiden; sie würden sich sicherlich auch mit Färbemethoden nicht nachweisen lassen. Sie können bislang nur auf Grund ihrer charakteristischen biologischen Wirksamkeit erfaßt werden, wie das auch im 2. Teil der vorliegenden Arbeit unternommen wurde.*

#### *Zusammenfassung.*

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Zusammensetzung der Ödemflüssigkeit beim mechanischen Stauungsödem und bei der serösen Entzündung. Die Entzündungen wurden in der Unterhaut von Versuchstieren durch Injektion von Dichlordiäthylsulfid experimentell hervorgerufen; sie waren in ihren Anfangsstadien stets rein seröse Entzündungen. Die Untersuchung der Ödemflüssigkeiten erstreckte sich ausschließlich auf histophysikalische, vorwiegend optische, Methoden; sie erfolgte an ungefärbten, zum Teil auch an unfixierten histologischen Präparaten und der schonend entnommenen Ödemflüssigkeit. Im einzelnen handelte es sich um die Bestimmung der UV-Extinktion in der Ödemflüssigkeit mit Hilfe der UV-Mikrophotographie und der UV-Mikrospektrographie, für die drei verschiedene, vom Verfasser konstruierte

Typen von Reflexionssystemen benutzt wurden, und um die Auftrennung der Ödemflüssigkeit mit Hilfe der Papierelektrophorese. Diese Untersuchungen hatten folgende Ergebnisse:

1. Beim chronischen mechanischen Stauungsödem tritt *keine* charakteristische UV-Extinktion in Erscheinung.

2. Die Ödemflüssigkeit bei der experimentellen serösen Entzündung zeigt schon sehr frühzeitig eine Absorption von UV-Strahlung, deren Extinktionswerte etwa denen von Eiweißkörpern bzw. von aromatischen Aminosäuren entsprechen. Dieser Befund ließ sich in gleicher Weise an der fixierten wie an der unfixierten Ödemflüssigkeit erheben. Im Zentrum des Entzündungsherdess war eine deutliche UV-Extinktion bereits bei der 1½ Std bestehenden serösen Entzündung nachzuweisen; das Ausmaß der UV-Extinktion nahm mit länger bestehender Entzündung zu.

3. Als noch frühere Phasen des Entzündungsprozesses wurden, um die Gegenwart des entzündungserregenden Agens nach Möglichkeit auszuschließen, die perifokalen Zonen in der Umgebung akuter Entzündungsherde untersucht. Bei diesen Ödemen fehlte eine charakteristische UV-Extinktion.

4. Die Elektrophoreseuntersuchungen bestätigten die Ergebnisse der UV-Analysen, daß nämlich die Ödemflüssigkeit bei der serösen Entzündung vorwiegend Eiweißkörper enthält; sie zeigten außerdem, daß ihre Zusammensetzung ungefähr der des Blutserums entsprach.

5. Trotz dieser Übereinstimmung wäre es aber nicht richtig anzunehmen, bei der Ödemflüssigkeit der serösen Entzündung handle es sich lediglich um ein Filtrat aus der Blutflüssigkeit, und daraus zu schließen, das Problem der serösen Entzündung sei damit ein Permeabilitätsproblem. Denn die charakteristischen Komponenten, die erst als Kriterium für die *Wirkung* des entzündlichen Ödems gelten können, sind nicht von vornherein in der Blutflüssigkeit enthalten, sondern entstehen erst als Leistungen des ortsständigen Gewebes. Diese Komponenten können durch Testung der Wirksamkeit der Flüssigkeit des entzündlichen Ödems an zweiten Versuchstieren nachgewiesen werden. Die Prüfung der nicht fraktionierten Ödemflüssigkeit ergab, daß das entzündliche Ödem von einer nur einige Stunden bestehenden serösen Entzündung die größte biologische Wirksamkeit hat; die histologisch kontrollierten örtlichen Veränderungen an zweiten Versuchstieren waren qualitativ ähnliche wie bei der primär hervorgerufenen serösen Entzündung.

6. Mit Hilfe der Papierelektrophorese wurde schließlich versucht, die Ödemflüssigkeit aus der biologisch wirksamsten Phase der serösen Entzündung in einzelne Fraktionen zu zerlegen und diese getrennt an anderen Versuchstieren auf ihre Wirkung zu prüfen. Dabei zeigte sich,



daß die stärksten Veränderungen, die vor allem im Auftreten eines mächtigen, in diesem Fall aber eiweißärmeren Ödems bestanden, durch eine offenbar als Globulin wandernde Fraktion zustande kamen.

### Literatur.

- ABDERHALDEN, R.: *Experientia* (Basel) **4**, 114 (1948). — *Klin. Wschr.* **1951** 444. — ALPHEN, P. M. VAN: *Dt. Pat.* **42** h 8. p. 25650 D. — ALTMANN, H. W. u. F. BÜCHNER: *Fiat Rev.* **1948**. — ALTSHULER, CH. H., and D. M. ANGEVINE: *Amer. J. Path.* **27**, 141 (1951). — ASCHOFF, L.: *Beitr. path. Anat.* **68**, 1 (1921). — BAKER, R.: *Lancet* **1949**, 533. — BARER, R.: *Proc. of the London Opt. Conf.* **1950**, 43. — *Disc. Faraday Soc.* **9**, 369 (1950). — *J. Roy. Microsc. Soc., Ser. A* **3** **71**, 307 (1951). — BARER, R., A. R. H. COLE and H. W. THOMPSON: *Nature* (Lond.) **163**, 198 (1949). — BARER, R., E. R. HOLIDAY and E. M. JOPE: *Biochim. et Biophysica Acta* **6**, 123 (1950). — BENSLEY, R. D.: *Science* (Lancaster, Pa.) **112**, 553 (1950). — BERGER, W., u. F. J. LANG: *Beitr. path. Anat.* **87**, 71 (1931). — BERGMANN, M., and C. NIEMANN: *J. of Biol. Chem.* **115** (1936); **118** (1937). — BIER, O., u. M. ROCHA E SILVA: *Virchows Arch.* **303**, 325. 343 (1939). — BOUWERS, A.: *Achievements in Optics*. Elsevier Publ. Comp. 1946. — BRUMBERG, E. M.: *Nature* (Lond.) **152**, 357 (1943). — BUNSEN, R.: *Siehe Löwe*. — BURCH, C. R.: *Nature* (Lond.) **152**, 748 (1943). — *Proc. Physic. Soc. Lond.* **59**, 41 (1947). — CASHMORE and McCOMBIE: *J. Chem. Soc. Lond.* **1923**, 123. — CASPERSSON, T. O.: *Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.)* **73**, Suppl. 8, 1 (1936). — *Cell Growth and Cell Function*. New York: W. W. Norton 1950. — CASSEGRAIN: *Zit. nach GREY u. LEE*. — COHNHEIM, J.: *Virchows Arch.* **22**, 516 (1861); **40**, 1 (1867). — *Allgemeine Pathologie*. 1882. — COLE, R.: *J. Opt. Soc. Amer.* **41**, 38 (1951). — COMMONER, B.: *Science* (Lancaster, Pa.) **110**, 31 (1949). — CRAMER, F.: *Papierchromatographie*. Weinheim: Verlag Chemie 1952. — DENT, C. E.: *Biochemic. J.* **41**, 240 (1947). — *Biochem. Soc. Symposia* **1950**, 3, 34. — DILLON, M. L., COOPER and V. MENKIN: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **65**, 187 (1947). — DIMITROFF, G. Z., and J. G. BAKER: *Telescopes and Accessories*. (Nach BARER-HOLIDAY-JOPE.) Blakiston: Philadelphia: Son & Co. 1945. — DÖRFFEL, L., u. PÖPPING: *Virchows Arch.* **295**, 1 (1935). — DOERR, W.: *Pathologische Anatomie der Glykolvergiftung und des Alloxandabetes*. Heidelberg: Springer 1949. — DOLD, H.: *Dtsch. med. Wschr.* **1911** II, 1644. — DONOVAN, G. E.: *Lancet* **1951**, 210. — DONOVAN, G. E., and G. JONES: *Proc. Roy. Soc. Med.* **44**, 816 (1951). — DREW, R. L.: *Nature* (Lond.) **164**, 360 (1949). — EBBECKE, U.: *Arch. ges. Physiol.* **169**, 1 (1917); **199**, 197 (1923). — EINSTEIN, A.: *Ann. Physik.* (4) **17**, 132 (1905). — EPPINGER, H.: *Die Permeabilitätspathologie*. Wien: Springer 1949. — EPPINGER, H., H. KAUNITZ u. H. POPPER: *Die seröse Entzündung*. Wien: Springer 1935. — FLURY u. WIELAND: *Z. exper. Med.* **13**, 367 (1921). — FREI, W.: *Wien. tierärztl. Mschr.* **38**, 5 (1951). — FREUND, H.: *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* **86** (1920); **88** (1920); **91** (1921); **180** (1936). — FRUNDER, H.: *Die Wasserstoffionenkonzentration*. Jena: Gustav Fischer 1951. — GABOR, D.: *Research* (Lond.) **4**, 107 (1951). — GLICK, D., A. ENGSTRÖM and B. G. MALMSTRÖM: *Science* (Lancaster, Pa.) **114**, 253 (1951). — GLOGGENGIESSER, W.: *Virchows Arch.* **312**, 64 (1944). — GÖRLICH, P., u. J. KATZ: *Z. Photogr. u. Forsch.* **3**, 27 (1939). — GRASSMANN, W., u. HANNIG: *Naturwiss.* **37**, 397, 496 (1950). — GREGOR: *Zit. nach GREY and LEE*. — GREY, D. S.: *J. Opt. Soc. Amer.* **39**, 723 (1949); **40**, 283 (1950). — GREY, D. S., and P. H. LEE: *J. Opt. Soc. Amer.* **39**, 719 (1949). — GROH, J.: *Kolloid-Z.* **94** (1941). — GROSS, F.: *Schweiz. med. Wschr.* **1950**, 697. — GUTHMANN, H. E., K. SCHWERIN u. FR. STÄHLER: *Strahlenther.* **39** (1931). — HEINLEIN, H.: *Virchows Arch.* **296**,

- 448 (1936). — Beitr. path. Anat. **108**, 58 (1943). — Frankf. Z. Path. **57**, 316 (1943). — Ärztl. Wschr. **1950**, 345. — HENRI, V.: Zit. nach LÖWE. — HÖFERT, H. J.: Glas-techn. Ber. **24**, 63 (1951). — HUGHES, W. H.: Brit. J. Exper. Path. **29**, 173 (1948). — JOHNSON, B. K.: Proc. Physic. Soc. Lond. **53**, 714 (1941). — J. Sci. Instr. **26** (1949). — JOOS, G., u. TH. KALUZA: Höhere Mathematik für den Praktiker. Leipzig: Johann Ambrosius Barth 1942. — KEIDERLING, W., u. O. WESTPHAL: Ber. dtsch. Ges. inn. Med. **1951**. — KÖHLER, A.: Z. Mikrosk. **21**, 129, 273 (1904). — KRATKY, O., u. E. SCHAUENSTEIN: Z. Naturforsch. **5b** (1950). — KROGH, A.: Klin. Wschr. **1927**, 722. — Anatomy and Physiology of the Capillaries. New Haven: Yale Univ. Press. 1929. — LAND, E. H., E. R. BLOUT, D. S. GREY, M. S. FLOWER, H. HUSEK, R. C. JONES, C. H. MATZ and D. P. MERRILL: Science (Lancaster, Pa.) **109**, 371 (1949). — LANG, K.: Dtsch. Mil.arzt **2**, 480 (1937). — LAWSON and REID: J. Amer. Chem. Soc. **1925**, 47. — LEEDS, W. E., and M. H. F. WILKINS: Nature (Lond.) **164**, 228 (1949). — LEWIS, T.: Blood Vessels of the Human Skin and Their Responses. London: Shaw & Sons Ltd. 1927. — LÖFFLER, W., CH. WUNDERLY u. F. WUHRMANN: Schweiz. med. Wschr. **1949**, 100. — LÖWE, F.: Optische Messungen. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1949. — LOOFBOUROW, J. R.: J. Opt. Soc. Amer. **40**, 317 (1950). — LUBARSCH, O.: Verh. dtsch. path. Ges. **19**, 3 (1923). — MANIGAULT, P.: Microscopie (Paris) **2**, 52 (1950). — MASSHOFF, W., W. GRANER u. H. HELLMANN: Virchows Arch. **317**, 114 (1949). — MAYER, R. L.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **67**, 529 (1948). — MEIER, R., F. GROSS u. P. DESAULLES: Klin. Wschr. **29**, 653 (1951). — MELLORS, R. C.: Science (Lancaster, Pa.) **312**, 381 (1950). — MELLORS, R. C., R. E. BERGER and H. G. STREIM: Science (Lancaster, Pa.) **111**, 627 (1950). — MELLORS, R. C., J. F. KEANE and H. G. STREIM: Nature (Lond.) **166**, 26 (1950). — MENKIN, V.: J. of Exper. Med. **64**, 485 (1936). — Dynamics of Inflammation. New York: MacMillan & Co. 1940. — Lancet **1947**, 660. — Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **64**, 448 (1947). — Science (Lancaster, Pa.) **105**, 538 (1947). — Newer Concepts of Inflammation. Springfield, Ill.: Ch. C. Thomas 1950. — MENZEL, W., u. I. WILLHOEFT: Fol. haemat. (Lpz.) **70**, 278 (1951). — METCALF, W. K.: Blood **6**, 111 (1951). — MEYER, W. W.: Virchows Arch. **314**, 681 (1947). — Klin. Wschr. **1950**, 697. — MEYER-ARENDT, J.: (a) Naturwiss. **37**, 310 (1950). — (b) Verh. dtsch. Ges. Path. **34**, 325 (1950); **35**, 153 (1951); **36**, 339 (1952). — (c) Mikroskopie (Wien) **6**, 353 (1951); **1952**. — (d) Virchows Arch. **321**, 378 (1952). — (e) Zbl. Path. **88**, 219; (f) **89**, 29 (1952). — (g) Photogr. u. Forsch. **5**, 27 (1952). — (h) Klin. Wschr. **1952**, 759. — (i) Klin. Wschr. **1952**, 951. — (k) Umschau **1953**. — MICHAELIS, L.: Biochem. Z. **234**, 139 (1931). — MICHEL, K.: Die Grundlagen der Theorie des Mikroskops. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft 1950. — MICHL, H.: Mh. Chem. (Wien) **83**, 210 (1952). — MOON, V. H.: Virchows Arch. **294**, 465 (1935). — Arch. of Path. **20**, 561 (1935). — MOON, V. H., and G. A. TERSHAKOVIC: Arch. of Path. **52**, 369, 441 (1951). — MÜNCH, O.: Virchows Arch. **319**, 81 (1950). — MUNTSCHE: Leitfaden der Pathologie der Kampfstoffkrankungen. Leipzig: Georg Thieme 1939. — NAORA, H.: Science (Lancaster, Pa.) **114**, 279 (1951). — NEWTON: Zit. nach GREY u. LEE. — OPIE, E. L.: J. of Immun. **17**, 329 (1929). — PASQUALI, L., e C. MORONE: Minerva med. (Torino) **1948** I, 8. — PHILPOT, J. St. L.: In BUTLER-RANDALL, Progress in Biophysics, Bd. 1. London: Butterworth-Springer Ltd. 1950. — PRINGSHEIM, P., u. M. VOGEL: Lumineszenz von Flüssigkeiten und festen Körpern. Weinheim: Verlag Chemie 1951. — RICKER, G., u. P. REGENDANZ: Virchows Arch. **231**, 1 (1921). — RINDFLEISCH, E.: Virchows Arch. **23**, 519 (1862). — RINGBOM, A.: Z. anal. Chem. **115**, 332 (1939). — ROBINSON, D.: Z. anal. Chem. **23**, 273 (1951). — ROCHA e SILVA, M., u. O. BIER: Virchows Arch. **303**, 337 (1939). — RÖSSLE, R.: Münch. med. Wschr. **1928**, 1789. — Verh. dtsch. path. Ges. **19**, 18 (1923); **27**, 152 (1934); **1944**, 1. — Klin. Wschr. **1935**, 769. — Virchows Arch. **291**,

I (1933); **311**, 252 (1944). — ROSENOW, G.: In ABDERRHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Bd. VIII, Teil 2. Wien u. Leipzig: Urban & Schwarzenberg 1926. — RUBEL, W. M.: Biochem. Z. **283**, 451 (1938). — RUHKOPF, G., u. J. MEYER-ARENDT: Frankf. Z. Path. **63**, 589 (1952). — SANQUIRICO, G.: Radiologia **8**, 119 (1952). — SARTORI, M.: Die Chemie der Kampfstoffe. Braunschweig: F. Vieweg & Sohn 1940. — SCHADE, H.: Verh. dtsh. path. Ges. **19**, 69 (1923). — Die physikalische Chemie in der inneren Medizin. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1923. — Z. exper. Med. **49**, 334 (1926). — Molekularpathologie der Entzündung. Dresden u. Leipzig 1935. — SCHADE, H., u. K. MAYR: Krankheitsforsch. **8**, 354 (1930). — SCHAUENSTEIN, E., M. HOCHENEGGER u. M. WALZEL: Z. Biol. **104**, 228 (1951). — SCHEIBE, G., u. A. NEUHÄUSER: Z. angew. Chem. **41**, 1218 (1928). — SCHLEICHER, C., & SCHÜLL: Broschüre Papierchromatographie. 1950. — SCHÜRMANN, P., u. H. E. MACMAHON: Virchows Arch. **291**, 47 (1933). — SCHUMACHER, H. H.: Verh. dtsh. Ges. Path. **36** (1952). — SCHWARZSCHILD, K.: Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl. **1905**. — SHWARTZMAN and GEIBER: Ann. New York Acad. Sci. **49**, 627 (1948). — SIEGMUND, H.: Verh. dtsh. Path. Ges. **19**, 114 (1923). — Virchows Arch. **311**, 180 (1944). — SPECTOR, W. G.: J. of Path. **63**, 93 (1951). — SPERANSKY, A. D.: Grundlagen der Theorie der Medizin. Berlin: W. Saenger 1950. — STACEY, R. S.: J. Labor. a. Clin. Med. **32**, 1002 (1947). — STOKES, G. G.: Phil. Trans. **1852**, 463. Vgl. dazu EINSTEIN. — STRAUB, H. W.: Z. Photogr. u. Forsch. **3**, 123 (1939). — STRAUBEL, R.: Zit. nach LÖWE. — TÖRÖK: Zit. nach MOON-TERSHAKOVEC. — TURBA, F., u. H. J. ENENKEL: Naturwiss. **37**, 93 (1950). — WEIDNER, H.: Dtsch. Mil.arzt **2**, 247 (1937). — WESTPHAL, O.: (a) Vortr. Pharmaz. Ges. Hamburg 1952. — (b) Persönliche Mitteilung. — WESTPHAL, O., O. LÜDERITZ u. F. BISTER: In Vorbereitung. — WESTPHAL, O., O. LÜDERITZ u. W. KEIDERLING: 3. Nachkriegstagg Dtsch. Ges. Hyg. u. Mikrobiol. 1951. — Zbl. Bakter. I **158**, 151 (1952). — WESTPHAL, U.: Frankf. Z. Path. **30**, 1 (1924). — WIELAND, TH.: Angew. Chem. **60**, 313 (1948). — WIELAND, TH., u. FISCHER: Naturwiss. **35**, 29 (1948). — WILKE, G., u. H. KIRCHER: Dtsch. Z. Nervenheilk. **167**, 529 (1952). — WU, TSAI TUNG: Virchows Arch. **300**, 373 (1937). — ZINCK, K. H.: Veröff. Konst.- u. Wehrpath. **1940**, H. 46. — ZIFF, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **160**, 579 (1931). — Verh. dtsh. Ges. inn. Med. **44** (1932). — ZIFF, K., u. WAGENFELD: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **150**, 70, 91 (1930). — ZOLLINGER, H. U.: Schweiz. med. Wschr. **1945**, 777.

Nach Abschluß des Manuskriptes erhielt ich Kenntnis von den Arbeiten von K. HOMMERICH über seröse Mesaortitis [dieses Archiv **322**, 282 (1952)], von W. KRÜCKE über seröse Encephalitis [Dtsch. Z. Nervenheilk. **168**, 322 (1952)] und von F. SCHEMINZKY über Kleinbildspektrographie [unter anderen in Spectrochimica Acta **3**, 191 (1948)].

Doz. Dr. JÜRGEN MEYER-ARENDT, Hamburg,  
Pathologisches Institut der Universität.