

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

Über den Ablauf der serösen Entzündung.

II. Mitteilung.

Von

JÜRGEN MEYER-ARENDT und JUTTA RALL.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Mai 1953.)

Die vorliegende Arbeit schließt sich an Untersuchungen über die seröse Entzündung an, deren Ergebnisse kürzlich in diesem Archiv erschienen sind. Bei diesen Untersuchungen handelte es sich um mikrophotographische und mikrospektrographische Analysen, die an der Ödemflüssigkeit des chronischen mechanischen Stauungsödems und am entzündlichen Ödem der serösen Entzündung unternommen wurden. Es hatte sich gezeigt, daß das entzündliche Ödem bei der experimentellen Dichlordiäthylsulfid-Entzündung schon nach etwa $1\frac{1}{2}$ Std eine charakteristische Absorption von ultravioletter Strahlung zeigt, deren Extinktionskurve der von Serumeiweißkörpern bzw. von aromatischen Aminosäuren ähnelt. Dieser Befund ließ sich in gleicher Weise an der nativ untersuchten Ödemflüssigkeit wie am Ödem innerhalb des fixierten histologischen Präparates erheben.

Wir haben diese Ergebnisse unterdessen auf photoelektrischem Wege kontrolliert. Hierzu standen ein Gerät der Fa. Zeiß-Opton¹ und das schon früher beschriebene Reflexionsmikroskop² zur Verfügung.

An 7 Kaninchen im Gewicht von 2500—3500 g wurde in der schon früher beschriebenen Technik durch jeweils 0,05 ml Dichlordiäthylsulfid eine zunächst rein seröse Entzündung im Unterhautbindegewebe hervorgerufen. Nach 3 Std, 6 Std, 12 Std und 24 Std wurden die Tiere getötet und die Ödemflüssigkeit, die sich am Ort der Einbringung von Lost gebildet hatte, möglichst ohne Blutgefäße zu eröffnen, entnommen. Die Ödemflüssigkeit wurde in jedem Fall „makroskopisch“, d. h. in der gebräuchlichen Weise, in einer 1 cm-Quarzcuvette auf ihre spektrale Absorption untersucht. Dazu diente ein Zeiß-Opton-Spektralphotometer mit Quarzprismenmonochromator und Wasserstoffhochdrucklampe, mit dem in Abständen von 5—10 $m\mu$, in der Nähe der Maxima und Minima teilweise in Abständen von 1—2 $m\mu$, die Extinktion unmittelbar und in jedem Fall mehrmals bestimmt wurde (vgl. zur Technik auch HANSEN). Die Beschleunigungsspannung des Sekundärelektronenvervielfachers betrug durchweg 1760 Volt; die Spaltbreiten des Monochromators lagen zwischen 0,5 und 2 $m\mu$ auf der Wellenlängenskala. Für diese Makromessungen wurde die Ödemflüssigkeit fast stets im Verhältnis 1:50 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt; beim Verdünnen mit destilliertem

¹ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

² Mit Unterstützung von Herrn Dr. K. MICHEL, Zeiß-Winkel.

Wasser kann sich ein flockiger Niederschlag bilden, wie er auch von Serumweißlösungen bekannt und hier jedenfalls ohne Interesse ist. Außerdem wurde in einem Teil der Fälle auch der Gesamteiweißgehalt nach der Biuret-Methode, einer Arbeitsvorschrift von BÜCHER folgend, ermittelt.

Um einen Anhalt dafür zu haben, inwieweit sich „makroskopische“ UV-Absorptionsmessungen in Cuvetten mit mikroskopischen Messungen vergleichen ließen, wurde ein Teil der Ödeme auch unverdünnt zwischen Quarzplättchen gebracht und unter Hinzunahme des Spiegelmikroskops durchgemessen. Da bei diesem

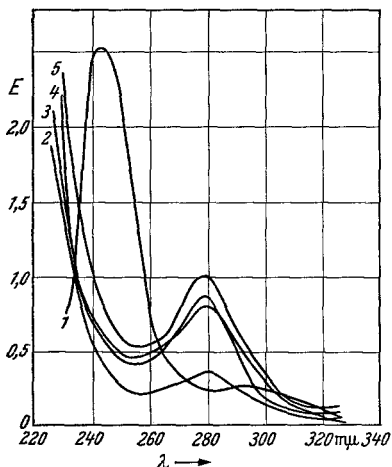


Abb. 1. UV-Absorptionsdiagramme von Dichlordiäthylsulfid und von entzündlichem Ödem aus verschiedenen Phasen der experimentellen serösen Entzündung. 1 Reines Dichlordiäthylsulfid, 1:75 in Glycerin gelöst. 2—5 Entzündliches Ödem nach 3 Std., 6 Std., 12 Std. und 24 Std. Verdünnung 1:50.

plättchen gebracht und mikroskopisch photometriert. — Schließlich wurde noch die spektrale Absorption von Lost bestimmt und hierfür eine Lösung von 0,5 g reinem Dichlordiäthylsulfid¹ in 36 g reinem Glycerin, d. h. eine Verdünnung von etwa 1:75, hergestellt. Diese Lösung wurde gegen reines Glycerin als Leerwert gemessen.

Unsere Absorptionsmessungen, die sich im ultravioletten Spektralbereich von 2200 Å bis 4000 Å, zum Teil auch bis ins nahe Infrarot von 0,97 μ erstreckten, hatten folgende Ergebnisse: Reines Dichlordiäthylsulfid besitzt ein charakteristisches Absorptionsspektrum mit einem Maximum bei 246 mμ (Abb. 1, 1). Die Kurve steigt steil zu diesem Maximum an und sinkt nach beiden Seiten, fast symmetrisch, wieder ab. Sie zeigt keinerlei Ähnlichkeit mit den Extinktionskurven der Ödemflüssigkeit aus den verschiedenen Phasen der serösen Entzündung. Zwischen 3000 Å und dem nahen Infrarot fehlt eine nennenswerte

Vorgehen nicht wie sonst üblich alternierend, d. h. Substrat und Leerwert abwechselnd, gemessen werden konnte, mußten das ungeschwächte Emissionsspektrum der Lichtquelle und zweitens das Emissionsspektrum nach Durchtritt durch die Probe *nacheinander* registriert werden. Die gewünschte Extinktion erhält man sehr einfach, wenn der Logarithmus der Emissionsintensität der Lichtquelle vom Logarithmus der Transmission durch das Substrat subtrahiert wird. Diese beiden log-Werte können auf der Skala des Anzeigeinstrumentes unmittelbar abgelesen werden. Es leuchtet ein, daß bei dieser Technik trotz befriedigender elektrischer Stabilisierung des Gerätes die Ungenauigkeitsbreite der Ergebnisse größer sein muß.

Drittens haben wir untersucht, welchen Einfluß die Formolfixierung auf die Absorptionswerte des entzündlichen Ödems ausübt, und zu diesem Zweck ebenfalls das Spektralphotometer in Verbindung mit dem Reflexionsmikroskop benutzt. Eiweißreiche Ödemflüssigkeit wurde bei +3° C mit 10%igem Formol überschichtet, eines der sich bildenden Gerinnsel zwischen Quarz-

¹ Mit Unterstützung von Herrn Dr. A. CMENTEK, Hamburg.

Energieabsorption. Diese Ergebnisse entsprechen der in der vorangehenden Arbeit beschriebenen Absorption von Dichlordiäthylsulfid, wenn auch die Werte im einzelnen hier anschaulicher zum Ausdruck kommen.

Die Absorptionsspektren des entzündlichen Ödems aus verschiedenen zeitlichen Phasen einer serösen Entzündung, die ebenfalls in Abb. I wiedergegeben sind, sind von bemerkenswerter Übereinstimmung. Sie zeigen ein Maximum bei jeweils genau 2760 Å und den charakteristischen Verlauf, wie er von Eiweißen vom Typ der Serumglobuline bekannt ist. Bei 252 m μ liegt ein Absorptionsminimum. Nach den Analysen von CASPERSSON spricht diese Form des Kurvenverlaufs für reichlichen Gehalt an Tryptophan und Tyrosin. Daraus läßt sich schließen, daß das entzündliche Ödem bei der serösen Entzündung, jedenfalls soweit es sich durch Bestimmung der UV-Absorption erfassen läßt, in erster Linie aus Eiweißkörpern des Blutserums zusammengesetzt ist. Besonders bemerkenswert scheint uns weiterhin zu sein, daß auch beim etwas älteren Ödem der 24 Std alten Entzündung (noch) keine Absorption mit einem 2600 Å-Maximum eintritt. Ein solcher Befund würde auf Anwesenheit von Polynucleotiden und damit auf eine Destruktion von Zellkernen bzw. auf eine Ausschwemmung von Zellkernmaterial in die Ödemflüssigkeit hinweisen, die demnach in dieser Phase noch nicht vorliegt.

Der nach der Biuret-Methode bestimmte Gesamteiweißgehalt ließ mit 38, 36 und 44 mg/ml im 12 Std- und 24 Std-Ödem keine verwertbaren Unterschiede erkennen.

An zweiter Stelle haben wir geprüft, inwieweit sich makroskopische und mikroskopische Messungen der UV-Absorption miteinander vergleichen lassen und welchen Einfluß Formolfixierung auf das Meßergebnis haben kann. Diese vergleichenden Messungen haben deswegen besonderen Wert, weil neuerdings eine gewisse Kritik an UV-Messungen geübt wird, jedenfalls wenn sie sich in sehr kleinen, mikroskopischen Dimensionen abspielt. Es sei aber von vornherein betont, daß die *hier* mitgeteilten Befunde nicht grundsätzlich verallgemeinert werden dürfen, da die sie belastende Fehlerbreite vorwiegend nicht prinzipieller, sondern instrumenteller Art ist. Von DAVIES und WALKER stammen ähnliche vergleichende Messungen.

In der vorangegangenen Arbeit zum gleichen Thema wurde ausführlich besprochen, wie sich zunächst eine Schädigung des Substrates durch die UV-Strahlung weitgehend vermeiden läßt. Es hatte sich weiterhin ergeben, daß die in vitro bestimmte UV-Absorption der Ödemflüssigkeit, die in der Mikrocuvette gemessene Absorption und drittens auch die Absorption des Ödems im fixierten histologischen Präparat *annähernd gleich* waren. Im Gegensatz dazu haben wir jetzt mit Hilfe des verfeinerten Verfahrens der photoelektrischen Messung gefunden, daß diese

3 Werte zwar einander ähnlich, daß sie aber nicht gleich sind. Am sinnfälligsten ergeben sich die Unterschiede aus einer Betrachtung der Extinktionsdiagramme in Abb. 2. In dieser Abbildung zeigt die Kurve 1 die Meßwerte, die bei Benutzung des Reflexionsmikroskops an der Ödemflüssigkeit der 12 Std alten serösen Entzündung gefunden wurden. Kurve 2 gibt die gleiche Ödemflüssigkeit nach „makroskopischer“ Messung in der 1 cm-Cuvette des Spektralphotometers wieder. Kurve 3

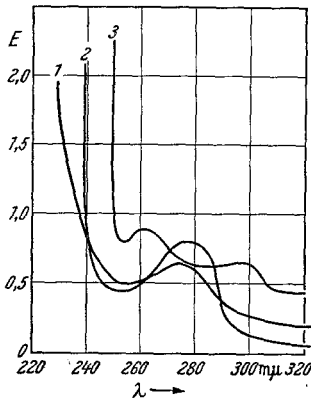


Abb. 2. UV-Absorptionsdiagramme von entzündlichem Ödem der 12 Std alten serösen Entzündung. 1 Absorptionsmessung mit Hilfe des Reflexionsmikroskops; 2 Normalmessung des Ödems vom gleichen Versuchstier; 3 Mikromessung nach Fixierung in 10 %igem Formol.

schließlich zeigt die Werte nach Fixierung mit 10 %igem Formol bei mikroskopischer Messung. Man erkennt aus einem Vergleich dieser Kurven ohne weiteres, daß die Ergebnisse der makroskopischen Absorptionsmessung und der mikroskopischen Messungen über das Reflexionsmikroskop hinreichend gut übereinstimmen. Die Abweichungen zwischen diesen beiden Meßreihen bestehen in erster Linie darin, daß die mikroskopisch erhaltene Meßkurve in sich flacher ist und daß ihr Maximum bei 2760 Å niedriger und das Minimum bei 2520 Å höher ist. Der Verlauf beider Kurven ist aber prinzipiell gleich. Die genannten Differenzen zwischen beiden Kurven besagen, daß das Ausmaß der nicht auf echte Absorption zurückzuführenden Extinktion, worunter Energieverluste durch Diffraction oder Streuung zu verstehen wären, bei der

mikroskopischen Messung größer ist. Dieser Fehler nimmt mit stärkerer Vergrößerung bekanntlich ohnehin prinzipiell zu.

Ganz allgemein ist der durch Streuung infolge optischer Inhomogenität des Substrates bedingte Fehler der wichtigste, der in die Ergebnisse mikroskopischer Absorptionsmessungen einzugehen pflegt. Die exakte mathematische Analyse dieses Fehlers hat ORNSTEIN beschrieben. Für die hier vorliegenden Untersuchungen ergab sich überschlagsweise, daß die Abweichungen nach + und — mindestens je 40 % betragen. Dieses Ausmaß der Ungenauigkeit mag relativ hoch erscheinen. Die Betrachtung der Kurvenform zusammengehöriger Extinktionsdiagramme (1 und 2) in Abb. 2 zeigt aber, daß die Abweichungen doch nicht so sehr ins Gewicht fallen, wie es bei Bewertung allein der Prozentzahl den Anschein haben könnte. Bei dieser Inkongruenz zwischen makroskopischer und mikroskopischer Messung handelt es sich außerdem, wie erwähnt, nicht ausschließlich um prinzipielle, sondern auch um Fehler, die hier durch apparative Unvollkommenheiten bedingt sind. Das gilt in erster

Linie von der verhältnismäßig niedrigen numerischen Apertur des Spiegelsystems, dessen optische Eigenschaften und Grenzen in der vorangegangenen Arbeit ausführlich erörtert wurden. Die relativ geringe optische Auflösung dieses Systems bewirkt, daß die Charakteristica mikroskopisch erhaltener Extinktionsdiagramme nicht so scharf zum Ausdruck kommen *können* wie die Werte der makroskopischen Messung. Im angegebenen Unschärfenbereich ist schließlich noch die Fehlerbreite des Spektralphotometers selbst mit etwa 3% enthalten. Diesen Wert haben wir aus den auf gewöhnliche Weise erhaltenen Meßreihen entnommen.

Die Abweichungen der Kurve 3 (in Abb. 2) von den beiden bisher diskutierten Meßreihen wiegen allerdings wesentlich schwerer. Die Form dieser Kurve differiert in mancherlei Hinsicht von den Kurven der Ödemflüssigkeiten, wie sie in Abb. 1 und 2 als typisch wiedergegeben wurden. Die photometrisch erfaßbare Extinktion dürfte eben infolge der durch die Fixierung bewirkten Inhomogenität des Materials so nachdrücklich verändert worden sein, daß die in ihr enthaltene tatsächliche Absorption hier nicht mehr zum Ausdruck kommt.

Es ergibt sich aus den vorliegenden Untersuchungen, daß die nativ untersuchte Ödemflüssigkeit bei der experimentellen serösen Entzündung — unabhängig von der Dauer der Entzündung — ein charakteristisches und in jeder Phase gleichartiges Extinktionsdiagramm aufweist. Die Kurvenform dieser Diagramme läßt an Serumglobuline denken. Das Absorptionsmaximum liegt jeweils bei $276\text{ m}\mu$. Das entspricht in erster Linie dem Vorhandensein der Aminosäuren Tryptophan und Tyrosin. Man kann daher zunächst grundsätzlich annehmen, daß die in der Ödemflüssigkeit enthaltenen Eiweißkörper mit den Eiweißkörpern bzw. mit den Globulinen des Blutserums identisch sind und daß diese Eiweißkörper unmittelbar aus der Blutbahn in das Gewebe übergetreten sind. Nun ist nach EPPINGER tatsächlich die Endothelschädigung der primäre Vorgang bei der serösen Entzündung. Aus dieser Endothelschädigung folgt die Erhöhung der Capillarpermeabilität und daraus die sog. Albuminurie ins Gewebe. Auf der anderen Seite aber sehen TERBRÜGGEN, FLECKENSTEIN, EGER den primären Angriffsort mancher Gifte, die zur serösen Entzündung führen können, z. B. von Allylformiat, in der Parenchymzelle. Wenn man nun durch Bestimmung der UV-Absorption nachweisen kann, daß das seröse Exsudat weitgehend mit dem Blutserum identisch ist, dann stellt dieser Befund, wie in der vorangegangenen Arbeit ausführlich erörtert wurde, trotzdem *kein zwingendes Argument gegen die Annahme* dar, daß das Charakteristicum des entzündlichen Ödems bei der serösen Entzündung doch in bestimmten chemischen Körpern liege, die nicht aus dem Blutserum stammen, sondern von ortsständigen Zellen produziert werden. Man kann also

mit W. DOERR aussagen, daß dieses entzündliche Ödem nicht die Ursache der Parenchymschädigung, sondern ihre Folge ist. Die *eigentliche* Bedeutung des entzündlichen Ödems bei der serösen Entzündung dürfte allerdings über eine solche, rein passive Rolle hinausgehen, insofern, als wir wissen, daß es gerade die im entzündlichen Ödem enthaltenen *Wirkstoffe* sind, die die Propagierung und gewissermaßen auch die Selbstreproduzierbarkeit der serösen Entzündung bewirken oder zumindest erleichtern.

Wir kommen also in Übereinstimmung mit den früher durchgeführten Untersuchungen zu dem Schluß, daß im entzündlichen Ödem aus verschiedenen zeitlichen Phasen der experimentellen serösen Entzündung in erster Linie *Serumeiweißkörper* enthalten sind. Eine Verschiebung in der Eiweißzusammensetzung tritt im Ablauf der serösen Entzündung nicht ein. Ein für das entzündliche Ödem charakteristischer Eiweißbestandteil, der nicht schon im Blutserum enthalten wäre, läßt sich auf diese Weise demnach *nicht* nachweisen. Das spricht aber keinesfalls gegen die Annahme, daß derartige charakteristische Eiweißbestandteile („Wirkstoffe“) doch integrierende Bestandteile des Gewebesafes bei der serösen Entzündung sind, und daß damit der pathologische Prozeß der Entzündung seinen Ausgang primär von der Zelle nimmt.

Zusammenfassung.

Die vorliegende Arbeit enthält die Ergebnisse photoelektrischer Absorptionsmessungen bei der serösen Entzündung, die experimentell durch Dichlordiäthylsulfid hervorgerufen wurde. Die Befunde stimmen im wesentlichen mit den Ergebnissen der vorangegangenen Untersuchungen über das gleiche Thema überein; lediglich der Einfluß der Formolfixierung scheint doch größer zu sein als zunächst vermutet. Es zeigt sich, daß das entzündliche Ödem die gleichen Extinktionswerte hat wie die Blutflüssigkeit. Dennoch dürften es bestimmte, von einer primären Zellschädigung ausgehende Wirkstoffe sein, wie sie in der früheren Arbeit nachgewiesen wurden, die dem entzündlichen Ödem seine eigentlich charakteristischen Eigenschaften verleihen.

Literatur.

BÜCHER, TH. u. a.: Nicht veröffentlicht. — CASPERSSON, T.: Cell growth and cell function. New York: W. W. Norton 1950. — DAVIES, H. G., and P. M. B. WALKER: In J. A. V. BUTLER and J. T. RANDALL, Progress in biophysics, Bd. 3, S. 195. London: Pergamon Press 1953. — EGER, W.: Ärztl. Forsch. **1950**, 349. — FLECKENSTEIN, A., u. A. HARDT: Klin. Wschr. **1949**, 360. — HANSEN, G.: Optik **8**, 251 (1951). — MEYER-ARENDT, J.: Virchows Arch. **323**, 351 (1953) (hier weitere Literatur). — ORNSTEIN, L.: Labor. Invest. **1**, 250 (1952). — TERBRÜGGEN, A., u. DENECKE: Beitr. path. Anat. **109**, 491 (1947).

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