

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar;
Direktor: Professor Dr. R. Domenjoz

Zur Frage des Entstehungsmechanismus der experimentellen Dextran-Schwellung der Rattenpfote

Von Dr. E. G. Stenger

Bei Prüfung anti-inflammatorischer Pharmaka am Oedem der Rattenpfote läßt sich — je nach appliziertem Phlogisticum — eine quantitative Differenzierung des ödemhemmenden Wirkungsgrades erzielen. Dieser Effekt ist zum großen Teil auf den differentiellen Entstehungsmechanismus der einzelnen Entzündungsmodelle zurückzuführen. In der vorliegenden Arbeit wird versucht, Anhaltspunkte für den Entstehungsmechanismus der Dextran-Schwellung zu gewinnen.

Methodik

Der Entzündungsversuch erfolgte an männlichen Ratten mit der in unserem Institut üblichen Methode (Domenjoz et al. [1]).

Ergebnisse

Zur Untersuchung der Gefäßpermeabilität an der Formalin- und Dextran-Schwellung der Rattenpfote verabreichten wir 20 Ratten jeweils 0,2 cm³ Geigy-Blau (0,2%ige wässrige Lösung) intravenös (Penisvene). Im Anschluß hieran wurde sofort in je eine Hinterpfote 0,1 cm³ Formalin 3%ig bzw. 0,05 cm³ Dextran 6%ig subplantar injiziert. Ca. 4 min nach Verabreichung der Phlogistica trat bereits an der mit Dextran behandelten Pfote eine deutlich sichtbare Blaufärbung der Fußsohle auf, während an der mit Formalin behandelten Pfote noch keinerlei Farbstoff im Injektionsgebiet beobachtet werden konnte. Nach etwa 30 min war die gesamte mit Dextran behandelte Pfote intensiv blau gefärbt. Die mit Formalin behandelte ließ sich im Vergleich zu der mit Dextran behandelten Pfote auch zu diesem Zeitpunkt noch einen deutlichen Unterschied in der Farbtintensität und im Ausmaß der Ausbreitung des Farbstoffes erkennen. Im weiteren Verlauf der Beobachtungszeit trat dann ebenfalls eine intensive Blaufärbung der gesamten mit Formalin behandelten Pfote ein.

Dieser Versuch läßt erkennen, daß nach Injektion von Dextran in die Rattenpfote bereits sehr rasch eine erhöhte Gefäßdurchlässigkeit für den iv. injizierten Farbstoff eintritt. Der Farbstoffaustritt in das Injektionsgebiet erfolgt dabei lange vor Ausbildung einer makroskopisch sichtbaren Schwellung der Pfote. Im Gegensatz hierzu tritt die Schädigung der Gefäßpermeabilität nach subplantarer Applikation von Formalin wesentlich später ein.

Die an beiden Entzündungsmodellen zu einem differentiellen Zeitpunkt auftretende Schädigung der Gefäßpermeabilität besitzt eine Parallele im zeitlichen Ablauf der Oedembildung: während die Formalin-Schwellung langsam einsetzt und gleichmäßig zunimmt, bewirkt Dextran ein rasch einsetzendes Oedem der Pfote, dessen Maximum bereits nach ca. 45 min erreicht wird. Diese Befunde weisen auf einen qualitativen Unterschied des Entstehungsmechanismus der Formalin- und der Dextran-Schwellung hin. Im Laufe jeder entzündlichen Veränderung der Gewebe kommt es zu einer mehr oder weniger stark erhöhten Gefäßpermeabilität. Wenn im Falle der Schädigung durch Dextran dieser Effekt bereits unmittelbar nach der lokalen Einwirkung des entzündungserregenden Agens eintritt, so muß eine schlagartige Freisetzung körpereigener, permeabilitätssteigernder Substanzen in Erwägung.

Tab. 1: Prüfung der antiphlogistischen Wirkung von 200 mg/kg sc. Phenylbutazon am Dextran-Oedem der Rattenpfote.
K = Kontrollen; Ph = Phenylbutazon.

	Tier- zahl n	Tier- gew. g	Schwellung in mm ³ nach 135 min	Oedem- Hemmung in %	Sign. Diff. D
1. 0,05 cm ³ Dextran 6%ig					
K	42	152	481	—	—
Ph	49	151	394	18	2,9
2. 0,1 cm ³ Dextran 0,1875%ig					
K	30	147	207	—	—
Ph	32	147	152	27	2,0

eigener, permeabilitätssteigernder Substanzen (z. B. Serotonin) hierfür verantwortlich sein.

Durch die sc. Verabreichung von 200 mg/kg Phenylbutazon 30 min vor der subplantaren Injektion von Dextran 0,05 cm³ 6%ig bzw. 0,1 cm³ 0,1875%ig konnte keine nennenswerte Hemmung der Dextran-Schwellung erzielt werden (Tab. 1).

Wir prüften nun, ob durch gleichzeitige subplantare Verabreichung von Dextran und Phenylbutazon das Oedem der Pfoten im Sinne einer Hemmung beeinflusst werden kann.

Untersucht wurde folgende Substanzkombination:

Dextran 1,875 cm³ 0,6%ig

Phenylbutazon 1,0 cm³ 20%ig

m/15 Sörensen-Phosphat-

Puffer pH 7,4 ad 6,0 cm³

(pH der Kombination: 7,42)

135 min nach subplantarer Injektion von 0,1 cm³ dieses Gemisches (= 0,1875 mg Dextran + 3,33 mg Phenylbutazon) in die linke Hinterpfote bestimmten wir die Oedem-Intensität (Tab. 2).

Tab. 2: Pfoten-Oedem nach subplantarer Injektion von Dextran, Phenylbutazon und Dextran + Phenylbutazon. D = Dextran; Ph = Phenylbutazon.

Behandlung	Tier- zahl n	Tier- gew. g	Schwellung in mm ³ nach 135 min	$\pm$
D 0,1 cm ³ 0,1875%ig (= 0,1875 mg)	30	147	207	19,5
Ph 0,1 cm ³ 3,0%ig (= 3,0 mg)	12	154	—15	22,6
D 0,1875 mg + Ph 3,33 mg	20	140	414	28,7

Aus den in Tab. 2 zusammengestellten Daten ist zu ersehen, daß durch gleichzeitige subplantare Verabreichung von Dextran und Phenylbutazon die Oedem-Intensität im Vergleich zur Intensität der Schwellung nach Injektion von Dextran nicht abgeschwächt, sondern sogar verstärkt wird. Dieser Effekt ist jedoch nicht durch eine lokale Reizwirkung des Phenylbutazon bedingt, da nach Injektion von 3 mg Phenylbutazon in die Pfote während einer Versuchsdauer von 135 min keine Schwellung festzustellen ist.

Im Gegensatz zu unserem Befund an der Dextran-Schwellung konnten Wilhelm [2] sowie Wilhelm et al. [3] bei lokaler Anwendung von Phenylbutazon im Gebiet der Entzündung eine deutliche Hemmung des Formalin-Oedems erzielen. Die Autoren injizierten dorsal in die linke Hinterpfote der Ratte 0,05 cm³ einer 0,5%igen Phenylbutazon-Lösung (= 0,25 mg). 15 min später wurde an der gleichen Stelle 0,1 cm³ Formalin 0,75%ig sc. verabreicht. Die Kontrolltiere erhielten statt des Phenylbutazon die gleiche Menge physiologischer Kochsalzlösung. Das Volumen der Pfoten wurde 2 h später ermittelt. Während somit Phenylbutazon in einer Dosis von 0,25 mg bei lokaler Applikation im Entzündungsgebiet die Formalin-Schwellung eindeutig hemmt, wird das Pfoten-Oedem bei gleichzeitiger Injektion von Dextran und einer mehr als 13mal so starken Phenylbutazon-Dosis (3,33 mg) nicht gehemmt. Diese divergenten Befunde können nur so interpretiert werden, daß im Gegensatz zur Formalin-Entzündung bei der Dextran-Schwellung ganz bestimmte Prozesse, die für das Zustandekommen der oedematösen Gewebsreaktion verantwortlich sind, selbst durch das direkt in den Entzündungsherd applizierte Phenylbutazon nicht im Sinne einer Hemmung beeinflusst werden können. Im Falle der Dextran-Wirkung zogen wir auf Grund der unmittelbar nach lokaler Applikation des entzündungserregenden Agens einsetzenden Farbstoff-Austrittes in das Gewebe der Pfoten eine schlagartige Freisetzung körpereigener, permeabilitätssteigernder Substanzen in Erwägung. Es wäre nun denkbar, daß gerade die Freisetzung sol-

Tab. 3: Oedem-Intensität nach gleichzeitiger subplanter Injektion von Dextran bzw. Formalin und Lysergsäurediäthylamid in die Rattenpfote. D = Dextran; F = Formalin.

Behandlung	Tierzahl n	Tiergew. g	Schwellung in mm ² nach 15 min	$\pm$	Hemmung in %	Sign. Diff. D
0,1 cm ³ D. 0,1%ig (= 0,1 mg) + 0,1 cm ³ Aqua dest.	10	148	191	51,3	—	—
0,1 cm ³ D. 0,1%ig (= 0,1 mg) + 0,1 cm ³ LSD (= 10 γ)	12	144	—8	33,3	100	3,3
0,1 cm ³ D. 1%ig (= 1 mg) + 0,1 cm ³ Aqua dest.	9	138	312	68,9	—	—
0,1 cm ³ D. 1%ig (= 1 mg) + 0,1 cm ³ LSD (= 10 γ)	11	140	88	46,7	72	2,7
0,1 cm ³ D. 3%ig (= 3 mg) + 0,1 cm ³ Aqua dest.	19	141	234	27,5	—	—
0,1 cm ³ D. 3%ig (= 3 mg) + 0,1 cm ³ LSD (= 10 γ)	23	145	58	29,3	75	4,4
0,05 cm ³ D. 6%ig (= 3 mg) + 0,15 cm ³ Aqua dest.	20	133	133	30,3	—	—
0,05 cm ³ D. 6%ig (= 3 mg) + 0,15 cm ³ LSD (= 15 γ)	15	140	—28	36,7	100	3,4
0,1 cm ³ F. 3%ig (= 3 mg) + 0,1 cm ³ Aqua dest.	25	123	179	16,5	—	—
0,1 cm ³ F. 3%ig (= 3 mg) + 0,1 cm ³ LSD (= 10 γ)	23	123	206	17,2	—15	1,1

der Substanzen dafür verantwortlich ist, daß Phenylbutazon, selbst bei direkter Applikation in das Entzündungsgebiet, die Dextran-Schwellung nicht zu hemmen vermag, zumal diese Stoffe sofort nach der Dextran-Injektion aus dem Gewebe freigesetzt werden und zur Wirkung gelangen.

Falls es sich bei den freigesetzten, permeabilitätssteigernden Substanzen etwa um 5-Hydroxytryptamin handelt, so müßte durch die gleichzeitige Verabreichung der entzündungserregenden Agentien und eines spezifischen Serotonin-Antagonisten im Gegensatz zum Formalin-Oedem eine ausgeprägte Hemmung der Dextran-Schwellung erzielt werden. Als Serotonin-Antagonisten applizierten wir Lysergsäurediäthylamid (Delysid® „Sandoz“).

Wie aus der Tab. 3 zu ersehen ist, wird durch die gleichzeitige Verabreichung von 0,1–3 mg Dextran und 10 γ Lysergsäurediäthylamid in die Rattenpfote eine intensive Hemmung der Dextran-Schwellung von 72–100% erzielt. Hingegen wird unter denselben Versuchsbedingungen die Formalin-Entzündung durch Lysergsäurediäthylamid in einer Dosis von 10 γ nicht beeinflusst.

Die Untersuchungen erlauben die Schlussfolgerung, daß es sich bei dem durch lokale Verabreichung von Dextran in die Rattenpfote freigesetzten Stoffe mit permeabilitätssteigernder Wirkung tatsächlich um Serotonin handelt. Diese Versuchsergebnisse ermöglichen somit eine einwandfrei faßbare qualitative Differenzierung zwischen der Formalin-Entzündung und der Dextran-Schwellung.

Zusammenfassung:

Im Gegensatz zur Formalin-Entzündung kann die Dextran-Schwellung der Rattenpfote durch lokale Injektion von Phenylbutazon in den Entzündungsherd nicht im Sinne einer Hemmung beeinflusst werden. Während durch gleichzeitige subplantare Injektion von Dextran und Lysergsäurediäthylamid eine intensive Hemmung der Dextran-Schwellung erzielt wird, wird unter denselben Versuchsbedingungen die Formalin-Entzündung durch Lysergsäurediäthylamid nicht beeinflusst.

Summary:

Studies on the Origin of Experimental Dextran Swelling in the Rat's Paw

Contrary to the formalin edema of the rat paw the dextran swelling is not inhibited by phenylbutazone injected into the inflamed area. Dextran swelling is strongly inhibited by simultaneous injection of dextran + lysergic acid diethylamide, whereas the formalin edema is not influenced under the same conditions.

Ansch. d. Verf.: c/o Geigy A.G., Basel/Schweiz

Literatur:

- [1] Domencioz, R., Mörsdorf, K., Stenger, E. G., Theobald, W., Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **230**, 323 (1957)
- [2] Wilhelmi, G., Helv. Physiol. Acta **12**, C 43–C 44, (1954)
- [3] Wilhelmi, G., Pulver, R., Arzneimittelforsch. **5**, 221 (1955)

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck; Vorstand: Professor Dr. A. Jarisch

Zusammenhänge zwischen Oberflächenaktivität und Wirkungsstärke

Von Dr. G. Feuerstein

Die klassischen Versuche den gemeinsamen, wirkungsbestimmenden Faktor der indifferenten Narkotica zu finden, führten wie Winterstein [16] sagt, zu Theorien nicht so sehr der Narkose als vielmehr der Narkotica. Grundlegende Untersuchungen beleuchteten nämlich vor allem die Bedingungen, die für die Anreicherung der Narkotica am Ort der Wirkung gegeben sein müssen, ließen den Wirkungsmechanismus aber noch sehr im Dunkeln. Wenn die Narkose-Theorien somit die Vorgänge an der narkotisierten Zelle selbst auch nicht klären konnten, so lieferten sie doch der Pharmakologie Erkenntnisse und Anregungen, die über die Narkose-Frage weit hinaus gehen.

Die erste Vorbedingung für die pharmakologische Wirkung eines Stoffes ist seine Fähigkeit an den Wirkungsort (Biophase) in ausreichender Menge zu gelangen. Dazu sind neben der Konzentration im Blut bzw. in den Gewebsflüssigkeiten (wässrige Phase) zwei Faktoren von entscheidender Bedeutung: Einerseits die Tendenz der Moleküle des Pharmakons die Wasserphase zu verlassen — andererseits die Aufnahmebereitschaft des Wirkungsortes für das Pharmakon.

Mit Hilfe von Verteilungs-Quotienten zwischen Wasser und einer Modell-Substanz für die Biophase (Olivöl, Oleyalkohol) sucht die Lipoid-Theorie den Einfluß dieser beiden Faktoren auf die Konzentration des Narkotikums am Wirkungsort zu erfassen. Die ausgedehnten Versuche von Overton und Meyer [10,

8] ergaben, daß die Konzentration der meisten Narkotica in Olivöl und Oleyalkohol nahe beieinander liegende Werte zeigen, wenn eben narkotisch wirksame wässrige Lösungen mit diesen Modell-Substanzen ins Gleichgewicht gebracht wurden. Damit konnten die sehr unterschiedlich narkotischen Grenzdosen bzw. Wirkungsstärken der einzelnen Verbindungen lediglich als eine Folge der jeweiligen Eindringungs-Tendenz in eine lipophile Phase betrachtet werden. Am Wirkungsort selbst scheint eine vom Stoff unabhängige konstante Konzentration der zugeführten Verbindungen den Narkose-Eintritt zu bewirken. Aber auch ohne die anfechtbare Wahl einer Modell-Substanz lassen sich allein zwischen der Tendenz eines Narkotikums, seine wässrige Phase zu verlassen, und seiner Wirkungsstärke erkennbare Zusammenhänge finden, die auch außerhalb der Narkose-Frage von Interesse sind.

Schon 1893 stellte Richet [12] Beziehungen zwischen Wasserlöslichkeit und Wirkungsstärke der Narkotica fest. Die Richet'sche Regel besagt, daß die Wirkungsstärke der Narkotica sich im umgekehrten Sinne ändere wie die Wasserlöslichkeit. Hydrophobie und narkotische Kraft gehen dementsprechend parallel.

Beinahe 30 Jahre später lenkte Fühner neuerlich die Aufmerksamkeit auf diese weithin gültige Regel. Der Quotient aus Sättigungs-Konzentration und