

Fig. 2. Competitive antagonism between NaCl and acetylcholine at pH = 5.3. Ordinate: $y = 1/\text{effect}$ (in % of the maximal contraction); abscissa: $x = 1/\text{concentration of acetylcholine} \times 10^9$.

- (a) ● acetylcholine alone: $y = 0.0104 + 0.0061 x$, $r = +0.76351$.
 $P(n=30) < 0.001$.
- (b) ○ Id. plus NaCl 2×10^{-3} : $y = 0.0150 + 0.0215 x$, $r = +0.97743$.
 $P(n=5) < 0.001$.
- (c) △ Id. plus NaCl 5×10^{-3} : $y = 0.0058 + 0.0309 x$, $r = +0.97146$.
 $0.001 < P(n=4) < 0.01$.
- (d) □ Id. plus NaCl 6×10^{-3} : $y = 0.0058 + 0.0912 x$, $r = +0.91902$.
 $0.05 < P(n=2) < 0.1$.

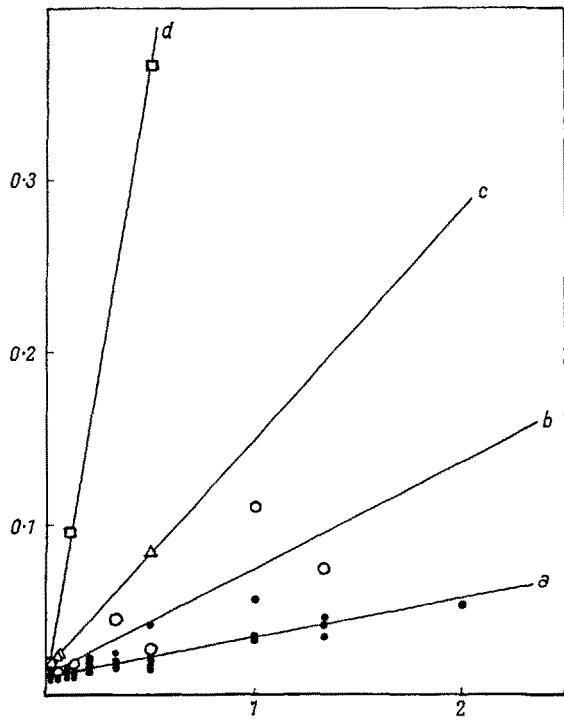


Fig. 3. Competitive antagonism between NaCl and histamine at pH = 5.3. Ordinate: $y = 1/\text{effect}$ (in % of the maximal contraction); abscissa: $x = 1/\text{concentration of histamine} \times 10^7$.

- (a) ● histamine alone: $y = 0.0109 + 0.0236 x$, $r = +0.87883$.
 $P(n=31) < 0.001$.
- (b) ○ Id. plus NaCl 2×10^{-3} : $y = 0.0109 + 0.0634 x$, $r = +0.85590$.
 $0.01 < P(n=5) < 0.02$.
- (c) △ Id. plus NaCl 3×10^{-3} : $y = 0.0146 + 0.1370 x$, $r = +0.99993$.
 $P(n=2) < 0.001$.
- (d) □ Id. plus NaCl 8×10^{-3} : $y = 0.0088 + 0.7224 x$, $r = +0.99787$.
 $0.02 < P(n=1) < 0.05$.

In order to clear up these data, we suggest an abrupt difference in ileum permeability to Na^+ at different pH values, so that Na^+ penetrates in the cells at alkaline pH, acting as a 'labilizer', whereas at acid pH it does not penetrate and may act as a 'stabilizer'. Investigations with some other aspecific competitors are being worked out in this Department in order further to elucidate this point.

M. LIBONATI and G. SEGRE

Istituto di Farmacologia e Terapia sperimentale, Università di Torino (Italy).

Riassunto

L'NaCl, aggiunto a un bagno – in cui è sospeso un frammento di ileo di cavia – sino a concentrazioni finali comprese fra $2 \cdot 10^{-3}$ e 10^{-2} , agisce come contratturante a pH = 8,0 e come antagonista competitivo dell'acetilcolina e dell'istamina a pH = 5,3.

Hemmung der durch Proteuslipopolysaccharide gesteigerten Leukozytenmigration in vitro durch antiinflammatorische Corticosteroide

Es wurde gefunden und mehrfach bestätigt¹, dass cortisonartige Corticoide die Wanderung von Leukozyten *in vitro* leicht hemmen. In den Lipopolysacchariden aus gramnegativen Keimen haben wir andererseits eine Substanzgruppe gefunden, die die wirksamsten Förderer der Leukozytenmigration *in vitro* umfasst. In welchem Umfang Corticoidie die durch LPS geförderte Leukozytenmigration zu hemmen imstande sind, schien deshalb wichtig zu untersuchen.

Das in den vorliegenden Versuchen verwendete Proteuslipopolysaccharid (PLPS) fördert die Auswanderung der Leukozyten über einen grossen Konzentrationsbereich von 10^{-3} bis 10^{-12} mit einem Wirkungsoptimum von 10^{-6} bis 10^{-8} . Höhere Konzentrationen als 10^{-3} hemmen die Auswanderung.

Methode. Blutleukozyten des Huhns wurden in der früher beschriebenen gewebekulturmässigen Anordnung in einem festen Plasma-Embryonalextrakt-Nährboden zur Auswanderung gebracht. Die PLPS- und Cortison-Lösungen wurden 2 h nach der Explantation gleichzeitig dem Nährboden überschichtet. Explantatgröße und Auswanderungsareal wurden zu verschiedenen Zeiten bis 18 h planimetrisch erfasst.

Die Auswanderungsförderung durch PLPS ist bei gleichbleibender Nährbodenkonzentration von der explantierten Zellzahl², von zelleigenen Faktoren und in geringerem Umfang von Plasmafaktoren abhängig³. Da diese Faktoren naturgemäß von Tier zu Tier stark variieren, ist das Ausmass der mit PLPS zu erzielenden Auswanderungsförderung verschieden. Konstant bleibt jedoch das für die verwendete PLPS-Fraktion typische Konzentrations-Wirkungsoptimum.

¹ M. BARBER und A. DELAUNAY, J. Path. Bact. 63, 549 (1951). – M. HOLDEN, B. SEEGAL und J. RYBY, Amer. J. Path. 27, 748 (1951). – R. MEIER, F. GROSS, P. A. DESAULLES und B. SCHÄR, Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss. 8, 34 (1952). – G. H. PFAFF und R. STEWART, Proc. Soc. exp. Biol. Med. N. Y. 83, 591 (1953). – M. M. KETCHEL, C. B. FAVOUR und S. H. SURGIS, J. exp. Med. 107, 211 (1958).
² R. MEIER und B. SCHÄR, Arch. exp. Path. Pharmak. 234, 102 (1958).
³ B. SCHÄR, Helv. phys. Acta, im Druck.

Die normale Leukozytenauswanderung wird in unserer Versuchsanordnung durch Cortisonkonzentrationen von 10^{-4} und 10^{-5} nicht regelmässig und in den positiven Fällen nur in geringem Ausmass (bei allen Tieren) gehemmt. Die Hemmbarkeit durch Cortison läuft nicht mit der spontanen Auswanderungsgrösse parallel, da sowohl gut wie schlecht wandernde Leukozyten auf Cortison nicht anzusprechen brauchen.

Regelmässig lässt sich jedoch die Leukozytenemigration durch Cortison hemmen, wenn die Zellen gleichzeitig durch kleine Konzentrationen von PLPS stimuliert sind. Am klarsten kommt dieser Effekt zum Ausdruck, wenn zu einer Konzentrationsreihe PLPS 10^{-3} bis 10^{-10} eine gleichbleibende Konzentration von Cortison beigefügt wird. In einer solchen Versuchsreihe kann nicht nur die absolute Wirkung, sondern die Verschiebung des für die PLPS-Wirkung charakteristischen und konstanten Dosiswirkungsoptimums ermittelt werden. Bei 10^{-4} Cortison wird das PLPS-Wirkungsoptimum um mindestens zwci

Zehnerpotenzen von 10^{-6} auf 10^{-4} verschoben, mit 10^{-5} Cortison lässt es sich um mindestens 1 Zehnerpotenz von 10^{-6} auf 10^{-5} verschieben. Entsprechend dieser Verschiebung des «Wirkungsoptimums» der PLPS ist die Auswanderung der Leukozyten in den stark fördernden PLPS-Konzentrationen erheblich herabgesetzt. Bei den niedrigen schwach fördernden PLPS-Konzentrationen ist die Wirkung auf Grund der fehlenden Förderung scheinbar geringer. Die Wirkung der PLPS-Konzentrationen 10^{-3} bis 10^{-6} werden durch Cortison 10^{-5} nicht beeinflusst (Abb.).

Das Ausmass der Cortisonhemmung an PLPS-stimulierten Leukozyten scheint nicht mit dem Ausmass der Cortisonhemmung auf die unbeeinflusst auswandernden Kontrolleukozyten zusammenzuhängen. Auch Zellen, die spontan Cortison-unempfindlich sind, zeigen in stimuliertem Zustand eine gute Hemmung durch Cortison. Hingegen scheint in der vorliegenden Versuchsanordnung eine gewisse Abhängigkeit der Cortison- und PLPS-Konzentration voneinander vorzuliegen.

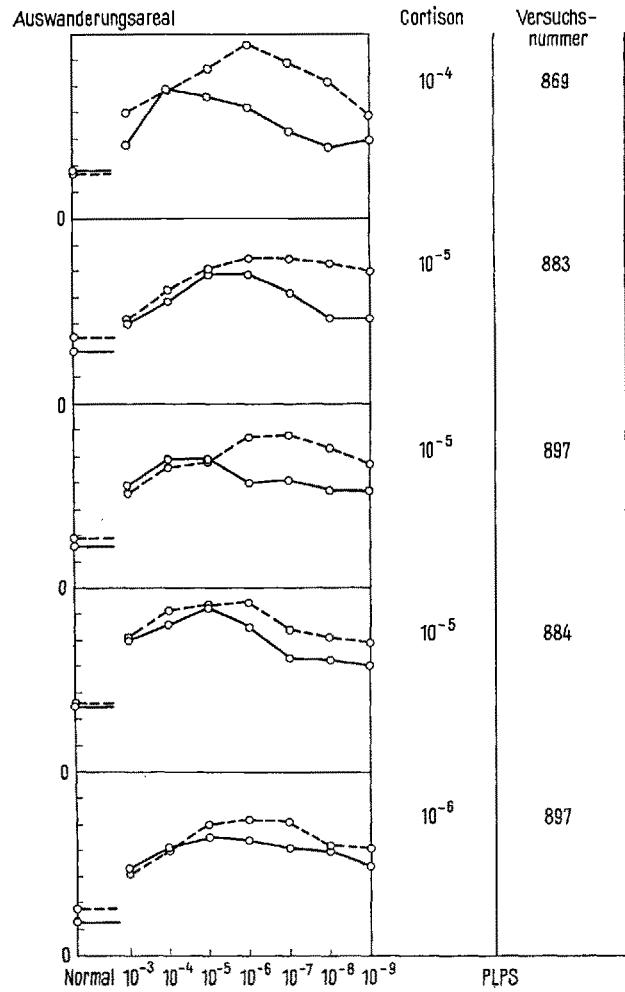
Für die weitere Charakterisierung des Effektes wurde die Wirkung einer Reihe anderer, besonders antiinflammatorischer Steroide mit derjenigen des Cortisons verglichen.

Die vorläufigen Versuche zeigen, dass andere antiinflammatorisch wirksame Steroide dieser Gruppe ähnlich wie Cortison hemmen, wobei die Wirksamkeit von Dexamethason am stärksten ausgeprägt ist, hingegen für Dihydrocortison keine Wirkung nachweisbar ist.

Da die Steigerung der Leukozytenemigration durch PLPS *in vitro* einer analogen Reaktion bei der Entzündung *in vivo* entsprechen kann, ist eine naheliegende Frage, ob dieser Effekt ein Ausdruck des Wirkungsmechanismus der antiinflammatorischen Steroide grundsätzlichen Charakters ist. Dies ist möglich. Eine gewisse Schwierigkeit eines überzeugenden Beweises besteht aber darin, dass die Leukozytenhemmung *in vitro* nicht mit der Wirkungsstärke *in vivo* voll parallel geht. Dies kann durch die übrigen Verhältnisse des tierischen Organismus bedingt sein (Zeitwirkungsverhältnisse, Umbau, Metaboliten usw.). Ferner zeigen auch einzelne Steroide *in vitro* eine geringe Leukozyten-hemmende Wirkung, ohne eine analoge antiinflammatorische Wirkung *in vivo* zu haben. Auch dies Verhalten kann vorläufig nur auf die verschiedenen Verhältnisse *in vitro* und *in vivo* bezogen werden, trotzdem wohl auch andere Erklärungsmöglichkeiten bestehen. Die Hemmung der PLPS-gesteigerten Leukozytenemigration durch Corticoide *in vitro* kann somit als «typischer» Ausdruck der Wirkung antiinflammatorischer Steroide angesehen werden, ohne dass aber die antiinflammatorische Wirkung auf die Leukozyten oder auf andere entzündliche Phänomene *in vivo* allein in einer Wirkung dieses Charakters bestehen müsste.

B. SCHÄR und R. MEIER

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft,
Pharmazeutische Abteilung, Basel, 25. April 1960.



Cortisonwirkung auf die durch Proteuslipopolysaccharid (PLPS) stimulierte Leukozytenwanderung *in vitro*

Ordinate: relative Auswanderungsgrösse

$$\frac{B-A}{A} \quad (B = \text{bewanderte Fläche}; A = \text{Explantatgrösse})$$

Abszisse: PLPS-Konzentration

- - - PLPS in den angegebenen Konzentrationen

— Cortison + PLPS in den angegebenen Konzentrationen

Summary

The migration of leucocytes from the buffy coat of chicken blood is slightly but irregularly inhibited by cortison. If migration of leucocytes is increased by proteus lipopolysaccharide, cortison in concentrations of 10^{-4} - 10^{-6} , and other anti-inflammatory steroids, produce a pronounced and constant inhibition of leucocytic migration.