

## Zur leukotaktischen Wirkung von Aminosäuren in Liquor cerebrospinalis

Leukocytosen können ausgelöst werden durch Einwirkung von Bakterien, Eiweisse, Peptide, Lipopolysaccharide, Histamin u.a. (ALLGÖWER und SÜLLMANN, FEUER, FRITZE, GRABNER, MEIER und SCHÄR, SCHÄR und MEIER<sup>1</sup>). BUCHNER<sup>2</sup> beschrieb bereits 1890 eine Leukotaxis für Glykokoll und Leucin.

In der vorliegenden Arbeit wird über eine leukotaktische Wirkung einiger Aminosäuren im Liquor cerebrospinalis des Hundes berichtet.

**Methodik.** Als Versuchstiere dienten ausgewachsene Hunde beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht von 16–22 kg. In Hexobarbitalnarkose wurden die Tiere suboccipital punktiert (FANKHAUSER<sup>3</sup>), etwa 3 ml Liquor abgelassen und 100 mg Aminosäure ( $\gamma$ -Aminobuttersäure, L-Asparagin, L-Glutamin, L-Leucin, L-Norleucin) in 2 bzw. 3%iger wässriger Lösung injiziert. Zur Prüfung der Zellzahl wurden die Hunde in Abständen von einigen Stunden dreimal nachpunktiert. Kontrollinjektionen erfolgten mit Aqua bidest., hypertonischer Kochsalzlösung und einer der Aminosäurenkonzentration entsprechenden isotonen Natriumchloridlösung. Das pH der injizierten Aminosäurenlösungen wurde dem des Liquors angeglichen.

**Ergebnisse.** In der Figur 1 sind die Versuche mit L-Leucin aufgeführt. Um die Zeit für die maximale Pleocytose herauszufinden, wurde zunächst in verschiedenen Zeitabständen (2, 3, 4, 5, 9, 12, 14, 24, 35 h) nachpunktiert. Dabei zeigte sich, dass die Zellvermehrung nach etwa 2 h einsetzt, nach etwa 5 h ihr Maximum erreicht und sich nach 1–2 Tagen wieder langsam normalisiert. Zur Kontrolle wurden einige Versuche mit 3 ml Aqua bidest. mit aufgeführt. Für die weiteren Untersuchungen erfolgte die Nachpunktion nach 2, 5 und 24 h. In Figur 2 sind die Zellzahlen von  $\gamma$ -Aminobuttersäure, L-Asparagin, L-Glutamin, L-Leucin und L-Norleucin gegenüber einer

hypertonen (100 mg NaCl in 3 ml H<sub>2</sub>O) und einer hypotonen (annähernd isoton zu den Aminosäurenlösungen) Kochsalzlösung dargestellt.

**Diskussion.** Nach intralumbalen und intrazisternalen Injektionen kommt es häufig zu einer Reizung der Meningen mit anschließender Zellvermehrung, die sowohl eine Spülung des Liquorraumes bei Meningitis als auch eine intralumbale Chemotherapie immer problematisch erscheinen lassen (PETTE und KALM<sup>4</sup>).

Reizpleocytosen beschreibt SAENGER<sup>5</sup> kurz nach intralumbaler Injektion von physiologischer Kochsalzlösung, während VARGA und KUN<sup>6</sup> bei 4 hirngeschädigten Kindern nach 5–10 ml Aqua bidest. 2–3 h später über 10 000/3 Zellen fanden.

Unsere Untersuchungen, die an intakten Hunden durchgeführt wurden, zeigen, dass es nach Kochsalz- und Aqua bidest.-Injektionen ebenfalls zu Reizpleocytosen im Liquor kommt und dass der osmotische Druck der zu injizierenden Lösungen Einfluss auf die Höhe der Zellvermehrung hat. Während nach einer hypertonen Kochsalzlösung eine Zellvermehrung von einigen Hundert

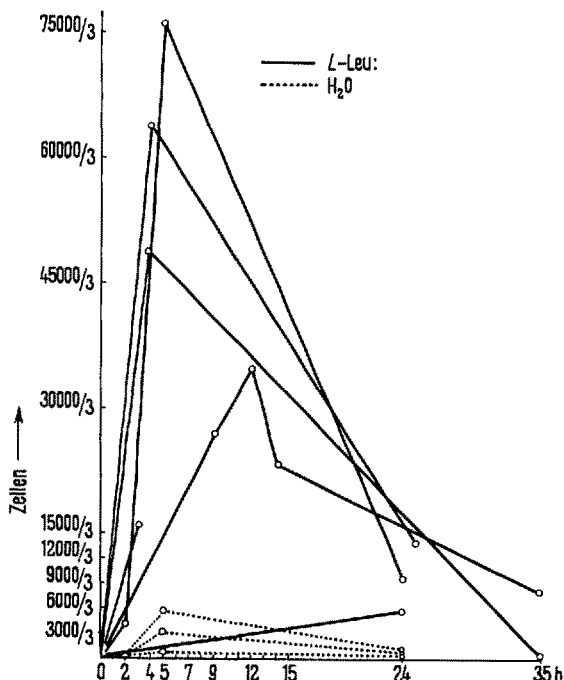


Fig. 1. Pleocytose nach intrazisternaler Injektion von L-Leucin und Aqua bidest. nach verschiedenen Zeiten.

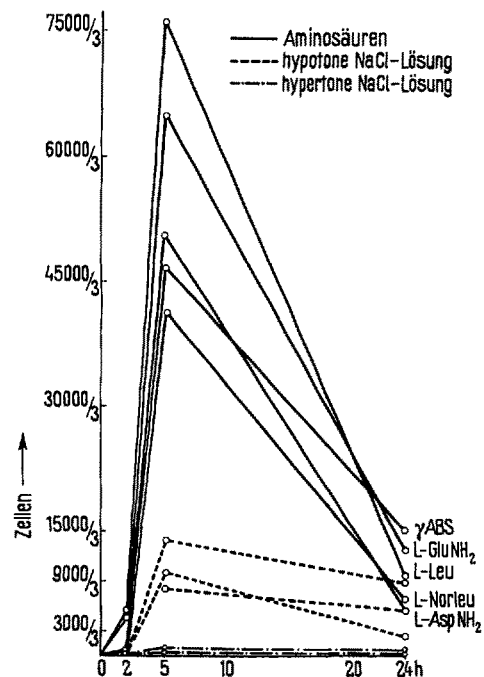


Fig. 2. Pleocytose nach intrazisternaler Injektion von Aminosäuren und NaCl-Lösung.

<sup>1</sup> M. ALLGÖWER und H. SÜLLMANN, *Exper.* 6, 107 (1950). – S. FEUER, *Exper.* 6, 301 (1950). – E. FRITZE, *Dtsch. nied. Wschr.* 81, 601 (1956). – G. GRABNER, in H. Braunsteiner, *Physiologie und Pathologie der weissen Blutzellen* (G. Thieme, Stuttgart 1959). – R. MEIER und B. SCHÄR, *Hoppe-Seyler's Z.* 307, 103 (1957); *Exper.* 13, 492 (1957); 14, 366 (1958); *Arch. exp. Path. Pharmac.* 234, 102 (1958). – B. SCHÄR und R. MEIER, *Exper.* 15, 468 (1959).

<sup>2</sup> H. BUCHNER, *Berliner klin. Wschr.* 27, 1084 (1890).

<sup>3</sup> R. FANKHAUSER, *Zbl. Vet. med.* 1, 136 (1954).

<sup>4</sup> H. PETTE und H. KALM, in *Handbuch der Innern Medizin*, 4. Aufl., V/3, p. 180.

<sup>5</sup> SAENGER, *Klin. Wschr.* 5, 2234 (1926).

<sup>6</sup> F. VARGA und K. KUN, *Exper.* 6, 21 (1950).

Dritteln beobachtet wurde, stieg die Zellzahl nach Aquabidest. bis fast 6000/3 und nach hypotonen Natriumchloridlösungen, die isoton zu den Aminosäurenlösungen waren, sogar bis zu 13000/3 Zellen.

Die durch die untersuchten Aminosäuren hervorgerufene Zellvermehrung erreicht Werte zwischen 40000/3 und 76000/3 Zellen. Die einwandernden Zellen sind grösstenteils segmentkernige Leukocyten. Es muss angenommen werden, dass eine starke leukotaktische Wirkung der Aminosäuren die normale Reizpleocytose noch wesentlich verstärkt. Parallel zum Abbau bzw. zur Resorption der Aminosäuren verläuft, nachdem das Maximum der Zellvermehrung überschritten ist, die Normalisierung der Zellzahl. Nach 24-36 h hat sich der Aminosäurespiegel weitgehend normalisiert, und auch die Zellzahl ist bereits zu dieser Zeit auf einige Tausend Drittel zurückgegangen<sup>7</sup>.

Eine ausführliche Mitteilung über diese Ergebnisse wird an anderer Stelle erfolgen.

**Summary.** Intercisternal injections of  $\gamma$ -aminobutyric acid, L-asparagin, L-glutamine, L-leucine and L-norleucine exert a strong leukotactic action and in dogs result after a short time in a maximum cell increase of 76,000/3 cells.

P. WIECHERT

*Abteilung für Kinder-Neuro-Psychiatrie der Universitäts-Nervenklinik, Rostock (Deutschland), 31. März 1964.*

<sup>7</sup> Für die sorgfältige technische Assistenz bei der Durchführung der Versuche bin ich Frau G. POHL zu grossem Dank verpflichtet.

### The Agar Gel-Diffusion Technique as a Method of Differentiating Mosquito Eggs

The gel-diffusion technique of antigenic analysis has been used by us for studying mosquito antigens (ZAMAN and CHELLAPPAH<sup>1,2</sup>). In this communication we present the results of a study designed to investigate the possible use of this technique as a taxonomic tool. The technique has also been applied recently for studying the relationship between mosquitoes and sandflies (Fox et al.<sup>3</sup>).

The antigens used in the test were saline extracts of the eggs of *Culex pipiens fatigans*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* and *Armigeres subalbatus*. These mosquitoes were

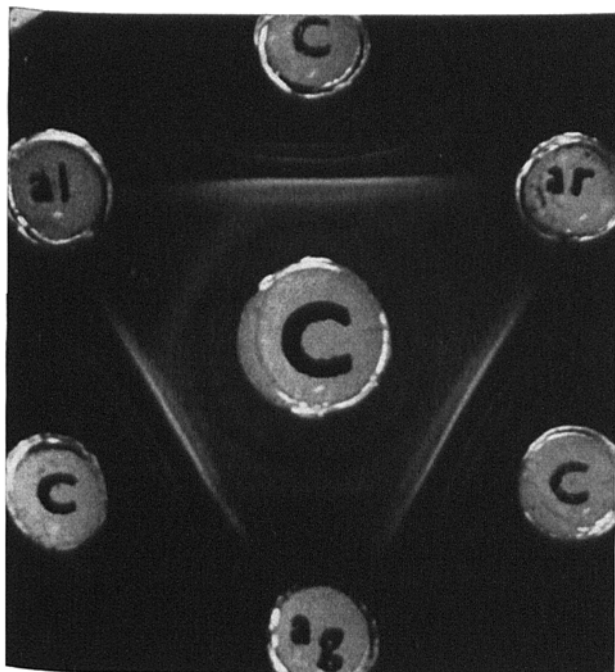
colonized in our laboratory. The eggs were collected from their colonies at regular intervals and used for the preparation of antigens. The antiserum was obtained by immunizing rabbits against *Culex* eggs. Each rabbit received 3500-4000 eggs in divided doses injected subcutaneously with Freund's adjuvant. The gel-diffusion plates were prepared with % Ion-agar No. 2 (Oxoid) in distilled water, containing 0.01% Na merthiolate as bacteriostatic agent. The holes were cut with Feinberg's cutters (Shandon) and the reaction was allowed to take place at room temperature in a moist chamber. The test antigens were standardized to contain approximately 3 mg of proteins/ml.

It was observed that when the eggs of *Culex pipiens fatigans* were allowed to react with the homologous antiserum they produced at least 4 distinct lines (Figure 1). The egg antigens of *Armigeres subalbatus*, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* when allowed to react with the same *Culex* antiserum produced only a faint line. This line did not show a reaction identical with any distinct lines produced by *Culex*. It is thus possible to differentiate mosquito eggs by this technique, at least at the generic level.

**Zusammenfassung.** Bei Agargel-Diffusionstechnik zeigen *Culex-pipiens-fatigans*-Eier mindestens vier deutlich voneinander unterscheidbare Präzipitationslinien, wenn sie mit homologem Antiserum reagierten. Eier von *Armigeres subalbatus*, *Aedes aegypti* und *Aedes albopictus* hingegen zeigten nur eine einzige Linie bei Reaktion mit dem gleichen *Culex*-Antiserum.

V. ZAMAN and W. T. CHELLAPPAH

*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Singapore (Malaysia), March 6, 1964.*



C, Central well = *Culex* antiserum. C, Outside wells = *Culex* antigen. al = *Aedes albopictus* antigen. ag = *Aedes aegypti* antigen. ar = *Armigeres subalbatus* antigen.

<sup>1</sup> V. ZAMAN and W. T. CHELLAPPAH, Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg. 56, 258 (1962).

<sup>2</sup> V. ZAMAN and W. T. CHELLAPPAH, Exp. Parasit. 13, 108 (1963).

<sup>3</sup> I. FOX, W. B. KNIGHT, and I. G. BAYONA, J. Allergy 34, 197 (1963).